

Механизмы развития атрофии скелетных мышц при хронической алкогольной интоксикации

Ю.В. Казанцева, Г.А. Маслова, Е.А. Лысенко, О.Е. Зиновьева, Б.С. Шенкман, Н.Н. Яхно

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;
Государственный научный центр РФ — Институт медико-биологических проблем РАН (Москва)

Хроническая алкогольная миопатия (ХАМ) — одно из частых проявлений алкогольной болезни. Патогенез ее до конца не изучен. Предполагают, что основным механизмом развития ХАМ является нарушение процессов синтеза белка в мышечных волокнах. Проведено комплексное клиническое, морфологическое и биохимическое исследование 38 пациентов с хронической алкогольной интоксикацией. Клинические проявления поражения скелетных мышц соответствовали выраженности атрофического процесса, определяемого по данным гистологического исследования мышечных биоптатов. Выявлено нарушение основных звеньев синтеза белка, как на внутриклеточном, так и на системном уровне регуляции.

Ключевые слова: хроническая алкогольная миопатия, синтез белка, инсулиноподобный фактор роста I, электрофорез белков

Хроническая алкогольная миопатия (ХАМ), по данным ряда авторов, встречается у пациентов с хронической этаноловой интоксикацией в 40–60% случаев [11, 12]. Клинические проявления — слабость и похудание мышц нижних конечностей, нарушения ходьбы — по мере прогрессирования заболевания приводят к инвалидизации лиц, большей частью, трудоспособного возраста, что делает изучение данной проблемы актуальным не только с медицинской, но и социальной точки зрения.

В настоящее время патогенез ХАМ до конца не изучен. В качестве причин возникновения данного состояния рассматриваются глубокие многоуровневые нарушения ростовых и синтетических процессов в мышцах, связанные, в первую очередь, со снижением интенсивности трансляционных процессов на рибосомах [13]. Скорость трансляции снижается, как после острой алкогольной интоксикации, так и на фоне хронического потребления алкоголя [7, 16]. Потеря миофибрилярных белков наблюдается до развития морфологических изменений скелетных мышц. Развитие ХАМ не зависит от наличия алкогольной полиневропатии, алкогольного поражения печени, полидефицитарных состояний, гормональных нарушений и напрямую не связано с процессами апоптоза [2, 8].

К основным регуляторам синтеза белка в мышце относят соматотропный гормон, инсулиноподобный фактор роста I (IGF-I) и его основной связывающий белок [5]. IGF-I — важный системный регулятор анаболических процессов в мышце. Хроническое потребление алкоголя снижает уровень циркулирующего в крови IGF-I, в основном из-за снижения скорости синтеза и секреции его печенью [7].

Снижение содержания в мышечной ткани IGF-I может вызывать атрофический процесс, который наблюдается при ХАМ [4]. Действие IGF-I реализуется посредством внутриклеточного фермента Ser/Thr протеинкиназы mTOR, которая играет ключевую роль при передаче сигнала о синтезе белка в скелетной мышце [6]. Наряду с IGF-I, к активаторам данной системы относятся физические нагрузки и аминокислоты, в частности, лейцин [10, 17].

Основным действующим звеном mTOR-системы является рибосомальная киназа P70 S6K. Ланг и его соавторы в экспериментальных исследованиях на крысах показали, что при острой и хронической алкогольной интоксикации снижается как общее количество P70 S6K-киназы, так и содержание ее активной формы [4, 6].

Еще одним маркером белкового синтеза с альтернативным путем передачи сигнала от IGF-I является киназа P90 RSK. Этот фермент может функционировать как в ядре, активируя факторы транскрипции, так и в цитоплазме клетки, стимулируя синтез белка. При хроническом потреблении алкоголя эта сигнальная система также страдает, что может быть причиной развития атрофического процесса в скелетных мышцах.

Цель настоящей работы — изучение системных и клеточных параметров, определяющих патогенетические механизмы развития ХАМ.

