

АКТИВНОСТЬ КОАГУЛЯЦИОННОГО КАСКАДА И ФИБРИНОЛИЗА У КОСМОНАВТОВ ПОСЛЕ
ДЛИТЕЛЬНЫХ ПОЛЕТОВ

Научная статья

Кузичкин Д.С.¹, Воронцов А.Л.², Ничипорук И.А.³, Рукавишников И.В.⁴, Кочергин А.Ю.⁵, Журавлева О.А.⁶,
Маркин А.А.^{7,*}, Вострикова Л.В.⁸, Заболотская И.В.⁹, Тихонова Г.А.¹⁰, Степанова Г.П.¹¹

¹ ORCID : 0000-0003-2252-6380;

³ ORCID : 0000-0003-0118-3374;

⁴ ORCID : 0000-0003-1003-9219;

⁵ ORCID : 0000-0003-0993-6692;

⁶ ORCID : 0000-0002-3049-4983;

⁷ ORCID : 0000-0002-2402-6622;

¹¹ ORCID : 0000-0003-2594-3702;

^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11} Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (andre_markine[at]mail.ru)

Аннотация

Известно, что воздействие факторов космического полета влияет на смещение коагуляционного баланса, количество и функцию тромбоцитов, увеличивая риск кровоизлияний и способствуя замедлению заживления ран. Механизмы адаптации системы гемостаза организма космонавтов мало изучены. Целью данной работы явилось исследование уровня маркеров активации тромбоцитов, коагуляционного каскада и фибринолиза у членов космических экипажей после полета. В исследовании приняли участие 19 космонавтов мужского пола в возрасте 37–60 лет, совершивших орбитальные экспедиции продолжительностью от 115 до 205 суток. Венозную кровь брали в фоновом периоде за 30–45 дней до старта, а также на первые и седьмые сутки периода восстановления. Каждый из испытуемых участвовал только в одном цикле обследования. В ЭДТА-плазме космонавтов, совершивших длительные космические полеты, стандартными иммуноферментными методами определяли уровень β-тромбоглобулина (β-TG), фрагментов протромбина (F1+2), комплекса тромбин-антитромбин (ТАГ), комплекса тканевого активатора плазминогена и его ингибитора 1-го типа (tPA/PAI-1). Полученные данные обрабатывали с помощью критерия Уилкоксона. Обнаружено статистически значимое (p=0,0139) повышение плазменного уровня tPA/PAI-1 на первые сутки периода восстановления. Данное изменение является компенсаторно-приспособительной реакцией, направленной на предотвращение тромбообразования при активации коагуляционного каскада в ответ на повреждение сосудистого эндотелия, наблюдаемое на заключительных этапах полета. Статистически значимых изменений остальных исследованных параметров не выявлено. Наиболее вероятной причиной активации коагуляционного каскада и фибринолиза является повреждение сосудистого эндотелия, наблюдаемое на заключительных этапах полета. Не исключена роль психофизиологического напряжения и изменения реологических характеристик крови в развитии процесса. В контексте планируемых межпланетных пилотируемых полетов будут приобретать значение дополнительные факторы, способные оказывать влияние на систему гемостаза, такие как гипомагнитная среда, повышенный радиационный фон, сверхдлительное воздействие невесомости, что обуславливает необходимость дальнейшего развития методологии исследования системы гемостаза применительно к условиям межпланетного полета.

Ключевые слова: космическая медицина, космонавты, гемостаз, тромбоциты.

COAGULATION CASCADE AND FIBRINOLYSIS ACTIVITY IN COSMONAUTS AFTER LONG-TERM FLIGHTS

Research article

Kuzichkin D.S.¹, Vorontsov A.L.², Nichiporuk I.A.³, Rukavishnikov I.V.⁴, Kochergin A.Y.⁵, Zhuravleva O.A.⁶, Markin
A.A.^{7,*}, Vostrikova L.V.⁸, Zabolotskaya I.V.⁹, Tikhonova G.A.¹⁰, Stepanova G.P.¹¹

¹ ORCID : 0000-0003-2252-6380;

³ ORCID : 0000-0003-0118-3374;

⁴ ORCID : 0000-0003-1003-9219;

⁵ ORCID : 0000-0003-0993-6692;

⁶ ORCID : 0000-0002-3049-4983;

⁷ ORCID : 0000-0002-2402-6622;

¹¹ ORCID : 0000-0003-2594-3702;

^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11} Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

* Corresponding author (andre_markine[at]mail.ru)

