



## К вопросу о качественных методах оценки микробиоты человека в искусственной среде обитания

Ильин В.К., Скедина М.А., Усанова Н.А., Морозова Ю.А., Старкова Л.В., Виленский И.Л., Артамонов А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, (Хорошёвское шоссе, 76а, Москва, 123007, Россия)

**Для цитирования:** Ильин В.К., Скедина М.А., Усанова Н.А., Морозова Ю.А., Старкова Л.В., Виленский И.Л., Артамонов А.А. К вопросу о качественных методах оценки микробиоты человека в искусственной среде обитания. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2025;(7): 21–30 doi: 10.31146/1682-8658-ecg-239-7-21-30

✉ Для переписки:

**Ильин**

**Вячеслав**

**Константинович**

piton2004@bk.ru

**Ильин Вячеслав Константинович**, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом санитарно-гигиенической безопасности человека, заведующий лабораторией микробной экологии человека  
**Скедина Марина Анатольевна**, к.м.н., ведущий научный сотрудник научно-организационного отдела  
**Усанова Нонна Альбертовна**, старший научный сотрудник лаборатории микробной экологии человека  
**Морозова Юлия Алексеевна**, научный сотрудник лаборатории микробной экологии человека  
**Старкова Любовь Валентиновна**, к.т.н., старший научный сотрудник лаборатории микробной экологии человека  
**Виленский Игорь Леонидович**, младший научный сотрудник лаборатории микробной экологии человека  
**Артамонов Антон Анатольевич**, к. ф-м. н., старший научный сотрудник отдела радиационной безопасности пилотируемых космических полетов

### Резюме

**Цель исследования.** Изучить динамику микробиоты кишечника человека в условиях искусственной изоляции (моделирующей космические полеты) с использованием нового зубиотического индекса I, оценивающего баланс условно-протективных и условно-патогенных микроорганизмов.

#### Материалы и методы.

**Данные:** архивные материалы советских космических программ (1960–1980 гг.) и современные изоляционные эксперименты («Сфинкс»: 60 суток; «Сириус»: 120/240 суток; «Марс-500»: 520 суток).

**Методика:** классический посев на питательные среды для подсчета колоний микроорганизмов.

**Зубиотический Индекс I:** рассчитан на основе приоритетности колонизации бактерий.

**Статобработка:** критерии Шапиро-Уилка, Краскела-Уоллиса, ANOVA, Dunn test (программы StatTech v3.0.9 и R).

**Результаты.** Короткая изоляция (до 15 суток): Пик зубиотического индекса на 8–11 сутки с последующим снижением (аппроксимация:  $R^2 = 0.9986$ ).

Длительная изоляция (60–520 суток): Устойчивое снижение зубиотического индекса I, с достижением минимум на 150–300 сутки ( $I < 1$  – доминирование условно-патогенной микрофлоры). Пробиотики замедляют, но не предотвращают дисбиоз. Верификация модели: хорошее согласование с экспериментом «Сфинкс».

**Заключение.** Изоляция вызывает снижение разнообразия микробиоты и смещение баланса в сторону условно-патогенных микроорганизмов. Для длительных космических миссий рекомендованы: интеграция пребиотиков в рацион; персонализированные пробиотики.

**Ключевые слова:** микробиота человека, кишечник, искусственная среда обитания

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: ADHXXF



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-239-7-21-30>

## Regarding qualitative methods for evaluating human microbiota in an artificial environment

V.K. Ilyin, M.A., Skedina, N.A. Usanova, Yu.A. Morozova, L.V. Starkova, I.L. Vilenskii, A.A. Artamonov

Institute for Biomedical Problems Russian Academy of Sciences (76-a, Khoroshyovskoye highway, Moscow, 123007, Russia)

**For citation:** Ilyin V.K., Skedina M.A., Usanova N.A., Morozova Yu.A., Starkova L.V., Vilenskii I.L., Artamonov A.A. Regarding qualitative methods for evaluating human microbiota in an artificial environment. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2025;(7): 21–30. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-239-7-21-30

✉ *Corresponding author:*

**Vyacheslav K. Ilyin**  
piton2004@bk.ru

**Vyacheslav K. Ilyin**, PhD, Professor, Leading researcher, Head of Department of sanitary and hygienic safety of human, Head of Laboratory of human microbial ecology; *ORCID: 0000-0003-3896-5003*

**Marina A. Skedina**, Candidate of Medical Sciences, Leading researcher of Scientific and organization Department; *ORCID: 0000-0003-4369-966*

**Nonna A. Usanova**, Senior researcher of Laboratory of human microbial ecology; *ORCID: 0000-0002-8485-4470*

**Yulia A. Morozova**, Researcher of Laboratory of human microbial ecology; *ORCID: 0000-0002-9461-6986*

**Liubov V. Starkova**, Candidate of Technical Sciences, Laboratory of human microbial ecology; *ORCID: 0000-0001-9540-4769*

**Igor L. Vilenskii**, Junior researcher of Laboratory of human microbial ecology; *ORCID: 0000-0001-6065-2295*

**Anton A. Artamonov**, Candidate of Physical and Mathematic Sciences, senior researcher of Department of radiation safety of manned space flights

### Summary

**Objective.** To study the dynamics of human intestinal microbiota under conditions of artificial isolation (simulating space flights) using a new eubiotic index that evaluates the balance of opportunistic and opportunistic microorganisms.

#### Materials and methods.

**Data:** archival materials of the Soviet space programs (1960–1980) and modern isolation experiments (“Sphinx”: 60 days; “Sirius”: 120/240 days; “Mars-500”: 520 days).

**Methodology:** classical seeding on nutrient media to count microorganism colonies.

**Index I:** calculated based on the priority of bacterial colonization.

**Statistical processing:** Shapiro-Wilk, Kruskal-Wallis, ANOVA, Dunn test (StatTech v3.0.9 and R programs).

**Results.** Short-term isolation (up to 15 days): Peak of the eubiotic index on days 8–11 with subsequent decrease (approximation:  $R^2 = 0.9986$ ).