Характеристика больных и методы исследования

Обследованы 38 пациентов, находившихся на стационарном лечении в клинике нервных болезней ПМГМУ им. И.М. Сеченова. У всех больных был длительный алкогольный анамнез. Средняя продолжительность приема алкоголя составила 16,2 года, среднее количество потребляемого алкоголя — 185,5 мл/сут в пересчете на этанол.

Критериями включения пациентов в исследование служили: возраст от 20 до 70 лет; длительность регулярного приема алкоголя — не менее трех лет в количестве не менее 100 мл этанола в сутки или наличие диагноза «хронический алкоголизм».

Критерии исключения: лекарственная или наркотическая зависимость; наследственные миодистрофии; другие известные причины развития миопатии (сахарный диабет, заболевания щитовидной железы, онкологические заболевания, почечная недостаточность, системные болезни соединительной ткани); инфекционные заболевания (в том числе вирусные гепатиты и ВИЧ-инфекция).

Общая характеристика больных:

- средний возраст — $45,1 \pm 1,6$ лет;
- половой состав групп — 74% мужчин и 26% женщин;
- среднее количество употребляемого алкоголя — $185,5 \pm 13,3$ мл этанола в сутки;
- длительность приема алкоголя — $16,2 \pm 1,6$ лет.

Проведенное клиническое обследование включало оценку:

- наркологического анамнеза, определение стадии алкоголизма;
- мышечной силы по 5-балльной шкале;
- сухожильных рефлексов, поверхностной и глубокой чувствительности.

Вибрационная чувствительность была исследована с помощью камертона 128 Гц, градуированного по стандартной 8-балльной шкале.

Лабораторные исследования включали общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, исследование содержания в крови инсулиноподобного фактора роста I методом иммуноферментного анализа.

Проводилось гистохимическое исследование поперечных срезов биоптата латеральной головки четырехглавой мышцы бедра. С помощью морфометрии оценивались площади поперечного сечения волокон I и II типов (соответственно: медленные, с аэробным типом метаболизма, и быстрые, гликолитические волокна). Указанное разделение мышечных волокон на два типа зависит от того, какие изоформы тяжелых цепей сократительного белка миозина в них синтезируются. Преобладание того или иного типа изоформ тяжелых цепей миозина определяет скорость, силу мышечного сокращения и метаболический тип его энергетического обеспечения.

Полученные результаты оценивались в сравнении со средними значениями морфометрических показателей здоровых людей. Средняя площадь поперечного сечения волокон составляла 4850 ± 1286 мкм² (I тип), 5168 ± 1324 мкм² (II тип) для мужчин и 4100 ± 900 мкм² (I тип) и 4110 ± 790 мкм² (II тип) для женщин [15]. Уменьшение площади поперечного сечения мышечных волокон II типа менее 4000 мкм² у мужчин и менее 3500 мкм² у женщин считалось критерием включения пациентов в группу с морфологически подтвержденной атрофией скелетной мышцы. Наличие в биоптате мышечного волокна зон некроза и (или) воспалительной инфильтрации служило критерием исключения пациента из исследования.

Проводилась оценка количества мышечных ядер как структур, потенциально способных к синтезу белка. Для этого подсчитывалось количество мышечных волокон (МВ) и число миоядер в них, а затем рассчитывалось миоядерное число — содержание ядер на одно МВ.

Методом электрофореза оценивались уровень экспрессии и уровень фосфорилирования основных сигнальных молекул белкового синтеза — рибосомальных киназ P70 S6K и P90 RSK.

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета статистических программ SPSS 17.0, использовался Т-критерий Стьюдента, коэффициент корреляции

Пирсона. Данные представлены в виде средних величин $\pm$ стандартная ошибка (SE).

