

ОБЗОРЫ

©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА НА БИОЛОГИЮ ТРОМБОЦИТОВ

М.И. Айрапетов^{1,2}, С.О. Ереско^{1,3}, Е.Р. Бычков¹, А.А. Лебедев¹, П.Д. Шабанов^{1,4}*

¹Институт экспериментальной медицины,
197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12; *эл. почта: erescko.sergei@yandex.ru

²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет,
194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

³Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14

⁴Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,
194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

В последние годы отмечается интерес к исследованию тромбоцитов, функции которых, как оказалось, не ограничиваются лишь их участием в механизме свертывания крови. Множество работ посвящено изучению функционального состояния тромбоцитов в условиях острого и хронического воздействия алкоголя. Результаты таких исследований могут быть полезными при разработке новых маркеров степени алкогольной интоксикации организма для последующего выбора способа медикаментозной коррекции нарушений, вызванных острым или хроническим действием алкоголя. В работе обобщены результаты исследований о влиянии этанола на биогенез, численность, морфологию и биохимию тромбоцитов. Представлен анализ исследований, выполненных как *in vitro*, так и *in vivo* на экспериментальных животных, а также результаты клинических наблюдений.

Ключевые слова: тромбоциты; этанол; алкоголизм; кровь; тромбоцитопоз; тромбоцитопения

DOI: 10.18097/PBMC20226802081

ВВЕДЕНИЕ

Поступление алкоголя в организм оказывает воздействие на различные системы органов [1-3]. Этанол всасывается в кровь в желудочно-кишечном тракте и вступает в дальнейшем во взаимодействие с системой крови [1, 2]. Однако исследований, уделяющих внимание влиянию этанола на клетки крови меньше, чем направленных на изучение его воздействия на клетки головного мозга или печени. Несмотря на хорошо известный факт, что клетки мозга и печени повреждаются в первую очередь от воздействия поступающего алкоголя в организм, необходимо уделять внимание изучению других органов и систем организма, подвергающихся воздействию алкоголя.

В 1950-х гг. отечественный исследователь Ю.Л. Шапиро одним из первых в мировой литературе сообщил об изменении численности, морфологии и функционировании тромбоцитов у пациентов с алкоголизмом [4]. В последующие годы число таких наблюдений возрастало. Цель нашей обзорной работы — систематизация сведений о влиянии этанола на биологию тромбоцитов, имеющихся к настоящему времени в мировой литературе. Мы обобщили сведения о воздействии алкоголя на биогенез, численность, морфологию и биохимические особенности тромбоцитов. Часто воздействие этанола не оказывает влияния на численность, но изменяет морфологию и биохимию тромбоцитов, что, безусловно, сказывается на их функционировании, которое приобретает патологические формы. Стоит заметить, что между человеком и модельными

организмами имеются существенные различия в численности тромбоцитов. Для удобства мы обобщили такие сведения и представили в работе (табл. 1).

Интерес к тромбоцитам в последнее время возрастает в разных сферах исследований и, вероятно, в ближайшие годы различные биохимические и морфологические характеристики тромбоцитов послужат диагностическими маркерами патологических состояний, в том числе при патологиях, связанных с воздействием алкоголя на организм. Классическое представление о том, что тромбоциты служат лишь носителями факторов, участвующих в свертывании крови, уже устарело, и сейчас стало известно много нового относительно вовлеченности тромбоцитов в различные процессы в организме [5-7].

Таблица 1. Уровень содержания тромбоцитов в крови у взрослых организмов

Организм	Уровень, 10 ⁹ /л	Ссылка
Человек	150-400	[20]
Приматы	200-350*	[21-22]
Собака	150-480*	[23-24]
Крыса	600-1100*	[25-28]
Мышь	600-1100*	[21, 29]

Примечание: * — диапазон содержания в группе интактных животных.

1. БИОЛОГИЯ ТРОМБОЦИТОВ

Тромбоциты — небольшие клетки крови (2-4 мкм в диаметре), которые образуются в ходе тромбоцитопоза из мегакариоцитов, главным образом в красном костном мозге. Развитие мегакариоцитов и в дальнейшем тромбоцитов преимущественно регулируется тромбопоэтином, который в первую очередь увеличивает пул стволовых клеток и ведёт к дифференцировке их в мегакариоцитарном направлении. У пациентов, рождающихся с отсутствием или с нарушенным функционированием тромбопоэтинового рецептора (TpoR), как правило, развивается тяжёлая форма тромбоцитопении — врождённая амегакариоцитарная тромбоцитопения [8, 9]. Другие цитокины (IL-3, IL-6, IL-11 и др.) могут вносить свой вклад в этот процесс, однако их вклад слабее. Например, при введении мышам IL-11 после лучевой терапии и химиотерапии ускоряется кроветворение и увеличивается количество тромбоцитов [10], а в клинической практике IL-11 был одобрен FDA (англ. Food and Drug Administration, Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, США) для лечения тромбоцитопении после лучевой терапии у людей [11].

Важным этапом тромбоцитопоза служит процесс взаимодействия мегакариоцитов с эндотелиальными клетками костного мозга [12]. В условиях воспаления наблюдается усиление взаимодействия между мегакариоцитами и клетками эндотелия, что оказывает влияние на процесс тромбоцитопоза [13]. Так, хемокин CXCL12 и фактор роста FGF4 способствуют миграции мегакариоцитов и их взаимодействию с эндотелиальными клетками костного мозга, запуская процесс высвобождения тромбоцитов в кровяное русло [14]. Это взаимодействие усиливается провоспалительным цитокином IL-1 β [15]. Запуск путей воспаления, которые повышают активность CXCR4 (рецептор для CXCL12), могут служить причиной увеличения скорости образования тромбоцитов [16]. Регулируется выход протромбоцитов в кровоток и последующее образование тромбоцитов. Повышенное содержание липидных метаболитов в крови и низкое их содержание в костном мозге служит одной из причин миграции протромбоцитов в кровоток. Коллаген типа I подавляет образование протромбоцитов (через гликопротеин VI и интегрин $\alpha 2\beta 1$), тогда как коллаген типа IV (COL4), а также фибриноген и фибронектин стимулируют этот процесс (рисунок) [17-18].

Тромбоциты циркулируют в крови у человека в течение 7-10 дней и в течение более короткого времени у мышей, после чего подвергаются элиминации в селезенке и печени [19]. Уровень содержания циркулирующих тромбоцитов в крови у взрослых организмов различается между человеком и экспериментальными животными (табл. 1).

В тромбоцитах выделяют три типа гранул: плотные гранулы, α -гранулы и лизосомы, различие между которыми заключается в химическом составе (табл. 2). Самую большую популяцию

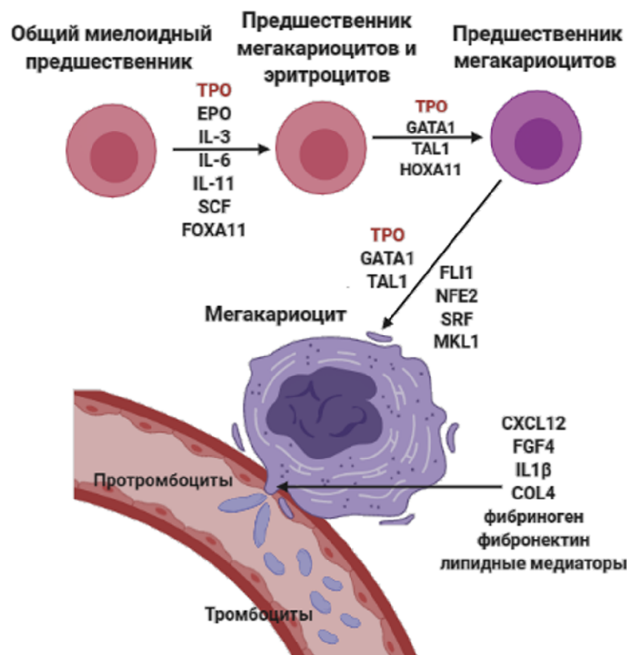


Рисунок. Тромбоцитопоз и его регуляция. TPO — тромбопоэтин, EPO — эритропоэтин, IL — интерлейкин, SCF — комплекс белков регуляции клеточного цикла “Skp1, Cull1, F-box”, FOXA1 — форкхед-бокс-белок A1, GATA1 — эритроидный фактор транскрипции, TAL1 — Т-клеточный белок 1 острого лимфоцитарного лейкоза, HOXA11 — Homeobox Hox-A11 белок, FLI1 — фактор транскрипции интеграции 1 дружественной лейкемии, NFE2 — фактор транскрипции NFE2, SRF2 — сывороточный фактор ответа 2, MKL1 — белок MKL1, CXCL12 — хемокин подсемейства CXC, FGF4 — фактор роста фибробластов 4, COL4 — коллаген IV типа.

