

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭРИТРОЦИТОВ И УРОВЕНЬ ГОРМОНОВ У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ

Ветлугина Т.П.¹, Никитина В.Б.¹, Кисель Н.И.¹, Прокопьева В.Д.¹, Лобачева О.А.¹, Лебедева В.Ф.¹

¹Научно-исследовательский институт психического здоровья Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, e-mail: mental@tnimc.ru

При алкогольной зависимости токсическое действие этанола и эндокринная дисрегуляция вносят существенный вклад в нарушение обмена веществ и являются значимыми факторами, влияющими на эритропоэз. Проведено исследование параметров красной крови и спектра гормонов сыворотки крови больных алкогольной зависимостью, предпринят поиск возможных взаимосвязей между исследуемыми показателями. Материалом для исследования являлась кровь 50 мужчин с алкогольной зависимостью в возрасте 30–60 лет, длительность заболевания составила $13,5 \pm 8,86$ года. Взятие крови осуществляли на этапе постабстинентного состояния через 2 недели стандартной антиалкогольной терапии. У пациентов обнаружены снижение по отношению к контролю (42 практически здоровых мужчин) количества эритроцитов (RBC), гематокрита (HCT), уровня гемоглобина в свободном состоянии (HGB) и в эритроцитах (MCHC), повышение среднего объема эритроцитов (MCV). В сыворотке крови пациентов выявлены повышение концентрации кортизола и снижение гормонов щитовидной железы Т3 и Т4. Установлена прямая зависимость параметров эритроцитов пациентов (HCT, MCV) от уровня тиреоидных гормонов. Обсуждаются возможные механизмы, участвующие в алкоголь-обусловленных нарушениях эритропоэза, эндокринной дисрегуляции и взаимосвязях показателей эритроцитов и уровня гормонов.

Ключевые слова: эритроциты, гемоглобин, кортизол, тиреоидные гормоны, алкоголизм.

CHARACTERISTICS OF RED BLOOD CELLS AND THE LEVEL OF HORMONES IN PATIENTS WITH ALCOHOLISM

Vetlugina T.P.¹, Nikitina V.B.¹, Kisel N.I.¹, Prokopieva V.D.¹, Lobacheva O.A.¹, Lebedeva V.F.¹

¹Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, e-mail: mental@tnimc.ru

In alcohol dependence, the toxic effect of ethanol and endocrine dysregulation make a significant contribution to metabolic disorders and are significant factors affecting erythropoiesis. A study of the parameters of red blood and the spectrum of hormones in the blood serum of patients with alcohol dependence was carried out, and a search was made for possible relationships between the studied parameters. The material for the study was the blood of 50 men with alcohol dependence aged 30-60 years, the duration of the disease was $13,5 \pm 8,86$ years. Blood sampling was carried out at the stage of post-abstinence state on after 2 weeks of standard anti-alcohol therapy. In patients, a decrease in the number of erythrocytes (RBC), hematocrit (HCT), hemoglobin in the free state (HGB) and in erythrocytes (MCHC), an increase in the average volume of erythrocytes (MCV) was found in patients compared to the control (42 practically healthy men). In the blood serum of patients, an increase in the concentration of cortisol and a decrease in thyroid hormones T3 and T4 were detected. A direct dependence of the parameters of erythrocytes of patients (HCT, MCV) on the level of thyroid hormones has been established. Possible mechanisms involved in alcohol-related disorders of erythropoiesis, endocrine dysregulation, and relationships between erythrocyte parameters and hormone levels are discussed.

Keywords: erythrocytes, hemoglobin, cortisol, thyroid hormones, alcoholism.

Алкоголизм как одно из наиболее распространенных зависимых состояний остается во всем мире серьезной медико-социальной проблемой. Гетерогенная природа алкоголизма отражает сложный и многогранный характер молекулярных эффектов этанола и его

метаболита ацетальдегида. Длительное употребление алкоголя приводит к хронической интоксикации и различным метаболическим нарушениям: изменению синтеза и секреции белков клетками, нарушению текучести липидного матрикса биомембран, изменению внутриклеточного уровня цАМФ и других вторичных мессенджеров, активации окисления биомакромолекул – белков, липидов и др. Фундаментальными регуляторами метаболизма являются гемоглобинпродуцирующие эритроциты, обеспечивающие кислородом клетки и ткани всего организма, осуществляющие выведение углекислого газа и инактивацию других токсических продуктов, поддерживающие кислотно-щелочной и водно-минеральный балансы, участвующие в доставке аминокислот и прочих питательных веществ к внутренним органам.