Результаты

На основании полученных при морфометрии данных все пациенты были разделены на две группы. В первую — с морфологически подтвержденной атрофией мышечных волокон — вошли 32 человека (22 мужчины и десять женщин), средний возраст которых составил 45,6 лет, длительность приема алкоголя — 17,1 лет, среднее количество потребляемого этанола в сутки — 185 мл. Обращает внимание, что в данную группу вошли все женщины, участвовавшие в исследовании.

Вторую группу составили пациенты без морфологически подтвержденной атрофии мышечных волокон. В нее вошли шестеро мужчин, средний возраст — 41,2 года, длительность алкогольной интоксикации составила в среднем 9,6 года, среднее количество потребляемого этанола — 200,0 мл/сут.

Основными жалобами пациентов первой группы были чувство онемения в стопах и голенях (69%) и слабость в проксимальных отделах ног (56%). Треть больных беспокоили болезненные судороги в икроножных мышцах по ночам. Пациенты второй группы также предъявляли жалобы на ощущение онемения в стопах и голенях (50%), но жалобы на слабость в ногах, похудание мышц конечностей у них отсутствовали.

При клиническом осмотре полиневропатический тип расстройств чувствительности выявлялся у подавляющего большинства обследованных пациентов (91%) с морфологически подтвержденной атрофией мышечных волокон (первая группа). Мышечная слабость в виде нижнего вялого проксимального парализа определялась в 53% случаев, а в 28% — выявлялось его сочетание с дистальным парезом. Степень выраженности пареза варьировала от 2 до 4 баллов в проксимальных отделах конечностей и от 3 до 4 баллов в дистальных. Большинство больных сохраняли способность к самостоятельному передвижению, но испытывали затруднения при функциональных нагрузках (спуск и подъем по лестнице, подъем из положения глубокого приседания). У половины пациентов выявлялись гипотрофии мышц конечностей, на которые они в большинстве случаев не обращали внимания, и только при детальном расспросе отмечали похудание ног на фоне общего снижения массы тела.

У пациентов без морфологически подтвержденной атрофии в неврологическом статусе полиневропатический тип расстройств чувствительности выявлялся в 67% случаев. По этому показателю не было достоверных отличий при сравнении с первой группой. Статистически значимой была разница в частоте выявления гипотрофии мышц конечностей и нижнего проксимального парализа, которые отсутствовали в группе пациентов без атрофии (рис. 1).

Среди пациентов первой группы не было отмечено достоверных различий между мужчинами и женщинами по возрасту и среднему количеству потребляемого этанола в сутки. В то же время выявлено статистически значимое различие длительности алкогольного анамнеза, составившее 13,0 лет у женщин и 19,1 года у мужчин, что говорит

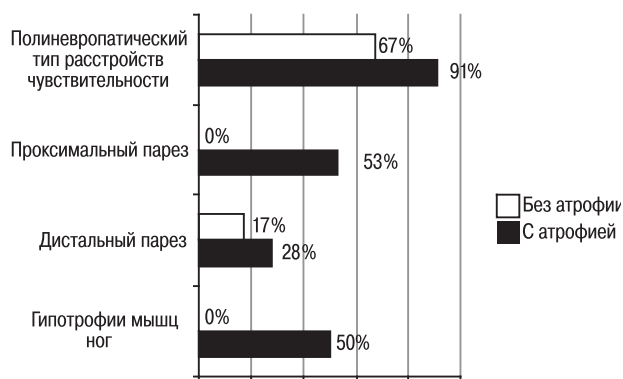


рис. 1: Клинические сопоставления в группах больных с морфологически подтвержденной атрофией мышечных волокон и без атрофии

о более раннем развитии атрофического процесса в скелетных мышцах у женщин. Достоверно чаще женщины предъявляли жалобы на онемение в стопах и голенях (100%). В неврологическом статусе у них чаще выявлялись полиневропатический тип расстройства чувствительности, проксимальный парез до 2–3 баллов, гипотрофия мышц конечностей (рис. 2). Степень выраженности данных нарушений была более грубой по сравнению с мужчинами, многие пациентки при ходьбе были вынуждены пользоваться средствами дополнительной опоры.