Abstract

It is known that space flight factors affect the shift of the coagulation balance, the number and function of platelets, increasing the risk of hemorrhages and contributing to a slowdown in wound healing. The mechanisms of adaptation of the hemostasis system of the cosmonauts' body have been little studied. The purpose of this work was to study the platelet activation, coagulation cascade and fibrinolysis markers level in crew members after spaceflight. The study involved 19 male cosmonauts aged 37-60 years who completed orbital expeditions lasting from 115 to 205 days. Venous blood was taken in the background 30-45 days before the start, as well as on the first and seventh days of the recovery period. Each of the subjects

participated in only one examination cycle. The level of β -thromboglobulin (β -TG), prothrombin fragments (F1+2), thrombin-antithrombin complex (TAT), tissue plasminogen activator complex and its type 1 inhibitor (tPA/PAI-1) were determined using standard enzyme immunoassay methods in the EDTA plasma of cosmonauts who completed long-term space flights. The obtained data were processed using the Wilcoxon's criterion. A statistically significant ($p=0.0139$) increase in the plasma level of tPA/PAI-1 on the first day of the recovery period was found. This change is a compensatory and adaptive reaction aimed at preventing thrombosis during activation of the coagulation cascade in response to damage to the vascular endothelium observed during the final stages of flight. There were no statistically significant changes in the other studied parameters. The most likely cause of activation of the coagulation cascade and fibrinolysis is damage to the vascular endothelium observed during the final stages of flight. The role of psychophysiological stress and changes in the rheological characteristics of blood in the development of the observed process is not excluded. In the context of planned interplanetary manned flights, additional factors that can influence the hemostasis system will become important, such as the hypomagnetic environment, increased radiation background, and planetary activity, which necessitates further development of the methodology for studying the hemostasis system in relation to the conditions of interplanetary flight.

Keywords: space medicine, cosmonauts, hemostasis, platelets.

Введение

Несмотря на важную роль системы гемостаза в поддержании общего гомеостатического равновесия организма, ее функционирование при воздействии факторов космического полета (КП) изучено недостаточно. Данные по бортовым анализам крови полностью отсутствуют в связи с невозможностью работы наземной аналитической аппаратуры в условиях невесомости. В силу особенностей преаналитического этапа показателей гемостаза, наземное изучение биоматериала, взятого на борту, до настоящего времени не представляется возможным. Результаты послеполетных исследований малочисленны.

Известно, что микрогравитация влияет на количество и функцию тромбоцитов, увеличивая риск кровоизлияний и способствуя замедлению заживления ран [1, С. 1].

Результаты наземных модельных экспериментов с антиортостатической гипокинезией указывают на снижение активации тромбоцитов [2, С. 902], ингибирование миграции, задержку прогрессирования клеточного цикла с последующим замедлением роста и нарушением паттернов дифференцировки гемопоэтических клеток-предшественников тромбоцитов [3, С. 773], [4, С. 73]. Показано, что индуцированная агрегация тромбоцитов и их адгезия к фактору Виллебранда, значительно снижается в условиях искусственной микрогравитации [5, С. 902]. Однако после воздействия невесомости у астронавтов наблюдались не только геморрагические, но и тромботические явления: в ходе орбитальной экспедиции на МКС были обнаружены признаки обструктивного тромбоза левой внутренней яремной вены [6, С. 39], [7, С. 1].

Воздействие факторов космического полета может сопровождаться нарушением целостности кровеносных сосудов. Визуально это проявляется петехиальными кровоизлияниями и подкожными экхимозами различной локализации у многих космонавтов в послеполетном периоде. Вероятно, спуск с орбиты и реадаптация к наземным условиям сопровождаются повреждением, угнетением антикоагулянтных и активацией гемостатических свойств эндотелия, что подтверждается повышением плазменного уровня высокочувствительного С-реактивного белка, фактора Виллебранда и снижением плазменного уровня тромбомодулина [8, С. 1]. Активированное частичное тромбопластиновое время сокращается после полетов у космонавтов, независимо от наличия видимых подкожных кровоизлияний [9, С. 38].

В условиях моделируемой гипергравитации показано усиление индуцированной агрегации тромбоцитов, а также повышение их адгезии к фактору Виллебранда [5, С. 902]. У испытуемых после 15-минутного вращения на центрифуге с ускорением 3g обнаружено повышение реактивности тромбоцитов по индуцированной арахидоновой кислотой функции [10, С. 1]. Результаты другого исследования подтверждают, что гипергравитация приводит к гиперреактивности тромбоцитов человека, но не вызывает существенных событий их активации [11, С. 147].

