

УДК 577

## ПАРАМЕТРЫ ОТВЕТА ОСТРОЙ ФАЗЫ В ИММЕРСИОННОМ ИССЛЕДОВАНИИ С УЧАСТИЕМ ИСПЫТУЕМЫХ-ЖЕНЩИН

О.Н. Ларина, А.М. Беккер, А.Ю. Тюрин-Кузьмин

Канд. биол. наук О.Н. Ларина; канд. биол. наук А.М. Беккер;  
канд. мед. наук А.Ю. Тюрин-Кузьмин (Государственный научный центр  
Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН)

Модель «сухой» иммерсии использована для имитации эффектов невесомости в эксперименте с участием испытуемых-женщин. В течение 72-часового воздействия наблюдалась индукция ответа острой фазы, изменения синтеза позитивных белков острой фазы были выражены в меньшей степени, чем в аналогичных исследованиях с участием испытуемых-мужчин. Высокие плазматические уровни церулоплазмينا, отмеченные у испытуемых женского пола, могут усиливать антиоксидантную активность крови и ингибировать накопление активных форм кислорода на стадии инициации механизмов острофазного ответа.

**Ключевые слова:** «сухая» иммерсия, невесомость, человек, адаптация, ответ острой фазы

### Parameters of Acute Phase Response in Dry Immersion Study Implemented with the Participation of Female Test Subjects.

**O.N. Larina, A.M. Becker, A.Yu. Tyurin-Kuzmin**

The dry immersion model was used to simulate weightlessness effects in the experiment performed with female test subjects. In the course of 72-hour immersion, the induction of acute phase response occurred, meanwhile the synthesis of positive acute phase proteins was less pronounced than in the studies at the same duration of immersion with the involvement of male subjects. High plasma levels of ceruloplasmin, obtained in female subjects, can enhance the antioxidant activity of the blood and inhibit the accumulation of reactive oxygen species at the stage of initiation of the acute phase response mechanisms.

**Keywords:** dry immersion, weightlessness, human, adaptation, acute phase response

Экстремальные факторы среды, воздействующие на человека в космическом полете, запускают работу защитных механизмов, направленных на компенсацию нарушений гомеостаза. Невесомость, одно из свойств космического пространства, отличающих пилотируемый полет от пребывания в наземной экосистеме, не являлась значимым фактором эволюции наземных организмов, и в адаптивных перестройках, обусловленных переходом от условий силы тяжести к невесомости, большую роль играют реакции неспецифической природы. Наряду с ионизирующей радиацией, измененной

микрофлорой, изоляцией, нахождением в ограниченном пространстве, замкнутой искусственной средой обитания и смещенными циркадианными ритмами невесомость известна как фактор, способный вызывать неспецифический ответ в виде стрессорной реакции [15]. К неспецифическим адаптационным механизмам, активация которых может быть обусловлена широким спектром воздействий, относится также ответ острой фазы. Ответ острой фазы (ООФ) – это врожденный защитный механизм, индуцируемый реакцией на воспаление, который характеризуется повышенным или пониженным плазматическим уровнем белков, синтезируемых в печени и получивших название белков острой фазы. ООФ является ранней системной защитной реакцией организма, которая может быть вызвана инфекционными агентами или большим числом неблагоприятных для организма воздействий [9, 12, 13].

Воспаление и стресс выполняют защитные функции и являются ключевым элементом физиологической адаптации организма к внешним воздействиям. Система (организм, ткани, клетки) находится в гомеостатическом состоянии, когда значения регулируемых переменных находятся в приемлемом динамическом диапазоне. Когда возможности гомеостатического регулирования недостаточны для поддержания этих значений (например, при внешних возмущениях), включается стрессорная реакция. Если стресс-реакции недостаточно для защиты гомеостаза, индуцируется воспалительная реакция. И стресс-реакция, и воспаление индуцируются для устранения стрессора (то есть источника возмущения), способствуют адаптации к стрессору и, в итоге, возврату системы в гомеостатическое состояние [11].