На основании результатов морфометрии в группе пациентов с атрофией мышечных волокон выделены две подгруппы: с изолированной атрофией волокон II типа (53%) и с атрофией волокон I и II типов (47%). Данные подгруппы были сопоставимы по возрасту и количеству потребляемого этанола в сутки. Достоверных различий по данным клинического неврологического осмотра также не выявлено. Частота полиневропатического синдрома в виде дистальной, преимущественно сенсорной, полиневропатии и двигательных нарушений в виде нижнего проксимального парапареза не отличалась у пациентов первой и второй подгрупп.

При оценке длительности алкогольного анамнеза выявились статистически достоверные различия между группами. Так, в группе пациентов без атрофии мышечных волокон длительность алкогольной интоксикации составила

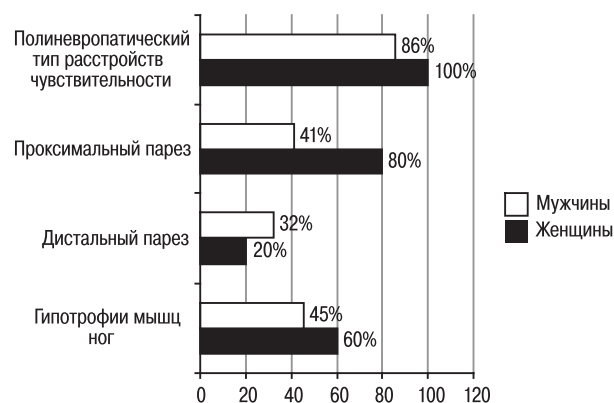


рис. 2: Клинические сопоставления с учетом пола в группе больных с морфологически подтвержденной атрофией мышечных волокон

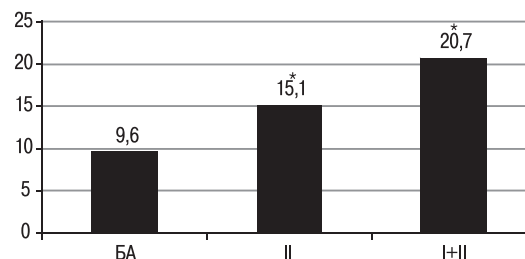


рис. 3: Длительность алкогольного анамнеза

Обозначения: БА – пациенты без атрофических изменений мышечных волокон; II – пациенты с атрофией волокон II типа; I + II – пациенты с атрофией волокон I и II типов.

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с пациентами без атрофических изменений мышечных волокон.

9,6 лет, у больных с изолированной атрофией волокон II типа – 15,1 лет, с атрофией обоих типов – 20,7 лет (рис. 3).

Оценка концентрации IGF-I в плазме крови выявила достоверные различия между пациентами с морфологически подтвержденной атрофией мышечных волокон (121,8 нг/мл) и контрольной группой (216 нг/мл), что позволило предположить наличие нарушений процессов белкового синтеза у пациентов первой группы. Косвенно об этом свидетельствует и снижение числа мио ядер. У пациентов с атрофией мышечных волокон их было на 25% меньше, чем в группе без морфологически подтвержденной атрофии.

Для уточнения внутриклеточных механизмов нарушения синтеза белка оценивалось общее содержание рибосомальных киназ P70 S6K и P90 RSK по уровню экспрессии и содержанию активной формы (уровню фосфорилирования) в следующих группах пациентов: контрольная, без атрофии, с атрофией волокон II типа, с атрофией волокон I и II типов. У больных выявлено достоверное снижение как уровня экспрессии, так и уровня фосфорилирования киназ P70 S6K и P90 RSK (рис. 4, 5).