составляют α -гранулы (50-80 гранул на тромбоцит). Содержимое α -гранул не является постоянным и изменения состава α -гранул могут быть связаны с различными патологическими состояниями [30-32].

Активация тромбоцитов приводит к агрегации и экзоцитозу содержимого гранул. Тромбоциты служат источником ферментов и субстратов, дополняющих возможности нейтрофилов и эндотелия при синтезе противовоспалительных липидных медиаторов [8, 32]. На поверхности тромбоцитов локализованы различные рецепторы, благодаря которым достигается взаимодействие с лейкоцитами и другими типами иммунных, а также не иммунных клеток. Например, сообщается, что тромбоциты вносят вклад в патогенез энцефаломиелита, поскольку Р-селектин, располагающийся на поверхности тромбоцитов, может взаимодействовать с сialiрированными гликофинголипидами, которые интегрированы в астроглиальные и нейрональные липидные рафты. Во время нейровоспаления тромбоциты распознают эти гликолипидные структуры, связываются с ними и накапливаются в паренхиме головного мозга, запуская дальнейшие каскады иммунного ответа [33]. Недавно обнаруженная способность тромбоцитов захватывать сплайс-варианты циркулирующих мРНК обеспечивают эти клетки высокодинамичным набором молекул мРНК, которые потенциально могут быть

Таблица 2. Содержимое гранул тромбоцитов [8-9, 30-32]

Плотные гранулы	α-гранулы	Лизосомы
<p>мембранные белки (αIIbβ3, GPIb, гранулофизин, LAMP-2)</p> <p>нуклеотиды (АТР, ГТФ, АДФ, ГДФ)</p> <p>серотонин</p> <p>гистамин</p> <p>белки-транспортёры (MRP4, VNUT, VMAT2)</p> <p>ионы (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, PO₄³⁻)</p>	<p>мембранные белки (αIIbβ3, GPIbα-IX-V, GPVI, TLT-1, Р-селектин, фиброцистин, CD109, SCAMP2)</p> <p>коагулянты, антикоагулянты и фибролитические белки</p> <p>белки адгезии (фибриноген, фактор фон Виллебранда и др.)</p> <p>хемокины (CXCL1, CXCL4, CXCL5, CXCL7, CXCL8, CXCL12, CCL2, CCL3, CCL5)</p> <p>ростовые факторы (фактор роста фибробластов, эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста β и др.)</p> <p>иммунные медиаторы (предшественники системы комплемента C3 и C4, факторы D и H, ингибитор C1, IgG)</p>	<p>протеазы</p>

применены в качестве диагностических критериев. РНК тромбоцитов можно достаточно легко выделить из пула клеток и проанализировать, а учитывая менее инвазивный и более доступный способ получения тромбоцитов, анализ транскриптома тромбоцитов может стать полезным для диагностики заболеваний [32].

В связи с появлением множества новых сведений относительно вовлечённости тромбоцитов в патологические состояния организма, представляется интересным обобщить данные о биологии тромбоцитов в условиях острого и хронического воздействия алкоголя.

2. ПОТРЕБЛЕНИЕ АЛКОГОЛЯ И ЧИСЛЕННОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ

2.1. Алкогольная тромбоцитопения

Алкогольная тромбоцитопения (АТ) — временное состояние организма, наблюдаемое в среднем у каждого четвёртого госпитализированного пациента с тяжёлыми формами хронической алкогольной интоксикации, которое проявляется снижением количества тромбоцитов ниже $150 \times 10^9/\text{л}$ крови [34, 35]. В конце 1950-х гг. отечественный исследователь Ю.Л. Шапиро отмечал, что при глубокой форме алкоголизма количество тромбоцитов было понижено [4]. Немного позже этот феномен вызвал интерес у широкого круга зарубежных исследователей [34, 36-39]. АТ является временным состоянием, и в условиях отмены алкоголя количество тромбоцитов стабилизируется спустя неделю [34, 37, 40]. Объясняется это тем, что около 1/3 всех тромбоцитов содержится в селезёнке, а повышение уровня норадреналина или активация симпатической нервной системы в период отмены алкоголя вызывает выброс тромбоцитов из селезенки в кровоток [41, 42]. Несмотря на непродолжительность этого состояния, снижение количества тромбоцитов менее $119 \times 10^9/\text{л}$ повышает риск возникновения различных серьёзных осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы [34].

На данный момент не выработано единое мнение по поводу того, что служит причиной развития АТ. Одной из предполагаемых причин является

повреждение печени [43, 44]. Ранее преобладало мнение, что у пациентов с повреждением печени основным механизмом служит повышение давления в воротной вене. Это ведёт к спленомегалии, которая может быть причиной ускоренной элиминации тромбоцитов в селезенке. Однако было показано, что восстановление физиологического портального давления не приводит к восстановлению числа тромбоцитов. В последнее время исследователи придерживаются мнения, что в случае повреждения печени продуцируется меньшее количество тромбопоэтина — ключевого медиатора тромбоцитопоэза [44]. Тромбопоэтин синтезируется в большом количестве в печени и оказывает своё действие через рецептор TpoR, который локализуется на поверхности предшественников тромбоцитов. Это вызывает активацию внутриклеточных каскадов реакций, изменяющих экспрессию ряда генов, вовлечённых в регуляцию процесса дифференцировки и созревания мегакариоцитов, протромбоцитов и тромбоцитов [45]. Ряд исследователей сообщают о развитии АТ у пациентов независимо от повреждения печени [35, 46, 47]. По всей видимости, патогенез АТ зависит от индивидуальных особенностей пациента (наследственность, образ жизни, наличие сопутствующих заболеваний и др.). Например, есть данные о влиянии генетических полиморфизмов алкогольдегидрогеназы-1В (ADH1B; rs1229984) и альдегиддегидрогеназы-2 (ALDH2; rs671) на количество тромбоцитов; в работе сообщается о вариантах генотипов, которые увеличивают риск развития тромбоцитопении [48].

2.2. Токсическое действие алкоголя на тромбоциты

Этанол или его метаболиты оказывают прямое токсическое действие на тромбоциты, циркулирующие в крови, что приводит к их повреждению и гибели. В 1968 г. экспериментально было показано, что после однократного введения 5%-го раствора этанола (внутривенно, 2 мл) у пациентов через 4-6 ч наблюдается снижение уровня тромбоцитов до 40% [46]. В другой работе острая алкогольная интоксикация у мышей приводит к снижению количества циркулирующих тромбоцитов через 2 ч после однократного внутривенного введения этанола (5%-ый р-р, 40-80 мкл),

что коррелировало с временем, за которое этанол в эквивалентной концентрации вызывал апоптоз тромбоцитов в исследованиях *in vitro*; этанол изменял в тромбоцитах соотношение ключевых регуляторов апоптогической гибели клетки Bax/Bcl-2 и каспазы-3, эти факты позволили предположить, что этанол способен запускать опосредованный митохондриями апоптоз тромбоцитов [49].

2.3. Повышение численности тромбоцитов

Наблюдения на пациентах показывают, что алкоголизм иногда может приводить к повышению численности тромбоцитов до уровня верхних пределов [4, 50]. Предполагается, что это является определённым адаптивным механизмом противодействия влиянию алкоголя, однако для уточнения частоты и причин этого наблюдения существует необходимость в проведении таких наблюдений. Недавно был обнаружен феномен, связанный с содержанием тромбоцитов у младенцев, родившихся от матерей, которые злоупотребляли алкоголем или наркотиками. У таких детей часто развивается тромбоцитоз (повышенное содержание тромбоцитов) на 2-3-х неделях жизни и сохраняется на протяжении 16 недель, однако причина этого явления не была определена [51].