Признаки развития острофазного ответа – изменения уровней альфа-глобулиновых фракций белков крови – наблюдались у космонавтов после полетов различной продолжительности [2, 6]. Наземная имитация эффектов невесомости позволила выявить активизацию синтеза пептидных медиаторов ООФ (воспалительных цитокинов интерлейкина-6 и фактора некроза опухолей) у испытуемых во время 24-часового исследования с антиортостатическим положением [5], повышение уровня в крови позитивных белков острой фазы, снижение содержания негативных белков острой фазы [3, 4] и увеличенную продукцию лейкоцитами крови активных форм кислорода в кратковременных (до семи суток) экспериментах с «сухой» иммерсией [1]. Полученные эффекты указывают на существенную роль острофазного ответа в адаптации к имитируемым условиям невесомости. Значение неспецифических адаптивных механизмов возрастает по мере расширения направлений космической деятельности и усложнения задач пилотируемых экспедиций. Модельные эксперименты, проводимые в наземных условиях, в том числе с участием женщин в качестве испытуемых, позволяют подробно исследовать характеристики ООФ, индуцируемого при воздействии неблагоприятных факторов космического полета.

## Методы

Эксперимент был выполнен на стендовой базе ГНЦ РФ – ИМБП РАН в 2020 году. Проведение эксперимента с «сухой» иммерсией предусматривает соблюдение следующих условий:

– испытуемый находится в горизонтальном положении в иммерсионной ванне, наполненной водой, поверхность которой закрыта водонепроницаемой пленкой. Пленка имеет большую площадь и представляет собой гибкий, легко трансформируемый по форме барьер, не препятствующий перемещениям водной среды и установлению равновесного состояния, обеспечивающего компенсацию веса тела испытуемого. В результате экспериментальная система «сухой» иммерсии позволяет воспроизводить эффект безопорности, сопровождающий пребывание космонавтов в полете;

– в ванне поддерживается постоянная температура воды 33 °С. Каждый вечер испытуемого поднимают из ванны на 15 минут для гигиенических процедур. Питание в эксперименте с иммерсией аналогично рациону космонавтов по составу и энергетической ценности. В свободное от процедур и исследований время испытуемые могут заниматься чтением, работать на портативном компьютере, смотреть телевизор, разговаривать по телефону.

В обследовании приняли участие шесть испытуемых женского пола, возраст 30,2 лет ± 5,5 лет, рост 1,7 м ± 0,1 м, масса тела 62,0 кг ± 8,4 кг. Взятие венозной крови для определения белков острой фазы осуществляли в утренние часы натощак до эксперимента и после 72 часов пребывания в иммерсии, перед выемкой из иммерсионной ванны. В плазме крови измеряли концентрации  $\alpha$ 1-антитрипсина ( $\alpha$ 1-АТ),  $\alpha$ 1-кислого гликопротеина ( $\alpha$ 1-АГР), гаптоглобина (Hr) и церулоплазмينا (Cer) с помощью коммерческих наборов реактивов.

Продолжительность иммерсии составила 72 часа (трое суток). В образцах цельной капиллярной крови, взятых через 24, 48 и 72 часа после начала иммерсионного воздействия, регистрировали интенсивность люцигенин-зависимого хемилюминесцентного ответа лейкоцитов на воздействие тестового стимула [7, 8]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Excel.

Исследования одобрены Комиссией по биомедицинской этике Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации – Института медико-биологических проблем РАН (ГНЦ РФ – ИМБП РАН). Перед проведением исследований было получено информированное согласие испытуемых на участие в эксперименте.

## Результаты и обсуждение

Влияние условий иммерсионного эксперимента проявилось в преобладании тенденции к росту плазматических концентраций исследованных белков. Наиболее рельефные, статистически значимые изменения были получены для гаптоглобина, данные приведены в таблице. Гаптоглобин относится

к категории *сильных* белков острой фазы, содержание которых при развитии острофазного ответа может возрастать вплоть до 2–5-кратного превышения исходной концентрации. Максимальные индивидуальные отклонения Нр относительно базального уровня в эксперименте достигали 77 %, при этом средняя величина изменений (30,3 %) была сходна со значением, полученным для иммерсионного воздействия такой же продолжительности в экспериментах с участием испытуемых-мужчин (рис. 1).