Long-term isolation (60–520 days): Steady decrease in the eubiotic index I, reaching a minimum on days 150–300 ( $I < 1$  – dominance of opportunistic microflora). Probiotics slow down, but do not prevent dysbiosis. Model verification: good agreement with the Sphinx experiment.

**Conclusion.** Isolation causes a decrease in the diversity of microbiota and a shift in the balance towards opportunistic microorganisms. The following are recommended for long-term space missions: integration of prebiotics into the diet; personalized probiotics.

**Keywords:** human microbiota, intestine, artificial habitat

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interest.

### Введение

Одно из важных направлений в космической биологии и медицине – анализ рисков, сопряженных с особенностью развития микробиома в условиях космического полета. Из-за сложности изучения микробиома в условиях космического полета, были предприняты попытки феноменологического описания. Так была создана модель оценки

интегральной антибиотикорезистентности [1], и была предложена модель оценки стабильности антибиотикорезистентности [2]. Данная работа является продолжением первых двух [1, 2]. По большей части наши работы основаны на анализе экспериментальных данных, полученных в рамках реализации космической программы СССР

в 60–80х годах и современных изоляционных экспериментов. Несмотря на то, что результаты микробиологических исследований представлены самыми базовыми параметрами, условия в которых проводились эксперименты и первые полеты в космос уникальны и их достаточно сложно повторить. Уникальность экспериментов заключается в том, что первые полеты в космос и первые наземные эксперименты с изоляцией в гермообъекте проходили в условиях сильных ограничений возможностей и ресурсов. Предполагаемые дальние полеты в космос, по-видимому, будут сопоставимы по уровню сложности и ограничений, однако будут значительно более длительными. Представляется ценным ретроспективный анализ прошлых экспериментов с целью построения моделей для прогнозирования базовых параметров будущих дальних экспедиций.

В этой статье мы представим исследование микробиоты кишечника первых советских космонавтов и участников, находящихся в условиях коротких и длительных изоляций – имитирующих условия на космическом корабле. Результаты экспериментов с изоляцией людей в короткий и длительный период подсвечивают некоторые актуальные проблемы, и возможные пути решения этих проблем. С 2019 года, из-за эпидемии COVID-19, многие страны столкнулись с необходимостью вводить карантин и домашнюю изоляцию для своих граждан. Однозначно показано пагубное влияние COVID19 и связанные с ним условия всеобщей изоляции на микробиоту кишечника [3, 4]. С другой стороны, мы можем рассматривать микробиом кишечника как терапевтическую мишень [5]. Уже разработана практика применения пробиотиков при лечении COVID-19 [6]. Но без внимания остался вопрос о том, что происходит со здоровыми людьми в условиях домашней изоляции с вынужденными ограничениями в физической активности и питании и при уменьшении медицинского

обслуживания. Большое количество городских жителей были вынуждены оставаться дома в стесненных условиях и лишениях. Интуитивно мы можем предложить, что такие условия должны влиять негативно на микробиоту кишечника. Однако «ядро» микробиома – его основные действующие микроорганизмы, не меняются на протяжении многих тысячелетий [7], но при этом микробное многообразие постепенно угасает. Это особенно заметно, если сравнить микробиом кишечника неандертальца и современного человека, проживающего в мегаполисе [8]. Мы не зря упоминаем о неандертальцах, поскольку разделение с общим предком современного человека и неандертальца произошло примерно 700 тыс. лет назад, а «ядро» микробиома кишечника можно считать одинаковым, но вот многообразие микробиома значительно сократилось в последнее время. В целом приемлемая для современного человека диета неандертальцев богатая белковой и растительной пищей [9] может подсказать нам путь преодоления кризиса связанного с угасанием разнообразия микрофлоры кишечника. Однако исследования [10] показали, что урбанизация – один из самых мощных негативных факторов, действующих на микробиоту и приводящий к уменьшению разнообразия кишечного микробиома. Урбанизация – это собирательный фактор, включающий в себя измененную диету, экологию, стрессы, режим труда и отдыха и многое другое. Таким образом, к уже действующим негативным эффектам урбанизации добавились еще и эффекты домашней изоляции. Повсеместная изоляция выявила определенные направления для исследований. Так, например, остро встала проблема определения границ нормы микробиома для человека. Возникла необходимость в стандартизации методов описания дисбиоза кишечника. Появились подходы для определения дисбиотических индексов.

### Дисбиотические индексы

Дисбиотические индексы используются повсеместно, однако не дают однозначного ответа на вопрос о состоянии микрофлоры кишечника здорового человека. Дисбиотические индексы многочисленны, поскольку многие из них строго специализированы под те или иные состояния, отличные от нормы. С другой стороны, и понятие нормы кишечной микрофлоры человека весьма размыто.

Обзор методов расчета дисбиотического индекса хорошо представлен в работе [11]. В соответствии с данной работой мы приводим 5 категорий дисбиотических индексов с кратким их описанием:

1. **Large-scale bacterial marker profiling:** крупномасштабное профилирование бактериальных маркеров. Примером может служить *GA-map dysbiosis test (Genetic Analysis AS, Oslo, Norway)* – тест для выявления широкого круга бактерий из 10 бактериальных классов и сопоставлении с нормальной микрофлорой контрольной популяцией (n=297 человек составляла контрольная популяция, относительно которой проводится расчет индекса). При этом параметры нормальной микрофлоры кишечника и детали расчета недоступны.