2.4. Количество тромбоцитов при отмене алкоголя

Исследование динамики изменений количества тромбоцитов при отмене алкоголя показало, что количество тромбоцитов не является стабильным во время течения алкогольной абстиненции. Отмечается постепенный рост численности тромбоцитов от исходного уровня до конца отмены алкоголя. Это явление было описано как обратный тромбоцитоз. Часто у пациентов количество тромбоцитов становится ниже исходного уровня в начальном периоде отмены алкоголя (4-й день отмены), за которым следует постепенный рост до 10-го дня отмены. Кроме изменения числа клеток наблюдаются морфологические и функциональные изменения тромбоцитов. Тромбоциты характеризуются снижением реакции агрегации и секреции тромбоксана A_2 , которая возвращается к норме в течение 2-х недель отмены алкоголя; есть проблемы с нормализацией времени кровотечения в течение 2-х недель отмены алкоголя, отмечается повышение концентрации тромбоцитарного серотонина [52]. Предполагается, что тромбоцитопения в начале отмены алкоголя обусловлена гепатотоксическим действием алкоголя. Однако другие исследователи сообщают об отсутствии корреляции между ферментами печени и количеством тромбоцитов на начальной и конечной фазах отмены алкоголя [52].

2.5. Этанол и патоморфологические изменения в костном мозге

Ряд авторов указывает на целесообразность использования биопсии костного мозга в качестве одного из диагностических критериев степени алкогольной интоксикации организма [53].

Анализ биоптата костного мозга, полученного от пациентов с алкогольной зависимостью, показывает патоморфологические изменения; в частности, имеются признаки повышенной тромбоцитопоэтической активности с выраженной пролиферацией мегакариоцитов. По мнению авторов, повышенное количество мегакариоцитов в костном мозге является признаком активированного, но малоэффективного процесса тромбоцитопоэза. При этом ни у одного из пациентов, участвующих в исследовании, не было отклонений в численности тромбоцитов [53]. Нарушения механизмов тромбоцитопоэза были описаны и другими исследователями [36, 46, 54]. В ряде работ сообщается, что длительное употребление алкоголя может вызывать как тромбоцитопению, так и анемию и лейкопению [39]. Сообщается также, что изменения могут быть не в численности тромбоцитов, а в соотношении между тромбоцитами и лейкоцитами [55], что также может указывать на дисфункции в механизмах кроветворения. Длительное употребление этанола (2,5%, 4 недели) морскими свинками оказало влияние не только на количество тромбоцитов (которое снизилось на 16%), но также были отмечены патологические изменения в морфологии как тромбоцитов, так и мегакариоцитов [56]. Есть данные, что зрелые мегакариоциты чувствительны к этанолу, в то время как предшественники — нет [57].

Таким образом, длительное поступление этанола оказывает влияние на механизмы кроветворения, в том числе и на механизмы тромбоцитопоэза, однако это не всегда коррелирует у пациентов с численностью циркулирующих тромбоцитов крови, а учитывая сложную регуляцию тромбоцитопоэза, которая описана выше (см. раздел “Биология тромбоцитов”), влияние этанола на механизмы тромбоцитопоэза может быть весьма опосредованным. Например, это может достигаться посредством тромбопоэтина или системы цитокинов, содержание которых также подвергается изменениям в ходе поступления алкоголя в организм [58].

3. ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ТРОМБОЦИТОВ

Помимо описанных нами выше феноменов, связанных с изменением численности тромбоцитов, есть много данных о нарушениях в функционировании и биохимических параметров тромбоцитов как при хроническом влиянии алкоголя, так и в условиях острого воздействия. В этой части работы будут обобщены данные о влиянии этанола на функционирование и биохимию тромбоцитов. Полного понимания в этом направлении не достигнуто, однако текущих данных достаточно для их обобщения.

3.1. Последствия хронического воздействия алкоголя

В конце 1950-х гг. отечественный исследователь Ю.Л. Шапиро одним из первых в мировой литературе обратил внимание на изменения не только в численности, но и в морфологии и

функционировании тромбоцитов у пациентов с тяжёлыми формами алкоголизма [4]. Кроме того, было замечено, что пациенты, страдающие алкоголизмом (более 10 лет), при повторном употреблении этанола после непродолжительного периода абстиненции имеют повышенный показатель длительности кровотечений, что также может свидетельствовать в пользу развития патологий, в том числе, в функционировании тромбоцитов [59].

Первые выполненные эксперименты на тромбоцитах, полученных от пациентов, больных алкоголизмом, показали изменения в реакции агрегирования тромбоцитов и пониженный уровень адениновых нуклеотидов в них [59]. В работах с добавлением агрегирующих агентов (коллаген, ADP, адреналин и A23187) к тромбоцитам, полученных от хронически алкоголизированных крыс (содержание этанола в крови крыс составляло 80-120 мМ), было показано подавление реакции агрегации, при этом более короткие периоды приёма этанола (5-7 дней) приводили к подавлению реакции агрегации при добавлении коллагена, но не ADP. В обоих описанных случаях не было выявлено тромбоцитопении или морфологических изменений тромбоцитов [60, 61].

Предполагаемой авторами причиной нарушения агрегации тромбоцитов служит изменение состояния их мембран, что сказывается на чувствительности мембранных рецепторов к агрегирующим агентам. По другой версии, наблюдаемое снижение агрегации тромбоцитов при длительной алкоголизации может быть связано в первую очередь с изменениями внутриклеточных каскадов реакций. Замечено, что при длительном приёме этанола повышается уровень тромбоксана B_2 (TXB_2) и простагландина E_2 (PGE_2) [62].

Однако имеются данные, что в период отмены алкоголя пациенты с алкоголизмом, напротив, имеют повышенную склонность тромбоцитов к агрегации и этот феномен, по мнению исследователей, может объяснять ишемические инсульты или внезапную смерть, которые случаются в абстинентный период после длительного приёма алкоголя [63]. Кроме того, во время абстинентного синдрома, в течение двух недель отмены этанола, наблюдается значительное увеличение количества тромбоцитов, а у некоторых пациентов проявляется выраженный тромбоцитоз и значительное увеличение содержания TXB_2 . Эти наблюдения также рассматриваются как провоцирующие тромбоэмболические явления [64].

Было показано, что магний ингибирует агрегацию тромбоцитов в ответ на различные агрегирующие агенты, но у пациентов с дефицитом магния наблюдается повышенная склонность тромбоцитов к агрегации, которая нормализуется при терапии магнием. Антиагрегантный эффект может быть связан с тем, что магний ингибирует синтез TXB_2 и 12-гидроксиэкозатетраеновой кислоты, эйкозаноидов, которые, как считается, участвуют в агрегации тромбоцитов. Магний также ингибирует тромбин-индуцированный приток ионов кальция

в тромбоцитах и стимулирует синтез PGI_2 — мощного антиагрегационного эйкозаноида [65, 66].

Несколько исследователей отметили, что хроническая алкоголизация приводит к ингибированию в тромбоцитах фермента моноаминоксидазы — ключевого фермента метаболизма биогенных аминов, что может приводить к повышению уровня тромбоцитарных моноаминов — серотонина и дофамина [67, 68]. В другой работе сообщается, что длительная алкоголизация крыс (2 г/кг, 4 недели), влияющая на механизмы экзоцитоза в тромбоцитах, может повышать уровень свободного серотонина в плазме крови, тем самым усиливая действие этого амина в кровеносной системе [69]. В недавней работе было показано, что у пациентов с тяжёлыми формами алкогольной зависимости и отсутствием симптомов абстиненции был снижен уровень серотонина в тромбоцитах. Авторы считают, что концентрация серотонина в тромбоцитах может быть использована в качестве биохимического маркера степени алкогольной интоксикации организма [70]. Имеются сведения о пониженной активности аденилатциклазы в тромбоцитах, полученных от пациентов с алкоголизмом [71].

Исследований тромбоцитов в условиях длительной алкоголизации было выполнено не так много, что в настоящее время создаёт трудности для интерпретации имеющихся сведений, в этом направлении требуются дальнейшие наблюдения.

3.2. Последствия непродолжительного и острого воздействия этанола на тромбоциты

Острая алкоголизация мышей (40 мкл и 80 мкл, 5% этанол, внутривенно) удлиняет время кровотечения из хвоста и вызывает кровоизлияние в слизистую желудка [49]. Эти данные могут указывать на наличие нарушений в функционировании тромбоцитов под действием поступающего в организм алкоголя.