Эритроциты чувствительны к изменению химического состава плазмы крови, к действию различных токсических факторов, которые могут вызывать структурно-функциональную дезорганизацию эритроцитов, начиная с модификации формы до лизиса клеток. Одним из таких токсических факторов является этанол. В результате длительного употребления алкоголя эритроциты больных алкоголизмом подвергаются как прямому токсическому действию этанола, так и воздействию его крайне токсичного продукта – ацетальдегида, а также свободных радикалов, генерируемых в процессе формирования и развития окислительного стресса [1, 2, 3]. Эритроциты являются важными составляющими транспорта гормонов в организме. Показано, что процесс образования и дифференцировки эритроцитов, их функция и структура регулируются эндокринными сигналами [4]. Вместе с тем в исследованиях влияния употребления алкоголя на эндокринную регуляцию установлено, что алкоголь остро стимулирует синтез глюкокортикоидов и индуцирует устойчивые изменения в нейроэндокринной системе [5, 6].

Таким образом, токсическое действие этанола и его метаболитов, эндокринная дисрегуляция вносят существенный вклад в нарушение обмена веществ и являются значимыми факторами, влияющими на эритропоэз при алкогольной зависимости. Ранее мы сообщали об аномалии эритроцитов и дисбалансе стресс-реализующих гормонов у больных алкоголизмом [7, 8].

Целью настоящего исследования является выявление возможных взаимосвязей параметров красной крови и уровня гормонов у больных алкогольной зависимостью.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования была кровь 50 мужчин с алкогольной зависимостью (больных алкоголизмом) в возрасте 30–60 лет, поступивших на лечение в клинику НИИ психического здоровья Томского НИМЦ с диагнозом по МКБ-10 «Психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя (синдром зависимости –

F10.21 и синдром отмены – F10.30)». Длительность заболевания составила $13,5 \pm 8,86$ года. Лабораторные исследования у пациентов были проведены на этапе постабстинентного состояния через 2 недели стандартной антиалкогольной терапии, включающей алкогольную детоксикацию, дифференцированное назначение основных групп препаратов для коррекции аффективных, диссомнических, нейровегетативных расстройств и противорецидивную терапию.

Контролем при биологических исследованиях служили образцы крови 42 практически здоровых мужчин соответствующего возраста, которые не состояли на диспансерном учете, на момент обследования не имели признаков перенесенных острых инфекционных заболеваний, выполняли профессиональные обязанности в полном объеме и вели привычный образ жизни.

Взятие крови для исследований осуществляли из локтевой вены утром натощак с использованием стерильной системы однократного применения с антикоагулянтом EDTA (для гематологического анализа) и с активатором свертывания крови для получения сыворотки. Сыворотку крови разливали в пробирки для микропроб типа Эппендорф, замораживали и хранили при -80°C до использования.

Гематологический анализ крови осуществляли на гематологическом анализаторе Micros 60 (HORIBA Medical, Франция).

Концентрацию гормонов (кортизола, трийодтиронина свободного – Т3, тироксина свободного – Т4) определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов ИФА-БЕСТ (ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ», Новосибирск, Россия) и регистрацией результатов на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Lazurite» (США).

Исследование с участием людей проводилось с соблюдением этических стандартов, разработанных в соответствии с Хельсинкской декларацией ВМА и одобренных Локальным этическим комитетом при НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (протокол № 115 от 26.11.2018 г., дело 115/1.2018).

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета программ STATISTICA для Windows, версия 12.0. Описательная статистика представлена медианой (Me) и межквартильным интервалом (LQ–UQ). Для межгруппового сравнения использовали критерий Манна–Уитни. Корреляционный анализ проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (rs). Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В таблице 1 приведены результаты гематологического анализа крови мужчин с алкогольной зависимостью и практически здоровых мужчин (контроль).