Концентрации белков острой фазы  
в крови обследуемых (мг/дл,  $M \pm m$ ,  $n=6$ )

Белки острой фазы	До иммерсии	Иммерсия, длительность воздействия 72 ч
$\alpha 1$ -АТ	119,5 $\pm$ 18,2	124,6 $\pm$ 8,3
$\alpha 1$ -АГР	57,3 $\pm$ 9,1	57,3 $\pm$ 11,2
Нр	65,3 $\pm$ 31,1	80,7 $\pm$ 33,6 ( $p < 0,05$ )
Сег	26,4 $\pm$ 2,2	27,0 $\pm$ 1,9

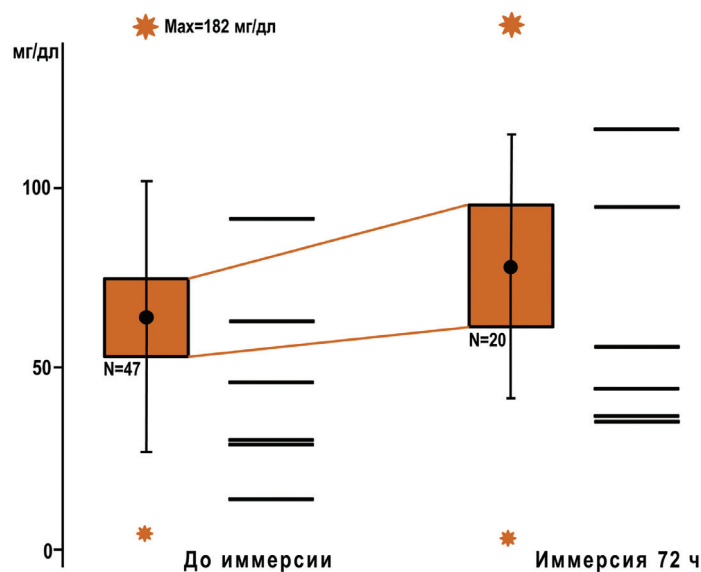


Рис. 1. Плазматические концентрации гаптоглобина в экспериментах с «сухой» иммерсией

Примечание к рис. 1–4:

- ↓  $M \pm \sigma$
- Доверительный интервал 95 %
- ★ Максимальное значение в выборке
- ★ Минимальное значение в выборке
- Индивидуальные значения концентрации  $\alpha 1$ -АТ

$\alpha$ 1-антитрипсин и  $\alpha$ 1-кислый гликопротеин также являются *сильными* белками острой фазы. В иммерсионных экспериментах с участием испытуемых-мужчин после 72 часов нахождения в иммерсии происходило статистически достоверное повышение концентраций, соответственно, на 25,7 и 24,6 % (рис. 2, 3), но в исследованной выборке испытуемых-женщин увеличение уровня  $\alpha$ 1-АТ было значительно меньшим по величине – в среднем на 16,9 %, а изменения  $\alpha$ 1-AGP носили разнонаправленный характер.

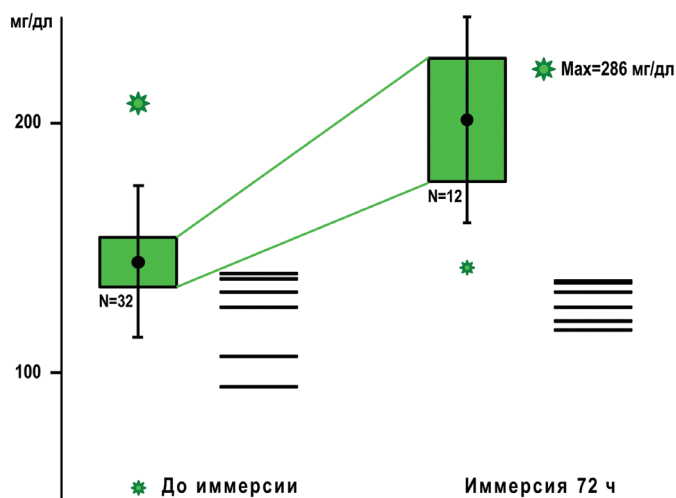


Рис. 2. Плазматические концентрации  $\alpha$ 1-антитрипсина в экспериментах с «сухой» иммерсией