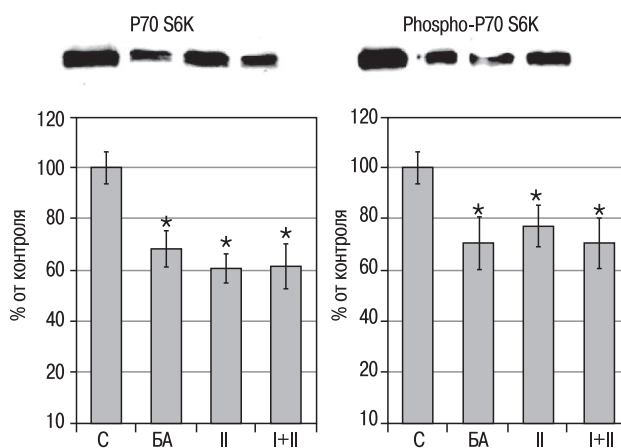


рис. 4: Уровень экспрессии и фосфорилирования рибосомальной киназы P70 S6K
Обозначения: P70 S6K – уровень экспрессии; Phospho-P70 S6K – уровень фосфорилирования; С – представители контрольной группы; БА – пациенты без атрофических изменений мышечных волокон; II – пациенты с атрофией волокон II типа; I + II – пациенты с атрофией волокон I и II типов.

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

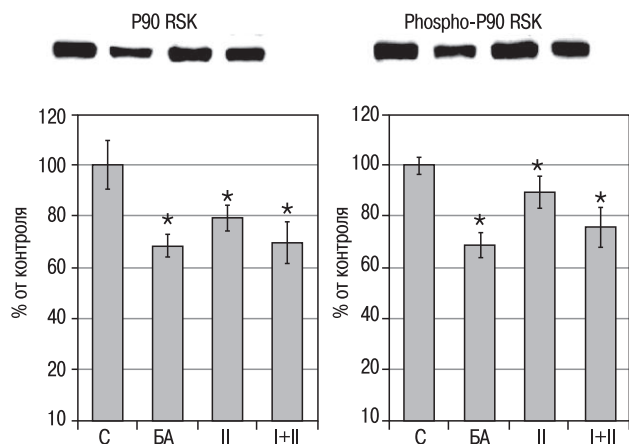


рис. 5: Уровень экспрессии и фосфорилирования рибосомальной киназы P90 RSK. Обозначения: P70 S6K – уровень экспрессии; Phospho-P70 S6K – уровень фосфорилирования; C – представители контрольной группы; БА – пациенты без атрофических изменений мышечных волокон; II – пациенты с атрофией волокон II типа; I + II – пациенты с атрофией волокон I и II типов.

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Обсуждение

В настоящее время установлено, что морфологическую основу ХАМ составляет атрофия мышечных волокон II типа, а по мере прогрессирования заболевания в патологический процесс вовлекаются и волокна I типа [9]. Атрофические изменения мышечных волокон не сопровождаются некрозом и явлениями воспалительной инфильтрации. Определяющим механизмом их формирования является снижение синтеза белка и, как следствие, прогрессирование дистрофического процесса.

В настоящем исследовании гипотрофия мышечных волокон II типа выявлялась в 53% случаев, а гипотрофия обоих типов – в 47% случаев. Таким образом, у наших пациентов гипотрофия обоих типов мышечных волокон встречалась чаще, чем в других аналогичных исследованиях [3, 14], что, вероятно, связано с тяжелым стационарным контингентом обследованных больных.

Наиболее характерными клиническими проявлениями ХАМ являются проксимальная мышечная слабость, приводящая к изменению походки и похуданию мышц. Часто развитию ХАМ сопутствует наличие алкогольной полиневропатии, хотя эти проявления алкогольной болезни развиваются независимо друг от друга [8]. У обследованных пациентов более чем в половине случаев выявлялось поражение периферического нервно-мышечного аппарата, проявлявшееся нижним проксимальным парализом (53%) и дистальной, преимущественно сенсорной, полиневропатией (91%). Анализ данных неврологического ста-

туса показал, что у больных с морфологически подтвержденной атрофией мышечных волокон достоверно чаще отмечались клинические проявления ХАМ в виде слабости и гипотрофии мышц тазового пояса и бедер. Таким образом, клинические проявления поражения скелетных мышц соответствовали выраженности атрофического процесса в них.