Таблица 1

Характеристика красной крови больных алкогольной зависимостью и здоровых лиц

Показатели	Me (QL–QU)		p
	Пациенты n=50	Контроль n=42	
Число эритроцитов (RBC), $10^{12}/л$	4,66 (4,36–4,86)	5,10 (4,89–5,34)	<0,001
Уровень гемоглобина (HGB), г/дл	14,80 (14,40–15,30)	16,10 (15,80–16,80)	<0,001
Гематокрит (HCT), %	42,10 (39,40–44,50)	44,25 (43,40–46,20)	0,005
Объем эритроцитов (MCV), $мкм^3$	92,00 (89,00–94,00)	89,00 (84,00–92,00)	<0,001
Концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/дл	34,95 (33,90–35,80)	36,20 (36,00–36,50)	<0,001
<i>Примечание:</i> p – уровень статистической значимости различий по отношению к контролю, n – количество обследованных лиц в группе			

В крови больных алкогольной зависимостью на этапе постабстинентного состояния были снижены по отношению к контролю число эритроцитов (RBC, $p<0,001$), уровень гемоглобина (HGB, $p<0,001$) и его средняя концентрация в эритроците (MCHC, $p<0,001$), гематокрит (HCT, $p=0,005$), повышен показатель среднего объема эритроцитов (MCV, $p<0,001$).

Эти результаты на большем объеме исследуемого материала уточнили и подтвердили данные, полученные нами ранее [7].

В образцах сыворотки крови этих пациентов были исследованы уровни кортизола и тиреоидных гормонов. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Уровень гормонов в сыворотке крови больных алкогольной зависимостью и здоровых лиц

Показатели	Me (QL–QU)		p
	Пациенты (n=50)	Контроль (n=35)	
Кортизол, нмоль/л	978,80 (757,00–1196,70)	465,80 (371,75–508,51)	<0,001

Трийодтиронин свободный (Т3), пмоль/л	3,12 (2,59–3,81)	5,83 (5,06–6,81)	<0,001
Тироксин свободный (Т4), пмоль/л	8,40 (7,59–9,89)	12,21 (10,56–14,11)	<0,001
Т3/Т4	0,38 (0,33–0,47)	0,51 (0,41–0,60)	<0,001
<i>Примечание:</i> р – уровень статистической значимости различий по отношению к контролю, n – количество обследованных лиц в группе			

Установлено, что концентрация кортизола в группе пациентов в 2 раза превышала уровень контроля (978,80 и 465,80 нмоль/л соответственно), а концентрация трийодтиронина свободного, тироксина свободного и коэффициент отношения Т3/Т4 были статистически значимо снижены ($p < 0,001$ во всех случаях).

В таблице 3 приведены результаты корреляционного анализа между гематологическими показателями и концентрацией гормонов в группе пациентов с алкогольной зависимостью.

Таблица 3

Коэффициенты корреляции Спирмена между гематологическими показателями и уровнем гормонов у больных алкогольной зависимостью

Параметры	rs	P
MCV & Т3	0,395	0,025
НСТ & Т3/Т4	0,370	0,039
МСНС & Длительность заболевания	-0,430	0,001

Выявлена статистически значимая прямая зависимость между средним объемом эритроцитов (MCV) и трийодтиронином свободным – Т3 ($p = 0,025$); гематокритом (НСТ) и коэффициентом отношения Т3/Т4 ($p = 0,039$). Обнаружена также обратная корреляция между концентрацией гемоглобина в эритроците (МСНС) и длительностью заболевания, т.е. с увеличением длительности заболевания снижается концентрация гемоглобина в эритроците.

Поскольку в этом исследовании проводили изучение параметров красной крови и спектра гормонов сыворотки крови больных алкогольной зависимостью, а также был предпринят поиск возможных взаимосвязей между исследуемыми показателями, при формировании групп участников исследования было важно по возможности исключить факторы, которые могли бы оказать влияние на получаемые результаты. С учетом эффектов, оказываемых половым деморфизмом на эндокринную систему и эритропоэз [9], в

обследование включили только мужчин. Кроме того, чтобы минимизировать токсическое действие этанола, исследования у пациентов были проведены через 2 недели после поступления в стационар и стандартной антиалкогольной терапии, влияние которой на биологические показатели также нельзя исключить.

У больных алкоголизмом установлено нарушение всех исследуемых параметров эритроцитов по отношению к соответствующим показателям в группе здоровых мужчин. Аномалия эритроцитов может быть обусловлена как прямым воздействием неметаболизированного этанола, так и влиянием ацетальдегида и/или продуктов свободнорадикального окисления, которые накапливаются в результате развития окислительного стресса, индуцированного этанолом и ацетальдегидом [2, 3, 10]. Кроме того, ацетальдегид образует аддукты с белками эритроцитов *in vivo* в крови и костном мозге больных алкоголизмом. При иммуноцитохимическом анализе аспиратов костного мозга обнаружены эпитопы ацетальдегидного происхождения в эритропоэтических клетках у 73% пациентов с алкоголизмом [11]. Это может способствовать нарушению дифференцировки предшественников клеток крови, снижению количества и возникновению аномалий эритроцитов [11, 12].