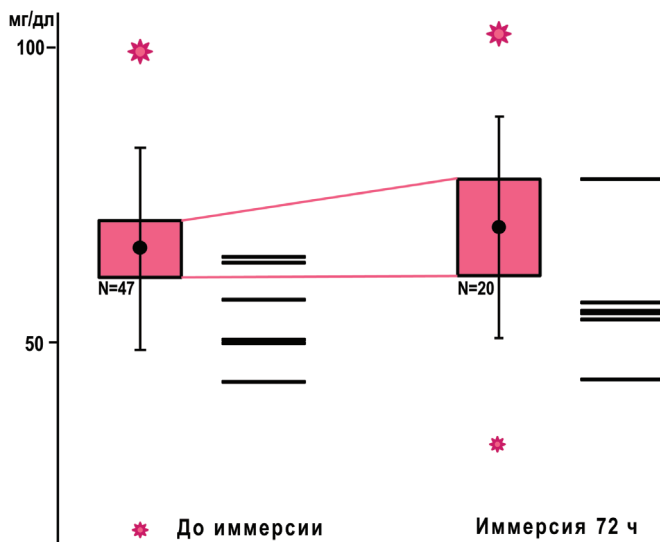


Рис. 3. Плазматические концентрации  $\alpha$ 1-кислого гликопротеина в экспериментах с «сухой» иммерсией

Церулоплазмин – *слабый* позитивный белок острой фазы: при острофазном ответе увеличение содержания этого белка в крови составляет не более 20–60 %. В экспериментах с участием мужчин в качестве испытуемых уровень Cer после 3 суток иммерсии увеличивался в среднем на 9,6 %, изменения были статистически достоверными. В обследуемой группе испытуемых-женщин увеличение концентрации Cer под влиянием иммерсии было меньше – в среднем 2,9 %, максимальные изменения – до 17,8 %. В отличие от остальных исследованных белков, средний плазматический уровень Cer в эксперименте с испытуемыми-женщинами был заметно выше, чем в предыдущих иммерсионных экспериментах, в которых участвовали только обследуемые мужского пола (рис. 4), оставаясь в пределах нормального диапазона [14]. Хемилюминесцентные исследования выявили тенденцию к увеличению амплитуды люцигенин-зависимого ответа цельной крови начиная с 24-часовой иммерсии (рис. 5), что указывает на повышение функциональной активности лейкоцитов крови и усиление выработки белыми клетками крови свободнорадикальных форм кислорода на начальных стадиях адаптации к условиям модельного эксперимента. Изменения хемилюминесценции той же направленности, но более отчетливо выраженные, наблюдались в предыдущих иммерсионных экспериментах с участием испытуемых-мужчин [1]. При этом у испытуемых женского пола отмечались в среднем более высокие плазматические концентрации церулоплазмينا как до воздействия, так и после 3-дневного пребывания в иммерсии. Церулоплазмин является мощным антиоксидантом благодаря способности ингибировать синтез активных форм кислорода [10], и с этой точки зрения высокое содержание Cer у женщин может иметь протективное значение при адаптации к условиям модельного эксперимента.

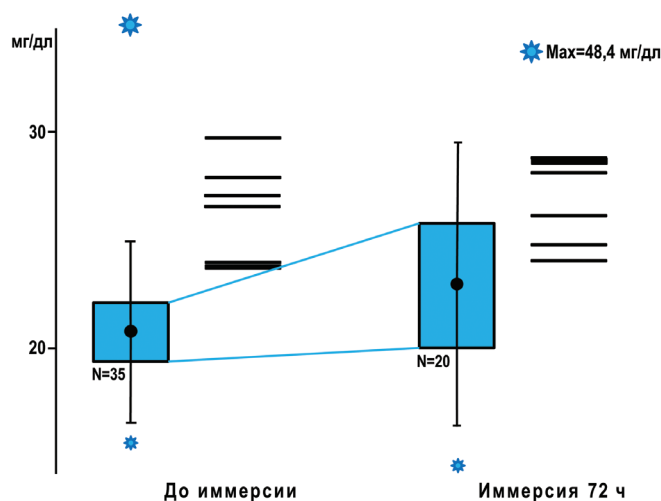


Рис. 4. Плазматические концентрации церулоплазмينا в экспериментах с «сухой» иммерсией