Результаты исследований, выполненных *in vitro*, показали, что 0,1-10 мМ этанол способен изменять функционирование тромбоцитов, изменяя реакцию агрегирования в ответ на индукторы агрегации; 10 мМ этанол снижает образование TXB_2 и способствует нарушению кальциевого гомеостаза [72], 20 мМ повышает активность аденилатциклазы (АЦ), увеличивая уровень сАМР [73, 74]. В другой работе преинкубация тромбоцитов с раствором этанола (27-109 мМ) приводила к повышению содержания сАМР в них. Авторы предположили, что нарушение наблюдаемых реакций агрегирования при воздействии этанола на тромбоциты может быть связано с повышенным уровнем сАМР [75]. Также показано, что этанол не оказывает влияния на базальный уровень сGMP, но подавляет при концентрациях ≥ 17 мМ вызванное нитропруссидом натрия накопление сGMP [76].

На тромбоцитах, полученных от здоровых пациентов, было оценено влияние этанола (25 и 50 мМ) *in vitro* на экспрессию поверхностных рецепторов [77]. Этанол вызывал дозозависимое

ингибирование экспрессии рецепторов GPIIb/IIIa, Р-селектина, CD63 и CD107a. По мнению авторов, снижение экспрессии CD107a может указывать на ингибирование механизмов высвобождения лизосомального содержимого; при этом этанол не оказывал влияния на экспрессию белков VTR, PECAM-1, CD151 в эксперименте [77]. Инкубация тромбоцитов в течение 24 ч в 0,0095% растворе этанола вызвала снижение экспрессии CD40L и Р-селектина [78].

Повышение концентрации кальция служит основным внутриклеточным сигналом, участвующим в активации тромбоцитов [79]. Это происходит в результате высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточного пула хранения, за которым следует приток внеклеточного Ca^{2+} через кальциевые каналы [80, 81]. Увеличение концентрации кальция в тромбоцитах запускает последующие события, такие как высвобождение содержимого гранул и агрегацию [82]. Наблюдаемые изменения в агрегации тромбоцитов и маркеров активации тромбоцитов могут быть связаны с нарушением механизмов кальциевого гомеостаза в клетке [83]. Существуют предположения, что снижение агрегации тромбоцитов может быть связано с нарушением поступления Ca^{2+} в клетку. Этанол в концентрациях выше 50 мМ увеличивает активность Ca^{2+} -АТФазы плазматической мембраны [84]. После добавления этанола (50 мМ) к тромбоцитам происходило замедление возврата концентрации Ca^{2+} к исходному уровню, при этом добавление этанола не оказало существенного эффекта на механизмы высвобождения депонированного Ca^{2+} в тромбоцитах. Это свидетельствует в пользу нарушения механизмов транспорта Ca^{2+} через цитоплазматические кальциевые каналы [84]. При высоких концентрациях этанола (выше 10%) отмечено снижение поступления кальция в тромбоциты, что может быть связано с ингибированием активности АТФазы, расположенной на цитоплазматической мембране, а также с повышением активности АТФазы саркоплазматического ретикулума [85]. В другом эксперименте влияние этанола на пути поступления Ca^{2+} в клетку и последующую агрегацию тромбоцитов оценивали в ответ на тапсигаргин, ОАГ (1-oleoyl-2-acetyl-sn-glycerol) и тромбин. Этанолом в концентрациях 0,5-2% дозозависимо ингибировали транспорт Ca^{2+} и последующую агрегацию тромбоцитов, однако было обнаружено, что активируются иные пути поступления Ca^{2+} в клетку [86].

Этанол в различных концентрациях оказывает разное влияние на внутриклеточную передачу сигналов от рецепторов PAR1 (англ. *Protease-activated receptor 1*) и PAR4 (англ. *Protease-activated receptor 4*) в тромбоцитах, что, по мнению авторов, может оказывать влияние на механизмы секреции гранул и агрегацию [82]. Этанол способен нарушать механизмы экзоцитоза содержимого гранул. Так, добавление этанола (25-150 мМ) к тромбоцитам, полученным от здоровых пациентов, привело к ингибированию секреции серотонина, вызванной тромбином [87]. Кроме того, этанол (20-100 мМ) снижает чувствительность тромбоцитов к фактору активации тромбоцитов [61].

Этанол (87 мМ) снижает вызванный тромбином уровень фосфорилирования кальций-чувствительной цитозольной фосфолипазы A_2 (англ. *cPLA₂, Ca²⁺-sensitive cytosolic phospholipase A₂*), ответственной за высвобождение арахидоновой кислоты из фосфолипидов мембран; это свидетельствует о способности этанола вносить изменения в сигнальные каскады реакций, запускаемые тромбином [88]. Высокая концентрация этанола (87 мМ) подавляет индуцированную тромбином секрецию плотных и альфа-гранул, а также содержимого лизосом [89].

Этанол в концентрациях от 7 мМ до 65 мМ не влиял на уровень синтеза TXB_2 и PGE_2 тромбоцитами крыс, выше 7 мМ — повышал TXB_1 , от 22 мМ до 44 мМ — повышал PGE_1 [90]. В другой работе отмечено, что при концентрации этанола выше 30 мМ наблюдалось снижение уровня TXB_2 , выше 15 мМ — снижение PGE_2 [62].

Исследование *in vivo* на здоровых пациентах показало увеличение уровня протеинкиназы С (РКС) в тромбоцитах через 60 мин после однократного приёма этанола (0,4 г/кг). Известно, что РКС активируется 1,2-диацилглицеролом, который образуется при гидролизе фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата посредством фосфолипазы С. Этанол вызывал быстрое, но небольшое повышение уровня инозитол-1,4,5-трисфосфата в тромбоцитах вследствие активации фосфолипазы С. Таким образом, этанол может вызывать активацию РКС путём активации фосфолипазы С и образования 1,2-диацилглицерола [91].

Кровь, полученная от 10 пациентов через 4 ч после однократного приёма этанола (1,5 г/кг), имела повышенную склонность к агрегации тромбоцитов на протяжении 8 ч после приёма этанола, также отмечалось повышение уровня TXB_2 . Предполагается, что такой эффект может быть вызван влиянием этанола на состояние фосфолипидов мембран [92]. В другом исследовании сообщается, что однократное употребление алкоголя здоровыми пациентами (содержание этанола в крови составило от 10 мМ до 44 мМ) не оказало значимого эффекта на содержание и агрегацию тромбоцитов [93].

Исследование на морских свинках показало, что ни острое, ни хроническое воздействие этанола на тромбоциты не влияло на синтез TXB_2 . В эксперименте только дозы этанола, несовместимые с жизнью, были способны ингибировать циклооксигеназные и липоксигеназные пути в тромбоцитах, ведущие к синтезу TXB_2 [94].

Ацетальдегид, образующийся в ходе окисления этанола, может конкурентно ингибировать метаболизм эндогенных альдегидов в тромбоцитах. Инкубация тромбоцитов в растворе этанола (20 мМ) не привела к ожидаемым результатам. Фермент альдегиддегидрогеназа в тромбоцитах не настолько активен, как, например, в других клетках крови. Авторы сделали вывод, что при низких уровнях ацетальдегида, которые обычно присутствует в крови при метаболизме этанола *in vivo*, маловероятно то, что будут нарушены механизмы метаболизма эндогенных альдегидов в тромбоцитах [95].

Исследование влияния ацетальдегида на тромбоциты показало, что ацетальдегид способен образовывать высокоустойчивые аддукты с мембранными гликопротеинами, цитоскелетом и ферментами, что может вносить свой вклад в функционирование тромбоцитов [96].

Имеются наблюдения, где активация тромбоцитов или их апоптоз приводит к образованию РМР (англ. platelet derived microparticles, образующиеся из тромбоцитов микрочастицы диаметром 0,1-1 мкм), которые способны активировать далее следующие тромбоциты. Отмечается, что этот процесс инициируется потреблением этанола, в ходе чего всё больше тромбоцитов становятся активными и формируется больше РМР [97], однако понятного объяснения наблюдаемому явлению ещё не имеется.