Обнаруженные нами высокая концентрация кортизола и сниженный уровень тиреотропных гормонов у субъектов с алкогольной зависимостью многими исследователями рассматриваются как стрессовая реакция на действие алкоголя и его отмену, сложные механизмы развития которой обсуждаются в ряде обзоров [5, 6, 13]. Сведения, представленные в этих обзорах, можно кратко обобщить в следующих положениях: длительное потребление алкоголя стимулирует гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось и синтез глюкокортикоидов, что приводит к каскаду взаимосвязанных реакций в гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной оси, подавлению функции щитовидной железы, в конечном итоге – к множественным нейроадаптивным изменениям в системах вознаграждения и стресс-системах мозга.

Анализ корреляционных взаимосвязей между показателями красной крови и уровнем гормонов у больных алкоголизмом, проведенный в нашем исследовании, обусловлен данными об эндокринной регуляции процесса эритропоэза. Оптимальное количество циркулирующих эритроцитов поддерживается непрерывным эритропоэзом в костном мозге, где популяции плюрипотентных стволовых клеток генерируют предшественников эритроидной линии, которые, проходя ряд стадий созревания, дифференцируются в колониеобразующие единицы эритроцитов (КОЕ-Э), далее в периферическую кровь поступают зрелые эритроциты. Конечная пролиферация и дифференцировка клеток-предшественников в значительной степени контролируются гормоном эритропоэтином

(Е_{po}), синтезируемым в почках в ответ на снижение кислорода в тканях. Значительное влияние на эритропоэз оказывают кортизол и тиреоидные гормоны. Установлено, что глюкокортикоиды, в частности кортизол, необходимы для стрессового эритропоэза *in vivo*. Глюкокортикоидные рецепторы (GR), взаимодействуя с ядерным рецептором, активируемым пролифератором пероксисом α (Peroxisome Proliferator Activated Receptor – PPAR α), увеличивают выход и дифференцировку ранних эритроидных предшественников, способствуя как быстрому, так и длительному увеличению числа эритроцитов [14]. Установлено также, что тиреоидные гормоны усиливают эритропоэз за счет гиперпролиферации незрелых эритроидных клеток-предшественников, увеличивают секрецию эритропоэтина, повышают уровень 2,3-бисфосфоглицерина в эритроцитах, способствуя высвобождению кислорода из гемоглобина [4, 15].

В нашем исследовании у больных алкоголизмом обнаружены прямые взаимосвязи между параметрами эритроцитов и уровнем тиреоидных гормонов, что вполне закономерно, поскольку этанол и его основной метаболит ацетальдегид подавляют эритропоэз [11, 12], а уровень необходимых для эритропоэза гормонов щитовидной железы снижен. Не выявлены корреляции между параметрами эритроцитов и кортизолом, несмотря на его высокую концентрацию в аутологичной сыворотке крови. Возможно, это объясняется разнонаправленным действием кортизола и ацетальдегида на эритропоэз: кортизол, как было сказано выше, усиливает эритропоэз, а ацетальдегид, напротив, подавляет.

Заключение. Таким образом, у больных алкогольной зависимостью на этапе постабстинентного состояния аномалия клеток красной крови характеризовалась статистически значимым снижением числа эритроцитов (RBC) и занимаемого ими объема крови – гематокрита (HCT), концентрации гемоглобина в свободном состоянии (HGB) и в эритроцитах (MCHC), повышением среднего объема эритроцитов (MCV). В сыворотке крови этих пациентов концентрация кортизола в 2 раза превышала значение в контроле, а уровни гормонов щитовидной железы Т3 и Т4 были значимо снижены. Установлена прямая зависимость параметров эритроцитов пациентов (HCT, MCV) от количества тиреоидных гормонов.

Исследование выполнено за счет бюджетного финансирования ГЗ 075-01184-22-00, тема НИР № 122020200053-1

Список литературы

1. Бохан Н.А., Прокопьева В.Д. Молекулярные механизмы влияния этанола и его метаболитов на эритроциты *in vitro* и *in vivo*. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2004, 166 с.