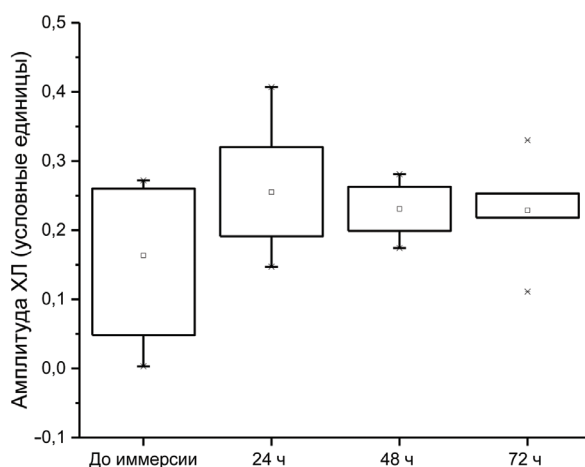


Рис. 5. Интенсивность хемилумinesцентного ответа (ХЛ) цельной крови

Изменения в синтезе белков острой фазы являются индикатором стадии развертывания ООФ. В обследованной выборке испытуемых на 72 часа иммерсионного воздействия отчетливое, статистически значимое повышение плазматической концентрации было показано для гаптоглобина, а остальные исследованные белки проявляли тенденцию к увеличению уровня в крови ( $\alpha 1$ -АТ, Сег), или же наблюдались разнонаправленные изменения концентрации по отношению к фоновым показателям ( $\alpha 1$ -АГР). При той же продолжительности пребывания в иммерсии, в более обширной выборке данных, полученной в нескольких иммерсионных экспериментах с участием обследуемых мужского пола, наблюдались более заметные реакции со стороны синтеза плазматических белков острой фазы: концентрации всех четырех белков после трехдневного воздействия были достоверно выше базальных величин, полученных до иммерсии. Обнаруженные различия могут указывать на меньшую реакцию на условия иммерсии со стороны систем, контролирующих синтез плазматических белков острой фазы, в исследованиях с участием испытуемых-женщин.

Наземные модельные эксперименты позволяют имитировать изменения, обусловленные адаптацией к условиям космического полета. Исследования с иммерсией выявили признаки развития ответа острой фазы в виде концентрационных сдвигов белков острой фазы у испытуемых-женщин, которые в первые трое суток воздействия были выражены в меньшей степени, чем в предыдущих иммерсионных экспериментах, проводившихся с участием испытуемых-мужчин. Усиление синтеза позитивных белков острой фазы при развитии ООФ является компенсаторной реакцией, направленной на восстановление гомеостаза, причем конкретный набор белков, подверженных изменениям, а также диапазон концентрационных сдвигов зависят от вида воздействующего фактора и его интенсивности. Еще предстоит выяснить,

чем обусловлены гендерные различия в реакциях острофазных белков, наблюдаемых в экспериментах с иммерсией – отражают ли они расхождение в степени воздействия имитируемых условий микрогравитации на состояние организма, либо являются следствием различий в темпах перестроек системы синтеза плазматических белков.

## Выводы

В результате выполненных исследований получены данные, указывающие на развитие ответа острой фазы в начальные сроки адаптации к иммерсии. Изменения в экспрессии позитивных белков острой фазы в течение 72 часов иммерсии испытуемых-женщин были выражены в меньшей степени, чем в экспериментах с участием обследуемых-мужчин, при этом высокие уровни церулоплазмينا, наблюдаемые у обследуемых женского пола в фоновом периоде и во время иммерсионного воздействия, благодаря способности Сег ингибировать формирование свободнорадикальных соединений кислорода, могут иметь протективное значение на этапе индукции ООФ.