2. **Relevant taxon-based methods:** методы, основанные на соответствующих таксонах. Серия методов основанных на исследовании таксонов. Эти методы дают хорошие результаты при наличии данных секвенирования. Этот метод расчета индекса имеет множество модификаций, которые применяются для разных случаев нарушений работы желудочно-кишечного тракта.
3. **Neighborhood classification:** В основе индекса лежит расчет отклонения от нормы (с помощью вычислительных инструментов *MetaPhlan2* и *HUMAnN2*). Исходными данными являются концентрации таксонов или метаболитов.
4. **Random forest prediction:** Метод основан на машинном обучении. Для реализации метода требуется значительная выборка верифицированных данных.
5. **Combined alpha and beta diversity:** Как и во всех вышеперечисленных методах в основе расчета индекса лежит секвенирование. *Alpha diversity* – разнообразие таксонов у конкретного человека; *beta diversity* – разнообразие таксонов в популяции.

Все эти методы основаны на использовании высокотехнологичных лабораторных практик анализа. Результаты получаются в процессе секвенирования, протеомного анализа, ПЦР. И все эти методы нацелены на выявление патологических состояний желудочно-кишечного тракта человека, ассоциированных с измененным микробиомом кишечника. Еще более дорогие и более эффективные методы связаны с метагеномными исследованиями фекалий человека [12]. На основании таких исследований существует возможность достоверного предсказания некоторых болезней человека [13]. Но несмотря на очевидные успехи нет глубокого понимания взаимосвязи

микробиомов в составе микробиома и его взаимодействия с человеком [14]. И совершенно не изучена динамика изменения микробиома человека во времени [15].

Поскольку в наших исследованиях принимали участие здоровые участники экспериментов и космонавты, то необходимо было выбрать индекс, который подходил бы для описания баланса микробиоты кишечника. При этом мы были сильно ограничены имеющимися архивными данными, которые состояли из информации о типе наиболее распространенных микроорганизмов кишечника и их концентрации. По этой причине мы разработали свой эубиотический индекс.

## Материалы и методы

### Условия изоляционных экспериментов

Наземные эксперименты с изоляцией участников начали проводить с 1964 года. Для этого использовались макеты реальных космических кораблей и орбитальных станций. История развития этого направления исследования представлена в интернете (<http://mars500.imbp.ru/en/history.html>). Технические подробности изоляционных экспериментов представлены на страницах <http://sirius.imbp.ru/sirius21/eng.html> и <http://mars500.imbp.ru/en/nek.html>

К эксперименту допускались участники, к которым предъявлялись требования по здоровью сопоставимые с требованиями к космонавтам [16]. Таким образом, исключались участники с терапевтическими проявлениями состояния дисбиоза [17]. Питание космонавтов и участников было основано на рационе питания космонавтов [18, 19] – в виде консервированной и сублимированной пищи, которая удовлетворяет требованиям калорийности и содержанием необходимых жиров, белков и углеводов и микроэлементов.

### Методика отбора пробы и обнаружения микроорганизмов

Образцы кала для исследований собирали после дефекации стерильным шпателем из разных участков стула в количестве не менее 50 г. Далее образцы помещали в стерильную стеклянную емкость с крышкой и немедленно отправляли на микробиологическое тестирование.

Из полученных образцов готовили пробы для микробиологического тестирования. Для этого 1 грамм фекалий растирают и растворяют в 9 мл физиологического раствора, после чего делают

серийные разведения и производят посев на различные плотные питательные среды для выделения колоний микроорганизмов. Изменения в соотношении микрофлоры кишечника определяли подсчетом колоний.

Обе эти методики использовались, начиная с первых изоляционных экспериментов (с 60х годов). Единый подход позволяет сопоставлять результаты, полученные в первых экспериментах и первых космических полетах.

### Расчет эубиотического индекса

Эубиотический индекс рассчитывался из параметра приоритетности колонизации условно протективных и условно патогенных микроорганизмов. Параметр приоритетности колонизации  $P_n^{\pm}(t)$  в момент времени  $t$  определяется для микроорганизма с порядковым номером  $n(t)$  в списке приоритетности колонизации с максимальным порядковым номером  $N(t)$  в этом списке. Распределяют микроорганизмы в списке приоритетности в соответствии с их концентрацией в пробе. Так наиболее распространенному микроорганизму присваивается 1й номер в списке  $n(t)=1$ , а наименее распространенному присваивается порядковый номер  $n(t)=N(t)$ . Для каждой пробы, может быть, разное число типов обнаруженных микроорганизмов и с разными концентрациями. Для каждого  $n$ -го типа микроорганизма можно найти соответствующий ему параметр приоритетности колонизации  $P_n^{\pm}(t)$  по формуле:

$$P_n^{\pm}(t) = \frac{2 * (N(t) + 1 - n(t))}{N(t) * (N(t) + 1)} \quad (1)$$

При этом верхний индекс «+» относится к условно протективным микроорганизмам, а индекс «-» к условно патогенным. При этом выполняется условие:

$$\sum_{n=1}^N P_n^{-} + P_n^{+} = 1 \quad (2)$$

По сути параметр приоритетности колонизации показывает вклад протективных или патогенных микроорганизмов в общий баланс микробиоты.

Эубиотический индекс  $I(t)$  для пробы, полученной в момент времени  $t$  можно найти по формуле:

$$I(t) = \sum_{n=1}^N P_n^{+}(t) \div \sum_{n=1}^N P_n^{-}(t) \quad (3)$$

Эубиотический индекс показывает во сколько раз вклад условно протективной микробиоты

отличается от вклада условно патогенной. Если эубиотический индекс больше 1, это означает пре-

обладание вклада условно протективной микрофлоры, и наоборот, если индекс меньше 1.

### Описание методов статистического анализа

В данной работе мы проводим квази-ретроспективный анализ проведенных в ИМБП экспериментов по изоляции малых групп. Изоляционные эксперименты проводились как короткие (7–15 дней), так и длительные (до 520 суток). Эксперименты проводились при различных условиях и для отработки различных экспериментальных условий и преследовали различные научные цели. Анализ кишечной микрофлоры участников экспериментов был второстепенной задачей. В большинстве случаев изоляционные эксперименты были направлены на исследования психологии малых групп в экстремальных условиях близких к космическим [20].