2. Maturu P., Vaddi D.R., Pannuru P., Nallanchakravarthula V. Modification of erythrocyte membrane proteins, enzymes and transport mechanisms in chronic alcoholics: an in vivo and in vitro study. *Alcohol Alcohol*. 2013. vol. 48. no. 6. P. 679-686. DOI: 10.1093/alcalc/agt071.
3. Demidchik L., Kolesnikova Y., Muravlyova L., Molotov-Luchanskiy V., Kluyev D., Bakirova R., Omarova I., Ponamareva O., Tankibaeva N., Nukhuly A. The Oxidized proteins and activity of the Cl-/HCO₃- exchanger in erythrocytes of patients with acute alcohol intoxication. *Acta Biochim Pol*. 2019. vol. 66. no. 3. P. 351-354. DOI: 10.18388/abp.2019_2812.
4. Papadopoulos C., Tentes I., Anagnostopoulos K. Molecular Interactions between Erythrocytes and the Endocrine System. *Maedica (Bucur)*. 2021. vol. 16. no. 3. P. 489-492. DOI: 10.26574/maedica.2020.16.3.489.
5. Rachdaoui N., Sarkar D.K. Pathophysiology of the Effects of Alcohol Abuse on the Endocrine System. *Alcohol. Res*. 2017. vol. 38. no. 2. P. 255-276.
6. Honnamurthy J.B., Shivashankara A.R., Avinash S.S., John Mathai P., Malathi M. Effect of Interaction Between Duration of Alcohol Consumption and Alcohol Dependence on Thyroid Function Test: Cross Sectional Observational Study. *Indian J. Clin Biochem*. 2018. vol. 33. no. 1. P. 61-68. DOI: 10.1007/s12291-017-0645-6.
7. Ветлугина Т.П., Савочкина Д.Н., Рощина О.В., Никитина В.Б., Мартыненко Л.И., Плотников Е.В. Показатели красной крови и Т-лимфоциты у больных алкоголизмом; защитный потенциал аскорбата лития // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2017. Т. 12. № 2. С. 272-276. DOI: 10.17513/mjpf.12033.
8. Ветлугина Т.П., Лобачева О.А., Никитина В.Б., Прокопьева В.Д., Мандель А.И., Бохан Н.А. Гормоны стресс-реализующей системы при алкогольной зависимости: возможность прогнозирования длительности ремиссии // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020. № 5 (120). С. 73-78. DOI: 10.17116/jnevro202012005173.
9. Tzounakas V.L., Anastasiadi A.T., Drossos P.V., Karadimas D.G., Valsami S.É., Stamoulis K.E., Papassideri I.S., Politou M., Antonelou M.H., Kriebardis A.G. Sex-related aspects of the red blood cell storage lesion. *Blood Transfus*. 2021. vol. 19. no. 3. P. 224-236. DOI: 10.2450/2020.0141-20.
10. Bulle S., Reddy V.D., Padmavathi P., Maturu P., Puvvada P.K., Nallanchakravarthula V. Association between alcohol-induced erythrocyte membrane alterations and hemolysis in chronic alcoholics. *J. Clin. Biochem. Nutr*. 2017. vol. 60. no. 1. P. 63-69. DOI: 10.3164/jcbn.16-16.
11. Latvala J., Parkkila S., Melkko J., Niemelä O. Acetaldehyde adducts in blood and bone marrow of patients with ethanol-induced erythrocyte abnormalities. *Mol. Med*. 2001. vol. 7. no. 6. P. 401-405.

12. Тарасова О.И., Огурцов П.П. Гематологические маски хронической алкогольной интоксикации. Вестник последипломного медицинского образования. 2017. № 4. С. 24-30.
13. Wemm S.E., Sinha R. Drug-induced stress responses and addiction risk and relapse. *Neurobiol Stress*. 2019. vol. 1. no. 10. P. 100148. DOI: 10.1016/j.ynstr.2019.100148.
14. Bresnick E.H., Hewitt K.J., Mehta C., Keles S., Paulson R.F., Johnson K.D. Mechanisms of erythrocyte development and regeneration: implications for regenerative medicine and beyond. *Development*. 2018. vol. 145. no. 1. dev151423. DOI: 10.1242/dev.151423.
15. Dorgalaleh A., Mahmoodi M., Varmaghani B., Kiani Node F., Saeedi Kia O., Alizadeh Sh., Tabibian Sh., Bamedi T., Momeni M., Abbasian S., Kashani Khatib Z. Effect of thyroid dysfunctions on blood cell count and red blood cell indice. *Iran J. Ped. Hematol. Oncol*. 2013. vol. 3. no. 2. P. 73-77.