*Работа выполнена в рамках тематики РАН 65.1.*

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Беккер А.М. Активность экспрессии плазматических белков острой фазы при адаптации к условиям иммерсии связана с изменениями продукции супероксидных анион-радикалов в лейкоцитах крови / А.М. Беккер, А.Ю. Тюрин-Кузьмин, О.Н. Ларина // Тезисы XVI конференции по космической биологии и медицине (5–8 декабря 2016 г.), Москва. – С. 20–21.
- [2] Ларина О.Н. Белки плазмы крови после длительных космических полетов // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2006. – Т. 40. – № 6. – С. 16–19.
- [3] Ларина О.Н. Возможности использования показателей регуляции синтеза белков острой фазы для оценки индивидуальных особенностей адаптации к экстремальным воздействиям / О.Н. Ларина, А.М. Беккер // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2007. – Т. 41. – № 6/1. – С. 41–43.
- [4] Ларина О.Н. Влияние условий «сухой» иммерсии на содержание в крови человека  $\alpha$ -глобулиновых белков острой фазы / О.Н. Ларина, А.М. Беккер // Вестник восстановительной медицины. – 2008. – Т. 29. – № 6. – С. 29–31.
- [5] Плазматические показатели экспрессии медиаторов реакции острой фазы в начальные сроки адаптации к антиортостатическому положению / О.Н. Ларина, А.М. Беккер, Л.Г. Репенкова, А.С. Ковалев, Р.В. Черногорov // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т. 10. – № 1. – С. 3–5.
- [6] Ларина О.Н. Фракционный состав белков крови после кратковременного пребывания в космическом полете / О.Н. Ларина, А.М. Беккер // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т. 10. – № 4. – С. 42–45.
- [7] Тюрин-Кузьмин А.Ю. Способ изучения взаимодействия клеток крови с твердой поверхностью материалов / А.Ю. Тюрин-Кузьмин, В.Е. Формазюк // Патент на изобретение RU 2289123 С1 с приоритетом от 25.05.2005, зарегистрирован 10.12.2006.



- [8] Тюрин-Кузьмин А.Ю. Ячейка для хемилюминесцентного анализа взаимодействия клеток крови с макроскопической твердой поверхностью // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – № 6. – С. 36–39.
- [9] Moreland L.W. Acute phase response. *Rheumatology and Immunology Therapy: A to Z Essentials*. Springer Science+Business Media, 2004, Berlin, – P. 20.
- [10] Bakhautdin B., Febbraio M., Goksoy E., De la Motte C.A., Gulen M.F., Childers E.P., Hazen S.L., Li X., Fox P.L. Protective role of Macrophage-derived Ceruloplasmin in Inflammatory Bowel Disease. *BMJ. Gut*, 2013. Feb;62(2):209-19. DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300694.
- [11] Chovatiya R., Medzhitov R., Stress, Inflammation, and Defense of Homeostasis. *Mol Cell*, 2014 Apr 24;54(2):281-8. DOI: 10.1016/j.molcel.2014.03.030.
- [12] Haeryfar S.M., Berczi I. The Thymus and the Acute Phase Response. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2001 Feb;47(1):145-56.
- [13] Koj A. Initiation of Acute Phase Response and Synthesis of Cytokines. *Biochim Biophys Acta*. 1996 Nov 15;1317(2):84-94. DOI: 10.1016/s0925-4439(96)00048-8.
- [14] Mak C.M., Lam C.W., Tam S. Diagnostic Accuracy of Serum Ceruloplasmin in Wilson Disease: Determination of Sensitivity and Specificity by ROC Curve Analysis Among ATP7B-genotyped Subjects. *Clinical chemistry*, 2008. – Vol. 54. – P. 1356–62.
- [15] Chouker A. Stress Challenges and Immunity in Space: From Mechanisms to Monitoring and Preventive Strategies. Springer Science+Business Media. – 2012. – 469 p., DOI:10.1007/978-3-642-22272-6.