Что касается микробиологических исследований, то общими условиями для всех этих экспериментов можно назвать:

1. Изоляция малых групп (до 6 человек).
2. Одинаковое питание (рационы космонавтов).

В силу этих причин нам необходимо было применять различные статистические подходы и сравнивать результаты экспериментов с учетом протокола изоляционного эксперимента.

Ниже описаны статистические методы, которые использовались для всех экспериментальных данных в соответствии их применимости.

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному

распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин ( $M$ ) и стандартных отклонений ( $SD$ ), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы ( $Me$ ) и нижнего и верхнего квартилей ( $Q1 - Q3$ ).

Сравнение трех и более групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполнялось с помощью ANOVA, апостериорные сравнения проводились с помощью критерия Геймса-Хауэлла (при неравных дисперсиях), апостериорные сравнения проводились с помощью критерия Тьюки (при условии равенства дисперсий).

Сравнение трех и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Бонферрони.

Статистический анализ проводился с использованием программы StatTech v. 3.0.9 (разработчик – ООО «Статтех», Россия), а также R. Программа StatTech зарегистрирована Федеральной службой по интеллектуальной собственности, номер регистрации 2020615715, дата регистрации 29.05.2020

## Результаты

### Описание методов и результатов статистического анализа данных коротких изоляционных экспериментов (от 7 до 15 суток)

Эксперименты с короткой изоляцией повторялись несколько раз. Таким образом, был получен достаточный объем данных для статистической обработки результатов и построения математической модели изменения баланса кишечной микрофлоры человека в изоляционном эксперименте. Стоит

отметить, что в каждом отдельном изоляционном эксперименте был свой исходный (измеренный за 1–3 сутки до начала изоляции) уровень эубиотического индекса –  $I$ . Чтобы это учесть, мы использовали относительный индекс  $Ri$ , который вычисляется по формуле:

$$Ri(t\text{-й день изоляции}) = \frac{I(t\text{-й день изоляции})}{I(1\text{-3 дня до изоляции})} \quad (4)$$

где  $I(t\text{-й день изоляции})$  – эубиотический индекс, вычисленный по результатам на  $t$ -й день изоляции, а  $I(1\text{-3 дня до изоляции})$  – фоновое значение эубиотического индекса измеренный за 1–3 дня до начала изоляции.

Для более корректного построения математической модели, мы использовали точность расчета относительного индекса  $Ri$  до 3-го знака.

Ниже в таблице представлен статистический анализ показателя «Относительный индекс,  $Ri$ » в зависимости от показателя «День изоляции». Относительный индекс необходим чтобы провести нормировку к фоновым значениям, поскольку в каждом эксперименте были разные фоновые значения.

В результате анализа показателя «Относительный индекс» в зависимости от показателя «День изоляции», не были выявлены существенные различия ( $p = 0,058$ ) (используемый метод: Критерий Краскела-Уоллиса). Подробности представлены на рис. 1.

Как видно из рисунка 1 – динамика во времени относительного индекса  $Ri$  имеет вид перевернутой параболы. Это обстоятельство мы использовали для построения аппроксимации (рис. 2).

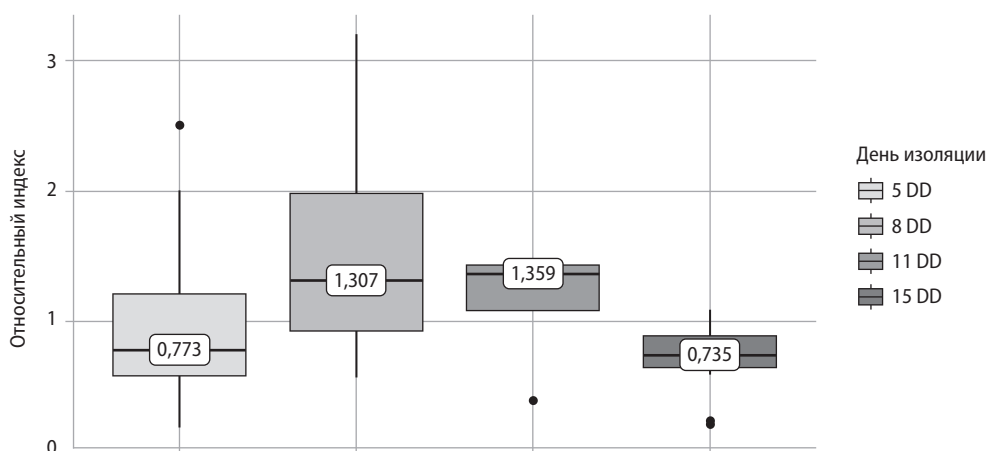
Ниже представлено уравнение аппроксимации: индекс  $Ri$  как функция от времени изоляции –  $D$ .

$$Ri = -0,0269D^2 + 0,535D - 1,2356 \quad (5)$$

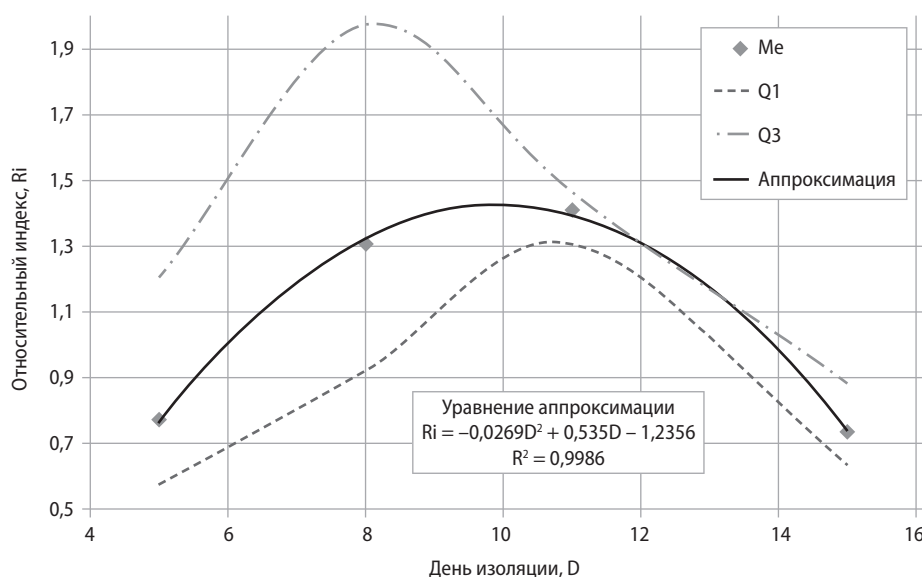
**Таблица 1.**  
Расчет относительного индекса "Ri" для различных периодов изоляции