Подводя итоги для вышеописанных экспериментальных наблюдений по исследованию острого влияния этанола на тромбоциты *in vitro* (табл. 3), оставим ряд комментариев. Результаты исследований показывают, что этанол даже в очень низких концентрациях (от 0,1 мМ) уже способен изменять функционирование тромбоцитов, а при повышении концентрации этанола отмечается всё большее число затрагиваемых изменений в функционировании и биохимии тромбоцитов. По всей видимости, наблюдаемые изменения в уровнях липидных метаболитов, а также в снижении уровня мембранных белков подтверждают предположение о том, что на начальном этапе этанол оказывает влияние на состояние мембран, изменяя их физико-химические параметры, что может служить причиной снижения ряда мембранных белков, а также способствует секреции в окружение продуктов метаболизма мембранных фосфолипидов. Изменение состояние мембран нарушает функционирование мембранных ионных транспортеров, в том числе, для ионов кальция. Учитывая ключевую роль ионов кальция в биологии тромбоцитов, изменения в кальциевом гомеостазе могут послужить причиной развития дальнейших нарушений в функционировании тромбоцитов,

таких как, например, нарушение механизмов экзоцитоза содержимого гранул и изменение реакции агрегирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненный анализ исследований за несколько последних десятилетий позволил нам обобщить имеющиеся сведения о воздействии этанола на биогенез, численность, морфологию и функционирование тромбоцитов. Изначально был отмечен факт изменения численности тромбоцитов у ряда пациентов с алкоголизмом, что далее навело исследователей на более пристальное изучение биологии тромбоцитов в условиях воздействия этанола. Оказалось, что влияние этанола на тромбоциты крайне неоднозначно и, по всей видимости, зависит от длительности воздействия этанола и его концентрации в организме. Большая часть исследований выполнено *in vitro*, а исследований по влиянию разных доз этанола (острых и хронических) *in vivo* не так много. Кроме того, эксперименты выполняются на различных модельных объектах, что создаёт трудности для обобщения и интерпретации полученных данных.

Практическая значимость исследований в этом направлении заключается в том, что некоторые биохимические показатели тромбоцитов могут быть использованы для диагностики степени алкогольной интоксикации организма. Так, например, концентрация серотонина в тромбоцитах может быть использована в качестве биохимического маркера степени алкогольной интоксикации. При алкоголизме у пациентов было обнаружено снижение активности фермента ГАМК-трансаминазы (фермент, разрушающий нейромедиатор ГАМК) в тромбоцитах примерно на 25% по сравнению со здоровыми пациентами [98], однако то, в какой момент длительного употребления этанола это становится патологическим состоянием, ещё требуется выяснить. Предполагается, что ГАМК-трансаминаза тромбоцитов может отражать относительную активность этого

Таблица 3. Последствия непродолжительного воздействия этанола на тромбоциты

Концентрация этанола	Наблюдаемый эффект	Ссылка
0,1-10 мМ	снижение реакции агрегирования	[72]
0,2 мМ	снижение экспрессии CD40L и P-селектина	[78]
7-44 мМ	повышение уровня TXB ₁	[90]
10-30 мМ	снижение уровня TXB ₂	[62, 72]
10-40 мМ	дозозависимое ингибирование тока ионов Ca ²⁺ и последующая агрегация	[86]
10-50 мМ	нарушение кальциевого гомеостаза	[72, 84, 85]
15 мМ	снижение PGE ₂	[90]
20-110 мМ	повышение уровня cAMP	[73-75]
17 мМ	снижение индуцированного накопления cGMP, не изменяется базальный уровень cGMP	[76]
20-100 мМ	снижение чувствительности тромбоцитов к фактору активации тромбоцитов	[61]
22-44 мМ	повышение синтеза PGE ₁	[90]
25-50 мМ	снижение GPIIb/IIIa, P-селектина, CD63 и CD107a	[77]
25-150 мМ	ингибирование вызванной тромбином секреции серотонина	[87]
87 мМ	подавление индуцированной тромбином секреции содержимого гранул и снижение уровня фосфорилирования кальций-чувствительной цитозольной фосфолипазы A ₂	[88, 89]

фермента в мозге, и этот показатель в тромбоцитах может послужить маркером его активности [98, 99]. Сходные мнения существуют и в отношении уровня тромбоцитарного серотонина. Стоит обратить внимание на работу, выполненную на макаках-резус с низкой активностью в тромбоцитах моноаминоксидазы В (фермент, разрушающий моноамины, в том числе, серотонин). Такие обезьяны имели низкие уровни 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ННН) в спинномозговой жидкости и проявляли чрезмерную агрессию после приёма алкоголя. При этом животные с низкой активностью моноаминоксидазы В в тромбоцитах были подвержены меньшей интоксикации после приёма алкоголя, а также добровольно употребляли больше алкоголя [100]. Предполагается, что измерение активности моноаминоксидазы в тромбоцитах, а также уровня активности аденилатциклаз (например, по уровню cAMP) в тромбоцитах и лимфоцитах могут позволить быстро исследовать относительно большие группы субъектов с высоким риском стать алкоголиками. Недавно открытая способность тромбоцитов захватывать и запасать сплайсированные циркулирующие мРНК обеспечивает эти клетки высокодинамичным набором молекул мРНК, которые потенциально могут быть применены в качестве диагностических критериев.

Пациентам с диагнозом алкоголизм следует проводить тщательный мониторинг тромбоцитов — их количество, время кровотечения, тромбиновое время, протромбиновое время и частичное тромбопластиновое время. Особое внимание следует уделять желудочно-кишечным кровотечениям. И эти параметры следует соотносить с биохимическими особенностями тромбоцитов. Существует необходимость в дополнительных наблюдениях за биохимическими особенностями тромбоцитов в условиях установленных патологических нарушений, вызванных длительной алкогольной интоксикацией, так как, возможно, биохимические показатели тромбоцитов могут послужить маркерами и иных патологических состояний в организме.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено за счёт средств Института экспериментальной медицины (ИЭМ) в рамках государственного задания по теме “Фармакологический анализ действия нейротропных средств, изучение внутриклеточных мишеней и создание систем направленной доставки”, шифр 0557-2019-0004.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kissin B., Begleiter H. (eds.) (1974) The Biology of Alcoholism Volume 3: Clinical Pathology, Plenum Press, New York, 673 p.
2. Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. (1998) Биология алкоголизма, Лань, СПб 272 с. [Shabanov P.D., Kalishevich S.Y. (1998) Biology of alcoholism. Lan', SPb, 272 p.]
3. Preedy V.R. (ed.) (2019) Neuroscience of Alcohol. Mechanisms and Treatment, Academic Press, London, 707 p.
4. Шапиро Ю.Л. (1959) Некоторые предварительные данные по изучению костного мозга и периферической крови у больных хроническим алкоголизмом. Алкоголизм: сборник работ по клинике, патогенезу, лечению и профилактике, Изд-во Института психиатрии АМН СССР, Москва, с. 258-263. [Shapiro Y.L. (1959) Some preliminary data on the study of bone marrow and peripheral blood in patients with chronic alcoholism. Alcoholism: Collection of works on the clinic, pathogenesis, treatment and prevention, Institute of Psychiatry of the Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow, pp. 258-263.]
5. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. (2018) Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 1. Основные характеристики тромбоцитов как воспалительных клеток. Медицинская иммунология, **20**(6), 785-796. [Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Yakutseny P.P. (2018) Platelets as activators and regulators of inflammatory and immune responses. Part 1. Main characteristics of platelets as inflammatory cells. Medical Immunology, **20**(6), 785-796.] DOI: 10.15789/1563-0625-2018-6-785-796
6. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. (2019) Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 2. Тромбоциты как участники иммунных реакций. Медицинская иммунология, **21**(1), 9-20. [Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Yakutseny P.P. (2019) Platelets as activators and regulators of inflammatory and immune responses. Part 2. Platelets as participants in immune responses. Medical Immunology, **21**(1), 9-20.] DOI: 10.15789/1563-0625-2019-1-9-20
7. Шпакова В.С., Гамбарян С.П. (2020) Роль тромбоцитов в онкологических заболеваниях. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, **106**(10), 1209-1237. [Shpakova V.S., Gambaryan S.P. (2020) The role of platelets in cancer. Sechenov Russian Physiological J., **106**(10), 1209-1237.] DOI: 10.31857/S0869813920100106
8. Schulze H., Italiano J. (2016) Molecular and Cellular Biology of Platelet Formation., Springer International Publishing Switzerland, Switzerland, Cham, 460 p.
9. Moreau T., Evans A.L., Vasquez L. et al. (2016) Large-scale production of megakaryocytes from human pluripotent stem cells by chemically defined forward programming. Nat. Commun., **7**, 1-16. DOI: 10.1038/ncomms11208
10. Wilde M.I., Faulds D. (1998) Oprelvekin: a review of its pharmacology and therapeutic potential in chemotherapy-induced thrombocytopenia. BioDrugs, **10**, 159-171. DOI: 10.2165/00063030-199810020-00006
11. Huising M.O., Kruiswijk C.P., van Schijndel J.E., Savelkoul H.F., Flik G., Verburg-van Kemenade B.M. (2005) Multiple and highly divergent IL-11 genes