Целью данной работы явилось исследование уровня маркеров активации тромбоцитов, коагуляционного каскада и фибринолиза у космонавтов до и после длительных полетов.

Опираясь на рекомендации по исследованию биомаркеров тромботических состояний при воздействии факторов космического полета [12, С. 1], нами были выбраны следующие показатели для изучения: маркер активации тромбоцитов – β -тромбоглобулин (β -TG), маркеры активации коагуляционного каскада и фибринообразования – тромбин-антитромбиновый комплекс (TAT) и фрагменты протромбина (F1+2), маркер активации фибринолиза – комплекс тканевого активатора плазминогена и его ингибитора 1-го типа

Методы и принципы исследования

В исследовании приняли участие 19 космонавтов мужского пола в возрасте 37–60 лет, совершивших полеты продолжительностью от 115 до 205 суток. Венозную кровь брали за 30–45 дней до старта (фон), а также на первые и седьмые сутки периода восстановления. Каждый из членов экипажей участвовал только в одном цикле обследования. Забор крови осуществляли в вакуумные пробирки «Vacuette» фирмы Greiner Bio-One, (Австрия) со стандартным содержанием K_3 -EDTA. Плазму получали центрифугированием при 1800g в течение 10 минут.

Исследование проводили стандартными иммуноферментными методами. Концентрацию tPA/PAI-1 и TAT определяли с использованием наборов компании Technoclone GmbH (Австрия) на планшетном ридере Bio-Rad (США). Концентрацию β -TG и F1+2 измеряли с помощью тест-наборов компании Cloud-Clone Corp. (США) на планшетном ридере Stat Fax – 2109, Awareness, США.

Данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью непараметрического метода парных сравнений зависимых выборок – критерия Уилкоксона, используя пакет прикладных программ Statistica for Windows v.6 (США). В соответствии с особенностями использованного непараметрического теста для зависимых выборок динамика результатов представлена в виде медиан и интерквартильных отрезков, а также среднего относительного изменения параметров.

Основные результаты

Результаты исследований представлены в Таблице 1.

Таблица 1 - Динамика параметров гемостаза у космонавтов после длительных космических полетов

Параметр	Фон	+1 сутки	+7 сутки
n	19	18	15
t-PA/PAI-1, нг/мл	18,2(11,4-24,5)	23,5(20,4-33,9)*	27,5(22,8-44,9)
TAT, нг/мл	5,76(4,62-12,5)	5,67(4,59-8,99)	5,2(2,89-8,38)
PF 1+2, пмоль/л	145(124-169)	142(117-165)	155(137-168)
βTG, нг/мл	23,4(8,13-58,2)	36,1(7,72-56,7)	31,7(17,8-59,5)

Примечание: Me (Q25-Q75); * - статистически значимое изменение относительно фона (по Уилкоксоу); $p < 0,05$

1. Активность тромбоцитов.

В ходе обследования не наблюдались статистически значимого повышения уровня β -TG, высвобождающегося из α -гранул тромбоцитов при их активации. Отсутствие значимой активации тромбоцитов согласуется с исследованием S. Li [11, С. 147] и могло также являться следствием снижения их активности под воздействием микрогравитации [1, С. 1], [2, С. 902] во время орбитального полета.

2. Активация коагуляционного каскада и фибринолиза.

На первые сутки послеполетного периода выявлено статистически значимое ($p=0,0139$) повышение уровня tPA/PAI-1 на 74,2% относительно фонового уровня. На седьмые сутки значение показателя оставалось повышенным на 66,4%, однако величина p была выше стандартного уровня значимости ($p=0,069$). Величины остальных исследованных показателей статистически значимо не менялись.

Динамика изменения данных показателей указывает на разделение наиболее активных фаз активации коагуляционного каскада и фибринолиза во времени. Пик прокоагулянтной активности приходится, по-видимому, на первые часы после приземления. Фибринолитический ответ развивается в течение первых дней после приземления в качестве компенсаторного механизма, направленного на предотвращение тромбообразования. Показано увеличение содержания Д-димера в плазме крови космонавтов на седьмые сутки периода восстановления после длительных (120-200 суток) полетов, что отражает активацию фибринообразования и фибринолиза за период от нескольких часов до нескольких суток после острого случая [8, С. 1].

Вероятной причиной активации коагуляционного каскада и фибринолиза является повреждение сосудистого эндотелия, наблюдаемое на заключительных этапах полета [9, С. 38].