Показатель	Категории	Относительный индекс, Ri			p
		Me	Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub>	n	
День изоляции	5 DD	0,773	0,577-1,200	18	0,058
	8 DD	1,307	0,921-1,975	11	
	11 DD	1,359	1,077-1,424	4	
	15 DD	0,735	0,636-0,880	11	

**Рисунок 1.**  
Зависимость относительного эубиотического индекса "Ri" от количества дней изоляции



**Рисунок 2.**  
Аппроксимация относительного индекса Ri квадратичным уравнением.



Теснота связи для полученной аппроксимации  $R^2=0,9986$ . Теснота связи  $R^2=0,9986$  по шкале Чеддока оценивается как очень высокая. Таким образом, мы получили математическую модель, способную с высокой степенью достоверности описывать статистически значимые различия в динамике эубиотического индекса кишечной микрофлоры. Границы применимости разработанной математической модели:

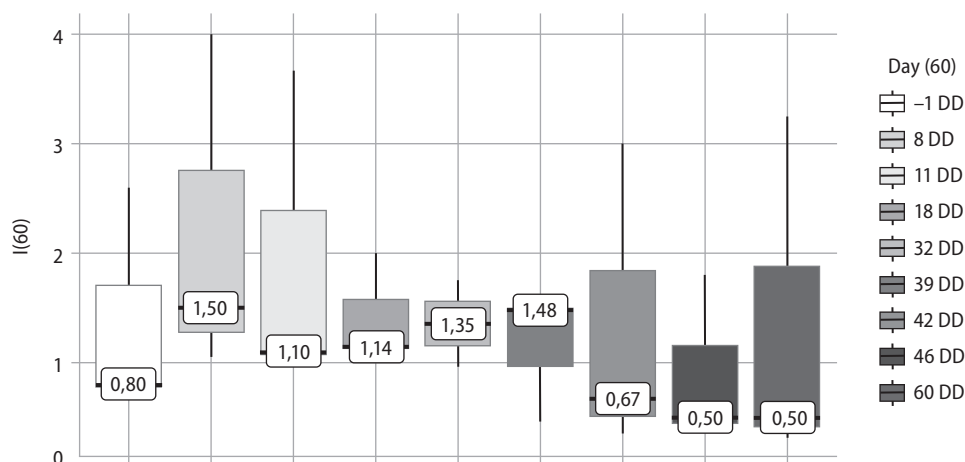
1. Фоновые измерения должны быть за 1–3 суток до начала изоляции.
2. Группа изоляции – до 6 человек.
3. Не используются пробиотики, или пребиотики.
4. Модель создана для периода от 4 до 15 суток изоляции.

**Описание методов и результатов статистического анализа, данных изоляционного эксперимента «Сфинкс» (60 суток). Верификация математической модели.**

По своим условиям изоляционный эксперимент «Сфинкс» сопоставим с короткими изоляционными экспериментами. На результатах этого эксперимента мы верифицируем созданную математическую модель.

Предварительно представим статистический анализ результатов эксперимента «Сфинкс». В таблице 2 представлена зависимость эубиотического индекса в зависимости от дня изоляции. При анализе показателя «I(60)» в зависимости от

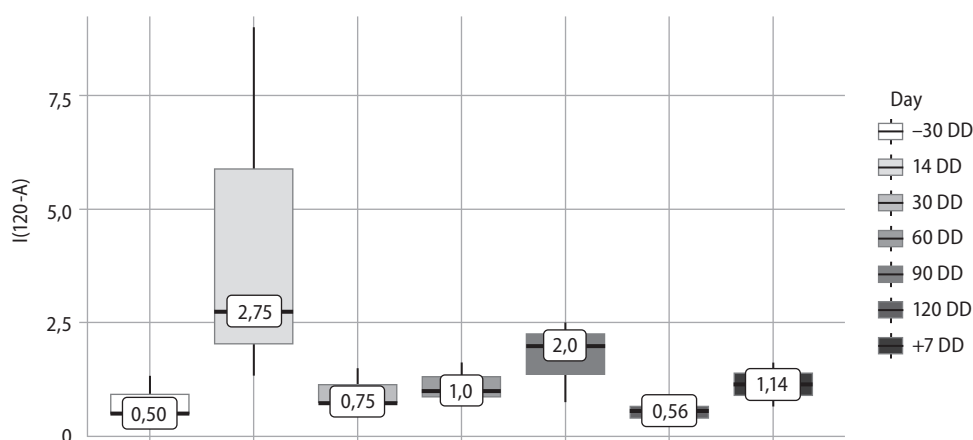
**Рисунок 3.**  
Зависимость эубиотического индекса «I(60)» от продолжительности изоляции (n=3, p=0,87)



**Таблица 2.**

Показатель	Дни изоляции	Результат математической модели	Экспериментальный результат
Ri	8	1,32	1,87
	11	1,39	1,38

**Рисунок 4.**  
Зависимость эубиотического индекса «I(120-A)» от продолжительности изоляции (n=3, p = 0,13)



показателя «Day (60)», статистически значимых различий не обнаружено ( $p = 0,867$ ) (используемый метод: Критерий Краскела-Уоллиса). Стоит отметить закономерный результат снижения эубиотического индекса начиная с 39 дня изоляции (см.рис.3). Мы наблюдаем значение этого индекса ниже единицы, что означает преобладание условно-патогенной микрофлоры над условно-протективной.