Оценка клинического неврологического осмотра с учетом пола пациентов показала, что частота и выраженность полиневропатического синдрома не отличались у мужчин и женщин. В то же время клинические и морфологические признаки поражения скелетных мышц встречались у женщин достоверно чаще при меньшей длительности алкогольной интоксикации, что указывает на большую чувствительность их к действию этанола и его метаболитов.

Согласно данным литературы, при длительной алкогольной интоксикации поражение скелетных мышц имеет прогрессирующий характер [1]. У обследованных пациентов выявлена зависимость выраженности атрофии мышечных волокон от длительности алкогольного анамнеза, причем сочетанная атрофия волокон I и II типов определялась у пациентов с более длительным периодом алкоголизации.

Оценка основных звеньев синтеза белка в скелетной мышце выявила нарушения на всех уровнях регуляции. В группе пациентов с морфологически подтвержденной атрофией мышечных волокон определялось статистически достоверное уменьшение содержания IGF-I в плазме крови и числа ядер в мышечных волокнах по сравнению с группой без атрофии. Следовательно, развитие атрофического процесса в скелетных мышцах происходит на фоне снижения действия как ядерных белоксинтезирующих структур, так и внеклеточного регулятора белкового синтеза – IGF-I. Полученные данные соответствуют результатам других экспериментальных исследований [5, 7].

Определение общего количества рибосомальных киназ P70 S6K и P90 RSK как наиболее значимых внутриклеточных звеньев белкового синтеза выявило снижение их экспрессии и фосфорилирования по сравнению с группой контроля. Особого внимания заслуживает тот факт, что снижение этих показателей отмечалось и в группе пациентов без атрофических изменений скелетных мышц. Таким образом, нарушение белкового синтеза опережает развитие морфологических проявлений атрофического процесса в скелетной мышце при хронической алкогольной интоксикации.

Снижение синтеза белка является ранним признаком поражения скелетных мышц у пациентов с хронической алкогольной интоксикацией, опережающим морфологические проявления ХАМ. В дальнейшем возможно использование определения уровня IGF-I в плазме крови для ранней скрининговой диагностики ХАМ.