Известно, что развитие психофизиологического напряжения является причиной активации гемокоагуляции и увеличения прокоагулянтного потенциала системы гемостаза [13, С. 52], [14, С. 902], [15, С. 1]. Возникающий нейроэндокринный ответ приводит к гемодинамическим сдвигам, гемоконцентрации и повышению вязкости крови [16, С. 662], что влияет на формирование фибринового сгустка и его стабилизацию [17, С. 1]. Показано, что содержание адреналина обычно выше предполетного уровня после приземления [18, С. 354]. При этом адреналин стимулирует сосудистые эндотелиальные β 2-адренорецепторы, приводя к высвобождению предварительно сформированных VIII фактора коагуляционного каскада, фактора Виллебранда и тканевого активатора плазминогена из эндотелиальных накопительных пулов в циркуляторное русло [14, С. 902], [19, С. 357], [20, С. 141].

Заключение

Таким образом, отсутствие значимых изменений маркеров активации коагуляционного каскада и фибринообразования (F1+2, TAT) на первые сутки после полета и значительное повышение уровня комплекса tPA/PAI-1 в этот же срок обследования указывает на активацию коагуляции на заключительных этапах полета и, вероятно, в ранние сроки (+0 сутки) после его завершения, а также на последующий фибринолитический ответ в течение первых нескольких суток периода восстановления. Наиболее вероятной причиной активации гемокоагуляции является повреждение сосудистого эндотелия на заключительных этапах полета.

Проблема исследования системы гемостаза при воздействии факторов космического полета со временем будет только повышать свою актуальность и значимость, так как полет в космос становится все более доступен лицам с парциальной недостаточностью здоровья, прошедшим сокращенный курс подготовки. Кроме того, в контексте планируемых межпланетных пилотируемых полетов будут приобретать значение другие факторы, такие как гипомагнитная среда, повышенный радиационный фон, сверхдлительное воздействие невесомости. Для этого потребуются дальнейшее развитие методов диагностики и коррекции сдвигов равновесия в системе регуляции агрегатного состояния крови.

Финансирование

По пункту 1 раздела «Результаты» статьи, исследования выполнены в рамках темы РАН FMFR-2024-0039. По пункту 2 финансирование осуществлялось Павловским центром «Интегративная физиология – медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости» при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-298 от 18.04.2022.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Funding