Верификация модели заключается в том, что мы оцениваем Ri найденный по математической

модели, с индексом, рассчитанным на основе экспериментальных данных. Результаты представлены в табл. 1.

Математическая модель показывает отличное согласие для 11 дня изоляции. Однако мы наблюдаем, что математическая модель дает на 30% меньший результат на 8 сутки изоляции. В целом мы можем заключить, что математическая модель дает правильную динамику относительно баланса микрофлоры кишечника в зависимости от дня изоляции.

### Описание методов и результатов статистического анализа результатов эксперимента «Сириус 120»

Группа из 3-х испытуемых – участников «Сириус120», кто не принимал аутопробиотики была обозначена как 120-A, а группа из 3х испытуемых, кто принимал аутопробиотики была обозначена как 120-B.

Был выполнен анализ показателя «I(120-A)» в зависимости от дня изоляции.

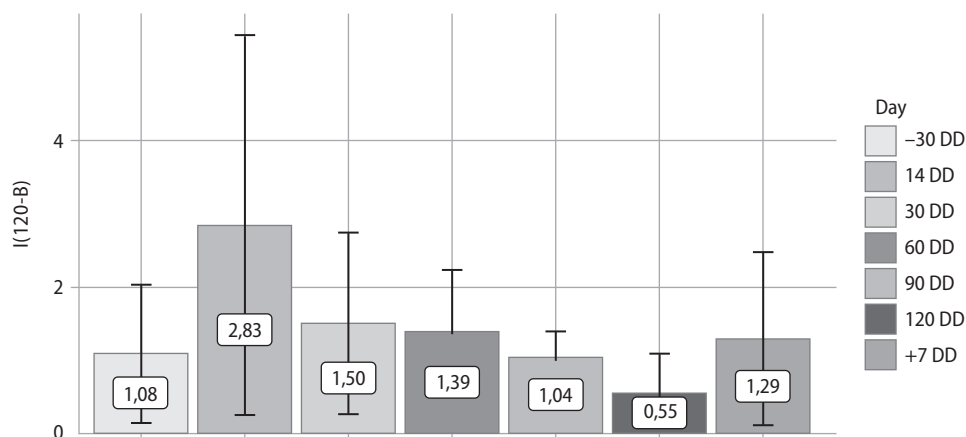
На рисунке показано изменение показателя «I(120-A)» в зависимости от дня изоляции, где не

были выявлены статистически значимые различия ( $p = 0,13$ ) (используемый метод: Критерий Краскела-Уоллиса).

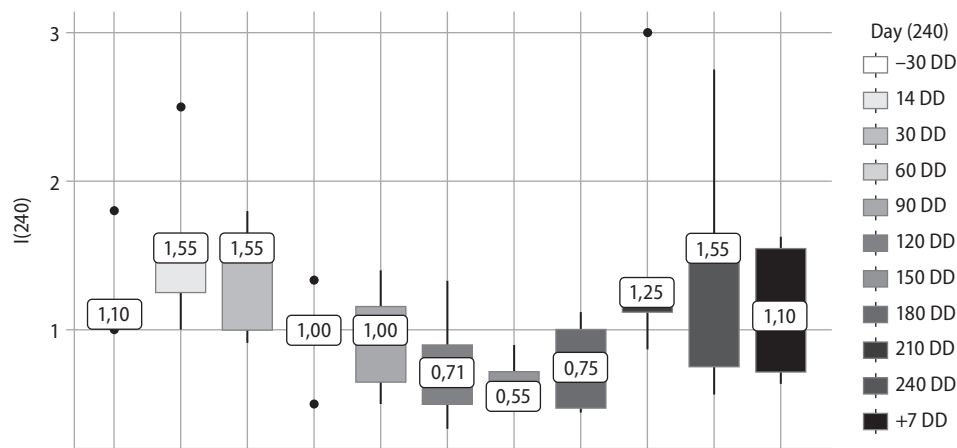
Был проведен анализ показателя «I(120-B)» в зависимости от дня изоляции.

В результате сопоставления показателя «I(120-B)» в зависимости от показателя «Day», были установлены статистически значимые различия ( $p = 0,004$ ) (используемый метод: ANOVA).

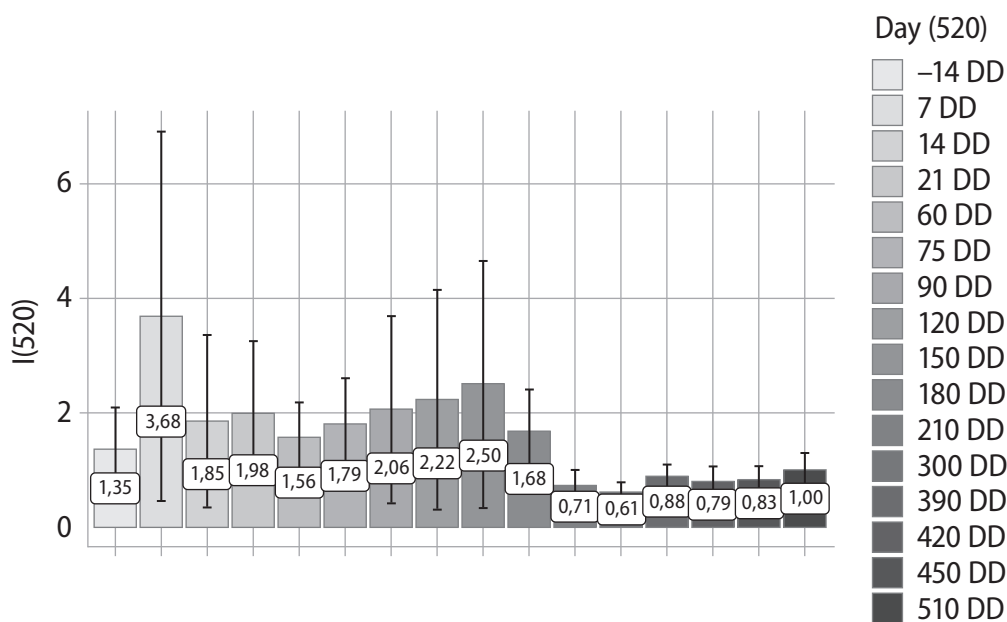
**Рисунок 5.**  
Зависимость  
эубиотического  
индекса «I (120-B)»  
от продолжитель-  
ности изоляции  
(n=3, p<0.05)