- in teleost fish. Immunogenetics, **57**(6), 432-443. DOI: 10.1007/s00251-005-0012-2
12. Clancy L., Beaulieu L.M., Tanriverdi K., Freedman J.E. (2017) The role of RNA uptake in platelet heterogeneity. Thromb. Haemost., **117**(5), 948-961. DOI: 10.1160/TH16-11-0873
13. Solari F.A., Matheij N.J.A., Burkhart J.M. et al. (2016) Combined quantification of the global proteome, phosphoproteome and protein cleavage to characterize altered platelet functions in the human Scott syndrome. Mol. Cell. Proteomics, **15**(10), 3154-3169. DOI: 10.1074/mcp.M116.060368
14. Baaten C.C.F.M.J., Ten C.H., Meijden P.E.J., Heemskerk J.W.M. (2017) Platelet populations and priming in hematological diseases. Blood Rev., **31**(6), 389-399. DOI: 10.1016/j.blre.2017.07.004
15. Meijden P.E.J., Heemskerk J.W.M. (2018) Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. Nature Reviews Cardiology, **16**(3), 166-179. DOI: 10.1038/s41569-018-0110-0
16. Zeiler M., Moser M., Mann M. (2014) Copy number analysis of the murine platelet proteome spanning the complete abundance range. Mol. Cell. Proteom., **13**(12), 3435-3445. DOI: 10.1074/mcp.M114.038513
17. Shi D.S., Smith M.C.P., Campbell R.A. et al. (2014) Proteasome function is required for platelet production. J. Clin. Invest., **124**(9), 3757-3766. DOI: 10.1172/JCI75247
18. Semeniak D., Kulawig R., Stegner D. et al. (2016) Proplatelet formation is selectively inhibited by collagen type I through Syk-independent GPVI signaling. J. Cell Sci., **129**(18), 3473-3484. DOI: 10.1242/jcs.187971
19. Quach M.E., Chen W., Li R. (2018) Mechanisms of platelet clearance and translation to improve platelet storage. Blood, **131**(14), 1512-1521. DOI: 10.1182/blood-2017-08-743229
20. Girish S., Komal H., Ghanshyam P. et al. (2021) Platelet augmentation potential of polyherbal formulation in cyclophosphamide-induced thrombocytopenia in Wistar rat. Folia Med (Plovdiv), **63**(1), 67-73. DOI: 10.3897/folmed.63.e49167
21. Rudmann D.G., Page T.J., Vahle J.L. et al. (2011) Rat-specific decreases in platelet count caused by a humanized monoclonal antibody against sclerostin. Toxicol. Sci., **125**(2), 586-594. DOI: 10.1093/toxsci/kfr318
22. Okamoto M., Miyazawa T., Morikawa S. et al. (2015) Emergence of infectious malignant thrombocytopenia in Japanese macaques (*Macaca fuscata*) by SRV-4 after transmission to a novel host. Sci. Rep., **5**(1), 8850. DOI: 10.1038/srep08850
23. Goggs R., Boag A.K., Chan D.L. (2008) Concurrent immune-mediated haemolytic anaemia and severe thrombocytopenia in 21 dogs. Veterinary Record, **163**(11), 323-327. DOI: 10.1136/vr.163.11.323
24. Koenhems L. (2019) Determination of platelet count and platelet indices in Canine Parvoviral Enteritis. Medical Science Discovery, **6**(2), 24-26. DOI: 10.17546/msd.522081
25. Yang C., Chun L.Y., Kuter D.J. (1999) The physiological response of thrombopoietin (c-Mpl ligand) to thrombocytopenia in the rat. Br. J. Haematol., **105**(2), 478-485. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1999.01359.x
26. Teixeira M.A., Chaguri L.C.A.G., Carissimi A.S. et al. (2000) Hematological and biochemical profiles of rats (*Rattus norvegicus*) kept under microenvironmental ventilation system. Brazilian J. Veterinary Research Animal Science, **37**(5), 341-347.
27. Yamashita K.M., Nogueira T.O., Senise L.V. et al. (2011) Involvement of circulating platelets on the hyperalgesic response evoked by carrageenan and *Bothrops jararaca* snake venom. J. Thromb. Haemost., **9**(10), 2057-2066. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04449.x
28. Kobuchi S., Ito Y., Hayakawa T. et al. (2014) Semi-physiological pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) modeling and simulation of 5-fluorouracil for thrombocytopenia in rats. Xenobiotica, **45**(1), 19-28. DOI: 10.3109/00498254.2014.943335
29. Crow A.R., Song S., Semple J.W. et al. (2001) IVIg inhibits reticuloendothelial system function and ameliorates murine passive-immune thrombocytopenia independent of anti-idiotypic reactivity. Br. J. Haematol., **115**(3), 679-686. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2001.03136.x
30. Ross R., Bowen-Pope D.F., Raines E.W. (1985) Platelets, macrophages, endothelium, and growth factors. Their effects upon cells and their possible roles in atherogenesis. Ann. NY Acad. Sci., **454**, 254-260. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1985.tb11865.x
31. Hawrylowicz C.M., Howells G.L., Feldmann M. (1991) Platelet-derived interleukin 1 induces human endothelial adhesion molecule expression and cytokine production. J. Exp. Med., **174**(4), 785-790. DOI: 10.1084/jem.174.4.785
32. Ramadori P., Klag T., Malek N.P., Heikenwalder M. (2019) Platelets in chronic liver disease, from bench to bedside. JHEP Reports, **1**(6), 448-459. DOI: 10.1016/j.jhepr.2019.10.001
33. Orian J.M., D'Souza C.S., Kocovski P. et al. (2021) Platelets in multiple sclerosis: early and central mediators of inflammation and neurodegeneration and attractive targets for molecular imaging and site-directed therapy. Front. Immunol., **12**, 620963. DOI: 10.3389/fimmu.2021.620963
34. Silczuk A., Habrat B. (2020) Alcohol induced thrombocytopenia. Current review. Alcohol, **86**, 9-16. DOI: 10.1016/j.alcohol.2020.02.166
35. Cowan D.H. (1971) Thrombocytopenia of severe alcoholism. Ann. Intern. Med., **74**(1), 37. DOI: 10.7326/0003-4819-74-1-37
36. Sullivan L.W., Herbert V. (1964) Suppression hematopoiesis by ethanol. J. Clin. Invest., **43**, 2048-2062. DOI: 10.1172/jci105079
37. Lindenbaum J., Hargrove R.L. (1968) Thrombocytopenia in alcoholics. Ann. Intern. Med., **68**, 526-532. DOI: 10.7326/0003-4819-68-3-526
38. Paraf A., Coste T., Gouffier E. (1971) Disorders of hematopoiesis in acute alcoholism. Presse. Med., **79**(49), 2219-2220.
39. Eichner E.R. (1973) The hematologic disorders of alcoholism. Am. J. Med., **54**, 621-630. DOI: 10.1016/0002-9343(73)90120-4
40. Peltz S. (1991) Severe thrombocytopenia secondary to alcohol use. Postgraduate Medicine, **89**(6), 75-85. DOI: 10.1080/00325481.1991.1170091
41. Bakovic D., Pivac N., Eterovic D. et al. (2013) The effects of low-dose epinephrine infusion on spleen size, central and hepatic circulation and circulating platelets. Clin. Physiol. Funct. Imaging, **33**(1), 30-37. DOI: 10.1111/j.1475-097X.2012.01156.x
42. Chen S., Du C., Shen M. et al. (2016) Sympathetic stimulation facilitates thrombopoiesis by promoting megakaryocyte adhesion, migration, and proplatelet formation. Blood, **127**(8), 1024-1035. DOI: 10.1182/blood-2015-07-660746
43. Mitchell O., Feldman D.M., Diakow M., Sigal S.H. (2016) The pathophysiology of thrombocytopenia