According to paragraph 1 of the “Results” section of the article, the research was carried out within the framework of the RAS FMFR-2024-0039 topic. Under item 2, the financing was provided by the Pavlovsky Center for Integrative Physiology – Medicine, High-Tech Healthcare and Stress Tolerance Technologies with the support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation under Agreement No. 075-15-2022-298 dated 04/18/2022.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Locatelli L. Platelets in Wound Healing: What Happens in Space? / L. Locatelli, A. Colciago, S. Castiglioni [et al.] // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. — 2021. — № 9. — P. ePub716184. — DOI: 10.3389/fbioe.2021.716184.
2. Venemans-Jellema A. No Effect of Isolated Long-Term Supine Immobilization or Profound Prolonged Hypoxia on Blood Coagulation / A. Venemans-Jellema, A.J.M. Schreijer, S. Le Cessie [et al.] // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2014. — Vol. 12. — P. 902–909. — DOI: 10.1111/jth.12564.
3. Plett P.A. Impact of Modeled Microgravity on Migration, Differentiation, and Cell Cycle Control of Primitive Human Hematopoietic Progenitor Cells / P.A. Plett, R. Abonour, S.M. Frankovitz [et al.] // *Experimental Hematology*. — 2004. — Vol. 32. — № 8. — P. 773–781. — DOI: 10.1016/j.exphem.2004.03.014.
4. Plett P.A. Proliferation of Human Hematopoietic Bone Marrow Cells in Simulated Microgravity / P.A. Plett, R. Abonour, S.M. Frankovitz [et al.] // *In vitro cellular & developmental biology. Animal*. — 2001. — Vol. 37. — № 2. — P. 73–78. — DOI: 10.1290/1071-2690(2001)037<0073:POHHBM>2.0.CO;2.
5. Dai K. Effects of microgravity and hypergravity on platelet functions / K. Dai, Y. Wang, R. Yan [et al.] // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. — 2009. — Vol. 101. — № 5. — P. 902–910.
6. Auñón-Chancellor S.M. Venous Thrombosis during Spaceflight / S.M. Auñón-Chancellor, J.M. Pattarini, S. Moll [et al.] // *The New England Journal of Medicine*. — 2020. — Vol. 382. — № 1. — P. 89–90. — DOI: 10.1056/NEJMc1905875.
7. Marshall-Goebel K. Assessment of Jugular Venous Blood Flow Stasis and Thrombosis During Spaceflight / K. Marshall-Goebel, S.S. Laurie, I.V. Alferova [et al.] // *JAMA Network Open*. — 2019. — Vol. 2. — № 11. — P. ePub1915011. — DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2019.15011.
8. Kuzichkin D.S. Endothelial dysfunction markers and immune response indices in cosmonauts' blood after long-duration space flights / D.S. Kuzichkin, I.A. Nichiporuk, O.A. Zhuravleva [et al.] // *NPJ Microgravity*. — 2022. — Vol. 8. — P. ePub46. — DOI: 10.1038/s41526-022-00237-0.
9. Kuzichkin D.S. Relationship between the pattern of subcutaneous hemorrhages and changes in cosmonauts' system of plasma hemostasis / D.S. Kuzichkin, A.A. Markin, O.A. Zhuravleva [et al.] // *Aerospace and environmental medicine*. — 2019. — Vol. 53. — № 6. — P. 38–41. — DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-6-38-41.
10. Limper U. Simulated Hypergravity Activates Hemostasis in Healthy Volunteers / U. Limper, T. Ahnert, V. Maegle [et al.] // *Journal of the American Heart Association*. — 2020. — Vol. 9. — № 24. — P. ePub016479. — DOI: 10.1161/JAHA.120.016479.
11. Li S. Hypergravity results in human platelet hyperactivity / S. Li, Q. Shi, Z. Wang [et al.] // *The Journal of Physiology and Biochemistry*. — 2009. — Vol. 65. — № 2. — P. 147–156. — DOI: 10.1007/BF03179065.
12. Harris K. Search for Venous Endothelial Biomarkers Heralding Venous Thromboembolism in Space: A Qualitative Systematic Review of Terrestrial Studies / K. Harris, J.M. Laws, A. Elias [et al.] // *Front Physiol*. — 2022. — № 13. — P. ePub885183. — DOI: 10.3389/fphys.2022.885183.
13. Von Känel R. Acute mental stress and hemostasis: When physiology becomes vascular harm / R. von Känel // *Thrombosis Research*. — 2015. — Vol. 135. — Suppl. 1. — P. 52–55. — DOI: 10.1016/S0049-3848(15)50444-1.
14. Austin A.W. Stress and hemostasis: an update / A.W. Austin, T. Wissmann, R. von Känel // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. — 2013. — Vol. 39. — № 8. — P. 902–912. — DOI: 10.1055/s-0033-1357487.
15. Arble E. Anticoagulants and the Hemostatic System: A Primer for Occupational Stress Researchers / E. Arble, B.B. Arnetz // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. — 2021. — № 18 (20). — P. 10626. — DOI: 10.3390/ijerph182010626.
16. Bentur O.S. Effects of Acute Stress on Thrombosis / O.S. Bentur, G. Sarig, B. Brenner [et al.] // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. — 2018. — Vol. 44. — № 7. — P. 662–668. — DOI: 10.1055/s-0038-1660853.
17. Lin J. Physical forces regulating hemostasis and thrombosis: Vessels, cells, and molecules in illustrated review / J. Lin, M.G. Sorrells, W.A. Lam [et al.] // *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*. — 2021. — № 5 (5). — P. e12548. — DOI: 10.1002/rth2.12548.
18. Leach C.S. Results of medical research in space flights / C.S. Leach // *Space biology and medicine joint U.S. / Ed. by A.E. Nicogossian, S.R. Mohler, O.G. Gzenko [et al.]*. — Washington: Amer. Inst. of Aeronautics and Astronautics; M.: Nauka press, 1997. — Vol. 3. — Book 2. — P. 354–367.

19. Von Känel R. Effects of sympathetic activation by adrenergic infusions on hemostasis in vivo / R. von Känel, J.E. Dimsdale // *European Journal of Haematology*. — 2000. — Vol. 65. — № 6. — P. 357–369. — DOI: 10.1034/j.1600-0609.2000.065006357.x.

20. Hao Z. Stimulated release of tissue plasminogen activator from artery wall sympathetic nerves: Implications for stress-associated wall damage / Z. Hao, X Jiang, R. Sharafeih [et al.] // *Stress*. — 2005. — Vol. 8. — № 2. — P. 141–149. — DOI: 10.1080/10253890500168098.