**Рисунок 6.**  
Зависимость  
эубиотического  
индекса «I(240)» от  
продолительно-  
сти изоляции



**Рисунок 7.**  
Зависимость  
эубиотического  
индекса «I(520)» от  
продолительно-  
сти изоляции (n=6,  
p<0.05)



Апостериорный анализ методом Тьюки показал, что индекс значительно падает на 120 сутки по сравнению с днем 14 ( $p < 0.05$ ). Также следует отметить аналогичное снижение в группе 120А, где максимальный и минимальный средний

показатель также на 14 и 120 сутки соответственно.

Снижение индекса до уровня меньше 1 свидетельствует о смещении равновесия в сторону условно-патогенной микрофлоры.

### Описание методов и результатов статистического анализа результатов эксперимента «Сириус 240»

Был проведен анализ показателя «I(240)» в зависимости от показателя «Day (240)».

При оценке показателя «I(240)» в зависимости от показателя «Day (240)», не были обнаружены статистически значимые различия ( $p = 0,055$ )

(используемый метод: Критерий Краскела–Уоллиса).

За этот период также отмечается максимальное значение на 14–30 сутки, после чего идет динамика снижения до минимума на 150 сутки.

### Описание методов и результатов статистического анализа результатов эксперимента «Марс 500»

Был проведен анализ показателя «I(520)» в зависимости от показателя «Day (520)».

Согласно полученным данным при анализе показателя «I(520)» в зависимости от показателя «Day (520)», были выявлены статистически значимые различия ( $p < 0,001$ ) (используемый метод: *Kruskal-Wallis*).

Апостериорный анализ методом *Dunn test with Bonferroni adjustment* не показал статистической разницы при попарном сравнении. Отмечается максимальное значение на 7 дней изоляции, в то время как минимум зафиксирован на 300 день.

## Обсуждение результатов

Проведенное исследование предоставляет ценные данные о динамике микробиоты кишечника в условиях изоляции, моделирующих космические полеты. Основные выводы работы, а также их теоретическая и практическая значимость требуют детального анализа.

Построенная модель изменения относительного эубиотического индекса ( $R_i$ ) в коротких экспериментах (до 15 суток изоляции) демонстрирует высокую точность ( $R^2=0,9986$ ). Наблюдаемый пик  $R_i$  на 8–11 сутки с последующим снижением к 15 дню может отражать адаптационные механизмы микробиоты к новым условиям. Первоначальное увеличение протективной микрофлоры может быть связано с переходом на стандартизированный рацион космонавтов, богатый питательными веществами, но бедный клетчаткой. Однако к концу двухнедельного периода ограниченное разнообразие пищи, стресс и гиподинамия, вероятно, запускают дисбиотические процессы. Расхождение модели с данными эксперимента «Сфинкс» на 8-й день (30% занижение  $R_i$ ) указывает на необходимость учета индивидуальных вариаций микробиома и внешних факторов, таких как психологический стресс, который не был количественно оценен в рамках исследования.

В экспериментах продолжительностью от 60 до 520 суток выявлена устойчивая тенденция к снижению эубиотического индекса, достигающая минимума на 150–300 сутки. Это согласуется с гипотезой о кумулятивном воздействии ограничений: монотонность рациона (консервированные и сублимированные продукты) приводит к дефициту пребиотиков, критических для поддержания протективных бактерий (например, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*). Снижение физической активности нарушает моторику кишечника, создавая условия для роста условно-патогенных таксонов (например, *Enterobacteriaceae*). Психологический стресс модулирует иммунный ответ и секрецию слизи, что косвенно влияет на состав микробиоты. Примечательно, что в группе «Сириус 120-В» применение аутопробиотиков замедлило снижение индекса, но не предотвратило его падение ниже 1 к 120 суткам. Это подчеркивает ограниченную эффективность пробиотиков в отсутствие коррекции других факторов (например, диеты). Данный вывод актуален для современных стратегий поддержки микробиома при длительных миссиях, где требуются комплексные подходы, включающие персонализированные пробиотики, пребиотические добавки и функциональное питание.

### Ограничения исследования и методологические аспекты

- Архивные данные: использование исторических материалов 60–80-х годов, полученных с помощью базовых микробиологических методов (посев на среды), ограничивает глубину анализа. Современные метагеномные подходы позволили бы идентифицировать таксоны на уровне штаммов и оценить функциональный потенциал микробиома.
- Малый размер выборки: в экспериментах «Сфинкс» и «Сириус» участвовали группы по 3–6 человек, что снижает статистическую мощность выводов.
- Отсутствие контроля за внешними факторами: влияние стресса, режима сна и коммуникации внутри изолированных групп не было количественно оценено, хотя эти параметры могут существенно модулировать микробиоту.

## Заключение

Результаты исследования имеют значение не только для космической медицины, но и для понимания последствий вынужденной изоляции, такой как карантин во время пандемии COVID-19. Урбанизация и домашняя изоляция усугубляют снижение разнообразия микробиома, что коррелирует с риском метаболических и иммунных нарушений.