Список литературы

1. Estruch R., Sacanella E., Fernandez-Sola J. et al. Natural history of alcoholic myopathy: 5-year study. *Alcoholism: Clin. Exp. Res.* 1998; 22: 2023–2028.
2. Fernandez-Sola J., Sacanella E., Estruch R. et al. Serum and muscle levels of alpha-tocopherol, ascorbic acid, and retinol are normal in chronic alcoholic myopathy. *Alcoholism: Clin. Exp. Res.* 1998; 22: 422–427.
3. Ferraz M.L., Gabbai A.A., Oliveira A.S. et al. Histochemical study of the skeletal muscle in chronic alcoholism. *Arq. Neuropsiquiatr.* 1989; 47: 139–149.
4. Kumar V., Frost R.A., Lang C.H. Alcohol impairs insulin and IGF-I stimulation of S6K1 but not 4E-BP1 in skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2002; 283: 917–928.
5. Lang C.H., Frost R.A. Role of growth hormone, insulin-like growth factor-I, and insulin-like growth factor binding proteins in the catabolic response to injury and infection. Anabolic and catabolic signals. *Curr. Opin. Clin. Nutrition & Metab. Care* 2002; 15: 271–279.
6. Lang C.H., Frost R.A., Deshpande N. et al. Alcohol impairs leucine-mediated phosphorylation of 4E-BP1, S6K1, eIF4G, and mTOR in skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003; 285: 1205–1215.
7. Lang C.H., Frost R.A., Svanberg E., Vary T.C. IGF-I/IGFBP-3 ameliorates alterations in protein synthesis, eIF4E availability, and myostatin in alcohol-fed rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2004; 286: 916–926.
8. Mills K.R., Ward K., Martin F., Paters T.J. Peripheral neuropathy and myopathy in chronic alcoholism. *Alcohol and Alcoholism* 1986; 21: 357–362.
9. Nicolas J.M., Garcia G., Fatjo F. et al. Influence of nutritional status on alcoholic myopathy. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003; 78: 326–333.
10. Powers T. TOR signaling and S6 kinase 1: Yeast catches up. *Cell Metab.* 2007; 6: 1–2.
11. Preedy V.R., Adachi J., Ueno Y. et al. Alcoholic skeletal muscle myopathy: definitions, features, contribution of neuropathy, impact and diagnosis. *Eur. J. Neurol.* 2001; 8: 677–687.
12. Preedy V.R., Ohlendorf K., Adachi J. et al. The importance of alcohol-induced muscle disease. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 2003; 24: 55–63.
13. Reilly M.E., Eryilmaz E.I., Amir A. et al. Skeletal muscle ribonuclease activities in chronically ethanol treated rats. *Alcoholism: Clin. Exp. Res.* 1998; 22: 876–883.
14. Sharma S.C., Ray R.C., Banerjee A.K., Lakshmanan C. Chronic muscle wasting in alcoholics — a histochemical and biochemical study. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 1990; 33: 244–249.
15. Staron R.S., Hagerman F.C., Hikida R.S. et al. Fiber type composition of the vastus lateralis muscle of young men and women. *J. Histochem. Cytochem.* 2000; 48: 623–629.
16. Vargas R., Lang C.H. Alcohol accelerates loss of muscle and impairs recovery of muscle mass resulting from disuse atrophy. *Alcoholism: Clin. Exp. Res.* 2008; 32: 128–137.
17. Vary T.C., Lynch C.J. Nutrient signaling components controlling protein synthesis in striated muscle. *J. Nutr.* 2007; 137: 1835–1843.

Mechanisms of the development of skeletal muscle atrophy in chronic alcohol intoxication

Yu.V. Kazantseva, G.A. Maslova, E.A. Lysenko, O.E. Zinovyeva, B.S. Shenkman, N.N. Yakhno

*1st Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov;
Institute of Medico-Biological Problems, Russian Academy of Sciences (Moscow)*

Key words: chronic alcohol myopathy, protein synthesis, insulin-like growth factor I, protein electrophoresis

Chronic alcohol myopathy (CAM) is one of frequent manifestations of the alcoholic disease, but its pathogenesis remains to be elucidated. Main mechanism of the CAM development is suggested to be abnormalities of protein synthesis in muscle fibers. A complex clinical, morphological and biochemical investigation of 38 patients

with chronic alcohol intoxication was performed. Clinical manifestations of skeletal muscle damage corresponded to severity of the atrophic process assessed by histological studies of muscle biopsies. Disturbances of main stages of protein synthesis both on intracellular and on systemic regulatory level was revealed.

Контактный адрес: Зиновьева Ольга Евгеньевна — докт. мед. наук, доц. кафедры нервных болезней лечебного факультета ПМГМУ. Москва 119881, ул. Россолимо, д. 11. Тел.: +7 (499) 248-63-64; e-mail: zinovyevaolga@yandex.ru.

Ю.В. Казанцева — ст. лаб. кафедры нервных болезней лечебного факультета ПМГМУ;

Г.А. Маслова — асп. кафедры нервных болезней лечебного факультета ПМГМУ;

Е.А. Лысенко — асп., мл. науч. сотр. лаборатории миологии ГНЦ РФ — Института медико-биологических проблем РАН;

Б.С. Шенкман — докт. биол. наук, проф., зав. лабораторией миологии ГНЦ РФ — Института медико-биологических проблем РАН;

Н.Н. Яхно — акад. РАМН, зав. кафедрой нервных болезней лечебного факультета ПМГМУ (Москва)