## REFERENCES

- [1] Becker A.M. The Expression Activity of Acute Phase Plasma Proteins During Adaptation to Immersion Conditions is Associated With Changes in the Production of Superoxide Anion Radicals in Blood Leukocytes / A.M. Becker, A.Yu. Tyurin-Kuzmin, O.N. Larina // Abstracts of the XVI Conference on the Space Biomedicine, (Moscow, December, 5–8, 2016). – P. 20–21.
- [2] Larina O.N. Blood Plasma Proteins After Long-Term Space Flights // *Journal of Aerospace and Environmental Medicine*, 2006. – Vol. 40. – No 6. – P. 16–19.
- [3] Larina O.N. Feasibility of Using Indicators of Regulation of Acute Phase Protein Synthesis to Assess Individual Characteristics of Adaptation to Extreme Impacts / O.N. Larina, A.M. Becker // *Journal of Aerospace and Environmental Medicine*. – 2007. – Vol. 41.– No 6/1. – P. 41–43.
- [4] Larina O.N., Becker A.M. Influence of “Dry” Immersion Conditions on the Content of Acute Phase  $\alpha$ -Globulin Proteins in Human Blood. *Bulletin of Rehabilitation Medicine*. – Vol. 29. – No 6. – P. 29–31.
- [5] Larina O.N. Plasma Indicators of the Acute Phase Reaction Mediators Expression in the Initial Stages of Adaptation to Antiorthostatic Position / O.N. Larina, A.M. Becker, L.G. Repenkova, A.S. Kovalev, R.V. Chernogorov // *Journal Cytokines and inflammation*. – 2011. – Vol. 10. – No 1. – P. 3–5.
- [6] Larina O.N. Blood Protein Fractions in Crewmembers After Short-Term Space Flight / O.N. Larina, A.M. Becker // *Journal Cytokines and inflammation*, 2011. – Vol. 10. – No 4. – P. 42–45.
- [7] Tyurin-Kuzmin A.Yu., Formazyuk V.E. Method for Studying the Interaction of Blood Cells With a Solid Surface of Materials. Patent for invention RU 2289123 C1 with priority dated May 25, 2005, registered on December 10, 2006.

- [8] Tyurin-Kuzmin A.Yu. A Cell for Chemiluminescent Analysis of the Interaction of Blood Cells With a Macroscopic Solid Surface. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. – 2007. – No 6. – P. 36–39.
- [9] Moreland L.W. Acute Phase Response. In: *Rheumatology and Immunology Therapy: A to Z essentials*, Springer Science+Business Media, 2004, Berlin, – 20 p.
- [10] Bakhautdin B., Febbraio M., Goksoy E., De la Motte C.A., Gulen M.F., Childers E.P., Hazen S.L., Li X., Fox P.L. Protective role of Macrophage-derived Ceruloplasmin in Inflammatory Bowel Disease. *BMJ. Gut*, 2013. Feb;62(2):209-19. DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300694.
- [11] Chovatiya R., Medzhitov R., Stress, Inflammation, and Defense of Homeostasis. *Mol Cell*, 2014 Apr 24;54(2):281-8. DOI: 10.1016/j.molcel.2014.03.030.
- [12] Haeryfar S.M., Berezi I. The Thymus and the Acute Phase Response. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2001 Feb;47(1):145-56.
- [13] Koj A. Initiation of Acute Phase Response and Synthesis of Cytokines. *Biochim Biophys Acta*. 1996 Nov 15;1317(2):84-94. DOI: 10.1016/s0925-4439(96)00048-8.
- [14] Mak C.M., Lam C.W., Tam S. Diagnostic Accuracy of Serum Ceruloplasmin in Wilson Disease: Determination of Sensitivity and Specificity by ROC Curve Analysis Among ATP7B-genotyped Subjects. *Clinical chemistry*, 2008. – Vol. 54. – P. 1356–62.
- [15] Chouker A. Stress Challenges and Immunity in Space: From Mechanisms to Monitoring and Preventive Strategies. Springer Science+Business Media, 2012. – 469 p., DOI:10.1007/978-3-642-22272-6.