- in chronic liver disease. *Hepatic Medicine: Evidence and Research*, **8**, 39-50. DOI: 10.2147/hmer.S74612
44. *Peck-Radosavljevic M.* (2016) Thrombocytopenia in chronic liver disease. *Liver International*, **37**(6), 778-793. DOI: 10.1111/liv.13317
45. *Leon C., Dupuis A., Gachet C., Lanza F.* (2016) The contribution of mouse models to the understanding of constitutional thrombocytopenia. *Haematologica*, **101**(8), 896-908. DOI: 10.3324/haematol.2015.139394
46. *Post R.M., Desforjes J.F.* (1968) Thrombocytopenia and alcoholism. *Ann. Intern. Med.*, **68**, 1230-1236. DOI: 10.7326/0003-4819-68-6-1230
47. *Lindenbaum J., Lieber C.S.* (1969) Hematologic effects of alcohol in man in the absence of nutritional deficiency. *N. Engl. J. Med.*, **281**(7), 333-338. DOI: 10.1056/NEJM196908142810701
48. *Yokoyama A., Yokoyama T., Mizukami T., Matsui T., Kimura M., Matsushita S., Maruyama K.* (2016) Platelet counts and genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase-1B and aldehyde dehydrogenase-2 in Japanese alcoholic men. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **41**(1), 171-178. DOI: 10.1111/acer.13283
49. *Liu L., Chen M., Zhao L. et al.* (2017) Ethanol induces platelet apoptosis. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **41**(2), 291-298. DOI: 10.1111/acer.13295
50. *Maturu P., Reddy V.D., Padmavathi P., Varadacharyulu N.* (2012) Ethanol induced adaptive changes in blood for the pathological and toxicological effects of chronic ethanol consumption in humans. *Exper. Toxicol. Pathol.*, **64**(7-8), 697-703. DOI: 10.1016/j.etp.2011.01.002
51. *Vo Q.T., Thompson D.F.* (2019) A review and assessment of drug-induced thrombocytosis. *Ann. Pharmacother.*, **53**(5), 523-536. DOI: 10.1177/1060028018819450
52. *Harshe D.G., Thadasare H., Karia S.B.* (2017) A study of patterns of platelet counts in alcohol withdrawal. *Indian J. Psychol. Med.*, **39**(4), 441-444. DOI: 10.4103/0253-7176.211766
53. *Michot F., Gut J.* (1987) Alcohol-induced bone marrow damage. *Acta Haematologica*, **78**(4), 252-257. DOI: 10.1159/000205888
54. *Latvala J., Parkkila S., Niemela O.* (2004) Excess alcohol consumption is common in patients with cytopenia: Studies in blood and bone marrow cells. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **28**(4), 619-624. DOI: 10.1097/01.alc.0000122766.54544.3b
55. *Orum M.H., Kara M.Z.* (2019) Platelet to lymphocyte ratio (PLR) in alcohol use disorder. *J. Immunoassay Immunochem.*, **41**(2), 184-194. DOI: 10.1080/15321819.2019.1705853
56. *Smith C.M., Tobin J.D., Burris S.M., White J.G.* (1992) Alcohol consumption in the Guinea pig is associated with reduced megakaryocyte deformability and platelet size. *J. Lab. Clin. Med.*, **120**, 699-706.
57. *Tisman G., Herbert V.* (1973) *In vitro* myelosuppression and immunosuppression by ethanol. *J. Clin. Invest.*, **52**(6), 1410-1414. DOI: 10.1172/JCI107314
58. *Airapetov M., Eresko S., Lebedev A., Bychkov E., Shabanov P.* (2021) The role of Toll-like receptors in neurobiology of alcoholism. *Biosci. Trends*, **15**(2), 74-82. DOI: 10.5582/bst.2021.01041
59. *Haut M.J., Cowan D.H.* (1974) The effect of ethanol on hemostatic properties of human blood platelets. *Am. J. Med.*, **56**(1), 22-33. DOI: 10.1016/0002-9343(74)90747-5
60. *Littleton J.M., Fenn C.G., Umney N.D., Yazdanbakhsh M.* (1982) Effects of ethanol administration on platelet function in the rat. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **6**(4), 512-519. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1982.tb05015.x
61. *Baker R.C., Fish H.T., Fitzpatrick F.A.* (1989) Effects of ethanol on human platelets stimulated with platelet-activating factor, a biologically active ether phospholipid. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **13**(6), 824-828. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1989.tb00430.x
62. *Hwang D.H., LeBlanc P., Chanmugan P.* (1981) *In vitro* and *in vivo* effects of ethanol on the formation of endoperoxide metabolites in rat platelets. *Lipids*, **16**(8), 583-588. DOI: 10.1007/bf02534903
63. *Renaud S.C., Ruf J.C.* (1996) Effects of alcohol on platelet functions. *Clinica Chimica Acta*, **246**(1-2), 77-89. DOI: 10.1016/0009-8981(96)06228-6
64. *Hillbom M.* (1985) Platelet thromboxane formation and bleeding time is influenced by ethanol withdrawal but not by cigarette smoking. *Thromb. Haemost.*, **53**(3), 419-422. PMID: 4049313
65. *Abbott L., Nadler J., Rude R.K.* (1994) Magnesium deficiency in alcoholism: possible contribution to osteoporosis and cardiovascular disease in alcoholics. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **18**(5), 1076-1082. DOI: 10.1111/j.1530-0277.1994.tb00084.x
66. *Ge P.X., Jiang L.P., Tai T., Zhu T., Ji J.Z., Li Y.F., Xie H.G.* (2021) Short-term standard alcohol consumption enhances platelet response to clopidogrel through inhibition of Nrf2/Ces1 pathway and induction of Cyp2c in mice. *Life Sci.*, **279**, 119268. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.119268
67. *Lex B.W., Ellingboe J., LaRosa K., Teoh S.K., Mendelson J.H.* (1993) Platelet adenylate cyclase and monoamine oxidase in women with alcoholism or a family history of alcoholism. *Harvard Rev. Psychiatry*, **1**(4), 229-237. DOI: 10.3109/10673229309017083
68. *Tabakoff B., Hoffman P.L., Lee J.M. et al.* (1988) Differences in platelet enzyme activity between alcoholics and nonalcoholics. *N. Engl. J. Med.*, **318**(3), 134-139. DOI: 10.1056/NEJM198801213180302
69. *Chabielska E., Pietraszek M., Malinowska B., Buczek W.* (1988) The effect of ethanol on some serotonergic mechanisms in rat blood platelets. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, **40**(3), 241-249.
70. *Nedic Erjavec G., Bektic Hodzic J., Repovecki S., Nikolac Perkovic M., Uzun S., Kozumplik O., Tudor L., Mimica N., Svob Strac D., Pivac N.* (2021) Alcohol-related phenotypes and platelet serotonin concentration. *Alcohol*, **97**, 41-49. DOI: 10.1016/j.alcohol.2021.09.001
71. *Pattiselanno S., Gunning W., Schoffelemeier A.* (1994) Adenylate cyclase, a biochemical marker of alcoholism? *Acta Paediatrica*, **83**(404), 1-3. DOI: 10.1111/j.1651-2227.1994.tb13374.x
72. *Miceli M., Alberti L., Bennardini F. et al.* (2003) Effect of low doses of ethanol on platelet function in long-life abstainers and moderate-wine drinkers. *Life Sci.*, **73**(12), 1557-1566. DOI: 10.1016/s0024-3205(03)00473-9
73. *Atkinson J.P., Sullivan T.J., Kelley J.P., Parker C.W.* (1977) Stimulation by alcohols of cyclic AMP metabolism in human leukocytes. *J. Clin. Invest.*, **60**(2), 284-294. DOI: 10.1172/JCI108776
74. *Hoffman P.L., Tabakoff B.* (1990) Ethanol and guanine nucleotide binding proteins: a selective interaction. *FASEB J.*, **4**(9), 2612-2622. DOI: 10.1096/fasebj.4.9.2161371
75. *Hwang D.H., Chanmugam P., Hymel G., Boudreau M.* (1987) Effects of chronic ethanol ingestion on arachidonic acid metabolism in rat tissues and *in vitro* effect of ethanol on camp in platelets. *Prostaglandins, Leukotrienes and Medicine*, **26**(3), 299-305. DOI: 10.1016/0262-1746(87)90039-4