### Участие авторов:

Ильин Вячеслав Константинович разработка идеи, написание статьи

Скедина Марина Анатольевна сбор данных

Усанова Нонна Альбертовна сбор данных

Морозова Юлия Алексеевна сбор данных

Старкова Любовь Валентиновна сбор данных

Виленский Игорь Леонидович сбор данных

Артамонов Антон Анатольевич анализ результатов исследований, систематизация данных, написание статьи

### Источники финансирования

Работа выполнена в рамках программы фундаментальных научных исследований РАН: FMFR-2024–0035, FMFR-2024–0042.

Для дальних космических миссий предлагается:

- Интеграция пребиотиков в рацион.
- Разработка персонализированных пробиотических коктейлей на основе предварительного анализа микробиома участников.
- Мониторинг психологического состояния и его коррекция для минимизации стресс-индуцированного дисбиоза.

### Authors contributions

Ilyin Vyacheslav Konstantinovich development of the idea, writing of the article

Skedina Marina Anatolyevna data collection

Usanova Nonna Albertovna data collection

Morozova Yulia Alekseevna data collection

Starkova Lyubov Valentinovna data collection

Vilensky Igor Leonidovich data collection

Artamonov Anton Anatolyevich analysis of research results, systematization of data, writing of the article

### Sources of funding

The work was carried out under Contract of Russian Federation Ministry for Science and high education FRFM-2024–0035, FMFR-2024–0042

## Литература | References

1. Ilyin V.K., Orlov O.I., Morozova Yu.A. et al. Prognostic model for bacterial drug resistance genes horizontal spread in space-crews. *Acta Astronaut.* 2022; 190: 388–394. doi: 10.1016/j.actaastro.2021.10.016.
2. Ilyin V., Orlov O., Skedina M. et al. Mathematical model of antibiotic resistance determinants' stability under space flight conditions. *Astrobiology.* 2023; 23(4): 407–414. doi: 10.1089/ast.2022.0076.
3. Zuo T., Wu Xi., Wen W. et al. Gut Microbiome alterations in COVID-19. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2021; 19(5): 679–688. doi: 10/1013/j.gpb.2021.09.004.
4. Yamamoto S., Saito M., Tamuro A. et al. The human microbiome and COVID-19: A systemic review. *PLoS One.* 2021; 16(6): e0253293 doi: 10.1371/journal.pone.0253293.
5. Segal J.P., Mak J.W.Y., Mullish B.H. et al. The gut microbiome: an under-recognised contributor to the COVID-19 pandemic. *Therap. Adv. Gastroenterol.* 2020; 13 doi: 10/1177/1756284820974914.
6. Baud D., Agry V.D., Gibson G.R. et al. Using probiotics to flatten the curve of coronavirus disease COVID-19 pandemic. *Front. Public Health.* 2020; 8 doi: 10.3389/fpubh.2020.00186.
7. Rampelli S., Turrone S., Mallol C. et al. Components of a Neanderthal gut microbiome recovered from fecal sediments from el salt. *Commun Biol.* 2021; 4(1):169 doi: 10/1038/s42003–021–01689-y.
8. Sonnenburg J.L., Sonnenburg E.D. Vulnerability of the industrialized microbiota. *Science.* (1979). 2019; 366(6464). doi: 10.1126/science.aaw9255.
9. Sistiaga A., Mallol C., Galván B., Summons R.E. The Neanderthal meal: a new perspective using faecal biomarkers. *PLoS One.* 2014 Jun 25;9(6): e101045. doi: 10.1371/journal.pone.0101045.
10. Sun Y., Zuo T., Cheung C.P. et al. Population-level configurations of gut mycobiome across 6 ethnicities in urban and rural China. *Gastroenterology.* 2021; 160(1): 272–286. e11. doi: 10.1053/j.gastro.2020.09.014.
11. Wei S., Bahl M., Baunwall S.M.D. et al. Determining gut microbial dysbiosis: a review of applied indexes for assessment of intestinal microbiota imbalances. *Appl Environ Microbiol.* 2021; 87 (11): e00395–21. doi: 10.1128/AEM.00395–21.
12. Gupta V.K., Kim M., Bukshi U. et al. A predictive index for health status using species-level gut microbiome profiling. *Nat Commun.* 2020; 11(1): 4635. doi: 10.1038/s41467–020–18476–8.
13. Chen L., Wang D., Garmaeva S. et al. The long-term genetic stability and individual specificity of the human gut microbiome. *Cell.* 2021; 184 (9):2302–2315.e12. doi: 10.1016/j.cell.2021.03.024.
14. Shiroma H., Darzi Y., Terajima E. et al. Enteropathway: the metabolic pathway database for the human gut microbiome. *Brief Bioinform.* 2024; 25(5): bbae419. doi: 10/1093/bib/bbae419.
15. Schmidt T.S.B., Raes J., Bork P. The human gut microbiome: from association to modulation. *Cell.* 2018; 172(6):1198–1215. doi: 10.1016/j.cell.2018.02.044.
16. Bogomolov V.V., Grigoriev A.I., Koslovskaya I.B. The Russian experience in medical care and health maintenance of the International space station crews. *Acta astronaut.* 2007; 60 (4–7): 237–246. doi: 10.1016/j.actaastro.2006.08.014.
17. Bäckhed F., Fraser C.M., Ringel Y. et al. Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions and clinical applications. *Cell Host Microbe.* 2012; 12(5): 611–622. doi: 10.1016/j.chom.2012.10.012.
18. Lane H.W., Schulz L.O. Nutritional questions relevant to space flight. *Annu Rev Nutr.* 1992; 12 (1): 257–278. doi: 10.1146/annurev.nu.12.070192/001353.
19. Schroeder G.S. Spaceflight nutritional support //Handbook of life support system for spacecraft and extraterrestrial habitat. Cham; Springer International Publishing. 2021. p.p.1–23.
20. Supolkina N., Yusupova A., Shved D. et al. External communication of autonomous crews under simulation of interplanetary missions. *Front Physiol.* 2021; 12: 751170. doi: 10.3359/fphys.2021.751170.