76. Dong Q.S., Wroblewska B., Myers A.K. (1995) Inhibitory effect of alcohol on cyclic GMP accumulation in human platelets. *Thromb. Res.*, **80**(2), 143-151.
77. McKenzie M.E., Bell C.R., Horowitz E.D. et al. (2002) Effects of *in vitro* exposure of alcohol on surface receptor expression of human platelets. *Clin. Physiol. Funct. Imaging*, **22**(2), 153-156. DOI: 10.1046/j.1365-2281.2002.00411.x
78. Stach K., Kalsch A.I., Weiss C. et al. (2012) Effects of ethanol on the properties of platelets and endothelial cells in model experiments. *World J. Cardiol.*, **4**(6), 201-205. DOI: 10.4330/wjc.v4.i6.201
79. Sage S.O., Reast R., Rink T.J. (1990) ADP evokes biphasic Ca^{2+} influx in fura-2-loaded human platelets. Evidence for Ca^{2+} entry regulated by the intracellular Ca^{2+} store. *Biochem. J.*, **265**(3), 675-680. DOI: 10.1042/bj2650675
80. Sage S.O. (1997) The Wellcome Prize Lecture. Calcium entry mechanisms in human platelets. *Exp. Physiol.*, **82**(5), 807-823. DOI: 10.1113/expphysiol.1997.sp004066
81. Berridge M.J. (1997) The AM and FM of calcium signalling. *Nature*, **386**(6627), 759-760. DOI: 10.1038/386759a0
82. Kasuda S., Sakurai Y., Shima M. et al. (2006) Inhibition of PAR4 signaling mediates ethanol-induced attenuation of platelet function *in vitro*. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **30**(9), 1608-1614. DOI: 10.1111/j.1530-0277.2006.00193.x
83. Wakabayashi I., Marumo M. (2002) Ethanol inhibits store-operated Ca^{2+} entry of platelets. *Pharmacol. Toxicol.*, **90**(4), 226-228. DOI: 10.1034/j.1600-0773.2002.900410.x
84. Rosado J.A., Nunez A.M., Parientes J.A., Salido G.M. (2006) Alterations in intracellular calcium homeostasis and platelet aggregation induced by ethanol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **341**(4), 917-924. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.01.056
85. Mitidieri F., de Meis L. (1995) Ethanol has different effects on Ca^{2+} -transport ATPases of muscle, brain and blood platelets. *Biochem. J.*, **312**(3), 733-737. DOI: 10.1042/bj3120733
86. Marumo M., Wakabayashi I. (2010) Diverse effects of ethanol on Ca^{2+} entry and subsequent aggregation of platelets. *Alcohol*, **44**(4), 343-350. DOI: 10.1016/j.alcohol.2010.02.002
87. Benistant C., Rubin R. (1990) Ethanol inhibits thrombin-induced secretion by human platelets at a site distinct from phospholipase C or protein kinase C. *Biochem. J.*, **269**(2), 489-497. DOI: 10.1042/bj2690489
88. Nguyen A., Packham M.A., Rand M.L. (1999) Effects of ethanol on platelet responses associated with adhesion to collagen. *Thromb. Res.*, **95**(6), 303-314. DOI: 10.1016/s0049-3848(99)00050-x
89. Nguyen A., Gemmell C.H., Yeo E.L. et al. (1998) Ethanol inhibits thrombin-induced secretion of the contents of human platelet dense and alpha-granules and lysosomes. *Thromb. Haemost.*, **80**(4), 662-667.
90. Manku M.S., Horrobin D.I. (1979) Differential regulation of the formation of prostaglandins and related substances from arachidonic acid and from dihomogammalinolenic acid. *Prostagland. Med.*, **3**(2), 119-128. DOI: 10.1016/0161-4630(79)90079-x
91. Salem R.O., Laposata M. (2005) Effects of alcohol on hemostasis. *Am. J. Clin. Pathol.*, **123**, 96-105. DOI: 10.1309/113N8EUFXYUECCNA
92. Hillbom M., Kangasaho M., Löwbeer C. et al. (1985) Effects of ethanol on platelet function. *Alcohol*, **2**(3), 429-432. DOI: 10.1016/0741-8329(85)90109-0
93. Dunn E.L. (1981) Acute alcohol ingestion and platelet function. *Archives Surgery*, **116**(8), 1082-1083. DOI: 10.1001/archsurg.1981.01380200078016
94. Pennington S.N., Smith C.P. (1979) The effect of ethanol on thromboxane synthesis by blood platelets. *Prostagland. Med.*, **2**(1), 43-49. DOI: 10.1016/s0161-4630(79)80007-5
95. Helander A., Tottmar O. (1987) Effects of ethanol, acetaldehyde and disulfiram on the metabolism of biogenic aldehydes in isolated human blood cells and platelets. *Biochem. Pharmacol.*, **36**(22), 3981-3985. DOI: 10.1016/0006-2952(87)90467-9
96. Spertini O., Hauert J., Bachmann F. (1992) Reaction of acetaldehyde with human platelets. *Thromb. Haemost.*, **67**(1), 126-130. DOI: 10.1055/s-0038-1648393
97. Chen Y., Davis-Gorman G., Watson R.R., McDonagh P.F. (2003) Platelet CD62p expression and microparticle formation in murine acquired immune deficiency syndrome and chronic ethanol consumption. *Alcohol Alcoholism*, **38**(1), 25-30. DOI: 10.1093/alcalc/agg013
98. Sherif F.M. (1994) GABA-Transaminase in brain and blood platelets: Basic and clinical aspects. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **18**(8), 1219-1233. DOI: 10.1016/0278-5846(94)90089-2
99. White K., Shih J., Fong T. et al. (1980) Elevated platelet monoamine oxidase activity in patients with nonendogenous depression. *Am. J. Psychiatry*, **137**(10), 1258-1259. DOI: 10.1176/ajp.137.10.1258
100. Wargelius H.L., Fahlke C., Suomi S.J. et al. (2010) Platelet monoamine oxidase activity predicts alcohol sensitivity and voluntary alcohol intake in rhesus monkeys. *Upsala J. Med. Sci.*, **115**(1), 49-55. DOI: 10.3109/03009731003605813

Поступила в редакцию: 02. 01. 2022.

После доработки: 28. 03. 2022.

Принята к печати: 05. 04. 2022.

EFFECT OF ETHANOL ON PLATELET BIOLOGY

M.I. Airapetov^{1,2}, S.O. Eresko^{1,3}, E.R. Bychkov¹, A.A. Lebedev¹, P.D. Shabanov^{1,4}*

¹Department of Neuropharmacology, Institute of Experimental Medicine,
12 Acad. Pavlova str., St. Petersburg, 197376 Russia; *e-mail: eresko.sergei@yandex.ru

²Department of Pharmacology, St. Petersburg State Pediatric Medical University,
2 Litovskaya str., St. Petersburg, 194100 Russia

³Research and Training Center of Molecular and Cellular Technologies,
St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, 14 Prof. Popova str., St. Petersburg, Russia

⁴Department of Pharmacology, Kirov Military Medical Academy,
6 Acad. Lebedeva str., St. Petersburg, 194044 Russia

In recent years, interest in the study of platelets, significantly increased due to recent discoveries providing convincing evidence that their functions are not limited to their participation in the blood coagulation mechanism. Many works are devoted to the study of the functional state of platelets under conditions of acute and chronic alcohol exposure. The results of such studies can be useful for the development of new markers of the degree of alcohol intoxication of the body for the subsequent choice of the method drug correction of disorders caused by acute or chronic alcohol effects. The review summarizes results *in vivo* and *in vitro* of studies performed during more than 60 years on the effect of ethanol on the biogenesis, number, morphology and biochemistry of platelets.

Key words: platelets; ethanol; alcoholism; blood; thrombopoiesis; thrombocytopenia

Funding. The study was funded from the budget of the Institute of Experimental Medicine (State Assignment “Pharmacological analysis of the action of neurotropic agents, study of intracellular targets and creation of targeted delivery systems”, No. 0557-2019-0004).

Received 02.01.2022; revised 28.03.2022; accepted 05.04.2022.