

ХАРАКТЕРИСТИКА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПРИ ЗЛОУПОТРЕБЛЕНИИ АЛКОГОЛЕМ: ГЕНДЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ

© 2016 г. Б.С. Шенкман*, О.Е. Зиновьева**, С.П. Белова*, Н.Д. Самхаева**,
Н.С. Щеглова**, Т.М. Мирзоев*, Н.А. Вильчинская*, Э.Г. Алтаева*,
О.В. Тургилова*, Т.Л. Немировская* ***

*ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76а;

**Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России,
119991, Москва, ул. Трубецкая, 8/2;

***Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета
имени М.В. Ломоносова, 117191, Москва, Ломоносовский просп., 31/5

E-mail: nemirovskaya@bk.ru

Поступила в редакцию 24.06.16 г.

Проведен гендерный анализ изменения внутриклеточных сигнальных путей, приводящих к развитию хронической алкогольной миопатии. Известно, что на фоне острой или хронической алкогольной интоксикации развивается алкоголь-индуцированное поражение скелетных мышц. Наиболее часто встречается хроническая алкогольная миопатия, которая может развиваться самостоятельно, или в сочетании с другими проявлениями алкогольной болезни (поражением печени, сердечной мышцы, синдром мальабсорбции, или алкогольной полиневропатией). Проявляется это заболевание атрофией скелетных мышц и снижением работоспособности. Большинство работ, посвященных вопросам патогенеза хронической алкогольной миопатии, проведено на мужском контингенте пациентов. Работы, в которых исследовано поражение скелетных мышц при алкогольной интоксикации у женщин, до сих пор отсутствовали.

Ключевые слова: атрофия, мышца, алкоголь, алкогольная миопатия.

Патогенез хронической алкогольной миопатии в настоящее время изучен недостаточно. Ранее было отмечено, что клинически эта миопатия характеризуется прогрессирующей слабостью и гипотрофией проксимальных групп мышц конечностей, чаще в ногах, а при прогрессировании процесса – и в руках, затруднениями при ходьбе, болезненными судорогами в мышцах ног [1,2]. Распространенной является точка зрения, что мужчины употребляют алкоголь чаще и в больших дозах, чем женщины [3]. Хотя другими авторами было отмечено, что при потреблении одинаковых доз алкоголя его концентрация в крови у женщин оказывается выше [4]. Нами впервые было обнаружено, что у обследованных женщин клинические проявления миопатического синдрома более выра-

жены, чем у мужчин, атрофический процесс в мышцах у женщин развивается чаще и при меньшей длительности алкогольной интоксикации [1]. На сегодняшний день в литературе нет информации о том, с чем связаны гендерные различия воздействия алкоголя на скелетные мышцы при длительной алкогольной интоксикации. Нами впервые были проведены такие исследования.

Морфологические изменения в мышцах при злоупотреблении алкоголем. Мы обнаружили, что у мужчин и женщин одной возрастной группы (43–46 лет), употребляющих алкоголь в течение $7,7 \pm 0,6$ и $5,6 \pm 0,6$ лет в дозе $16,1 \pm 1,4$ и 11 ± 1 единиц чистого этанола в сутки (соответственно), атрофия мышечных волокон I и II типов m. vastus lateralis наблюдается только у женщин, несмотря на то, что доза потребляемого алкоголя у них была несколько ниже. (1 единица алкоголя = 10 мл чистого (96%) этанола) [5]). У мужчин при такой же длительности употребления алкоголя атрофии в этой мышце отмечено не было, она появляется позже и начинается с уменьшения площади поперечного сечения мышечных волокон II ти-

Сокращения: IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста 1, IRS-1 – субстрат инсулинового рецептора-1, 4E-BP1 – 4E-связывающий белок-1, p70S6k – киназа S6 рибосомального белка p70, атрогин-1/MAFbx – E3-убиквитин-лигаза (атрогин-1/muscle atrophy F-box), MuRF-1 – E3-убиквитин-лигаза (muscle ring finger 1), mTOR – белок, активность которого блокируется рапамицином (mammalian target of rapamycin).

па [6]. Атрофия мышечных волокон I типа была нами обнаружена у пациентов мужского пола только при продолжительности употребления алкоголя свыше 20 лет. Интересно отметить, что в литературе описаны случаи уменьшения площади поперечного сечения только локомоторных мышц, экспрессирующих изоформы миозина II («быстрого») типа [7,8]. Атрофии «медленной» *m. soleus* у алкоголизированных крыс ранее отмечено не было [9]. Мало того, некоторые авторы полагают, что волокна первого типа не подвержены влиянию этанола [10]. Можно заключить, что у женщин, в отличие от мужчин, наблюдается атрофия как быстрых, так и медленных мышечных волокон уже на ранних стадиях заболевания. Уменьшение площади поперечного сечения мышечных волокон в *m. vastus lateralis* у женщин, злоупотреблявших алкоголем, нельзя считать следствием активации в мышце процессов апоптоза и дегенерации волокон, т.к. достоверного отличия по этому параметру у пациенток относительно контрольной группы не наблюдалось. Мы предположили, что различия в морфологических изменениях скелетных мышц у мужчин и женщин, злоупотребляющих алкоголем в течение длительного периода, могут быть связаны как с поражением дополнительных сигнальных путей, контролируемых анаболические и катаболические процессы в мышце, так и с гендерными отличиями в отношении чувствительности к действию алкоголя.

Содержание активных форм кислорода как фактор, влияющий на мышечную массу при злоупотреблении алкоголем. Некоторые авторы считают, что окислительный стресс может быть одной из главных причин атрофии мышц [11–13]. Однако вопрос, является ли увеличение активных форм кислорода действительно причиной атрофии, обсуждается до сих пор [14–16]. Некоторые недавние исследования подтверждают эту точку зрения, мнение других авторов неоднозначно [14,17–19]. Мы не обнаружили изменения содержания активных форм кислорода в мышце женщин-пациенток по сравнению с женщинами контрольной группы, в то время как у пациентов-мужчин их содержание было существенно выше, чем в группе контроля. Так как мы показали, что площадь поперечного сечения мышечных волокон в *m. vastus lateralis* женщин-пациенток была существенно ниже, чем у пациентов-мужчин, различия в содержании активных форм кислорода вряд ли могут являться причиной атрофии мышцы при злоупотреблении алкоголем.

Экспрессия инсулиноподобного фактора роста 1 при длительном употреблении алкоголя.

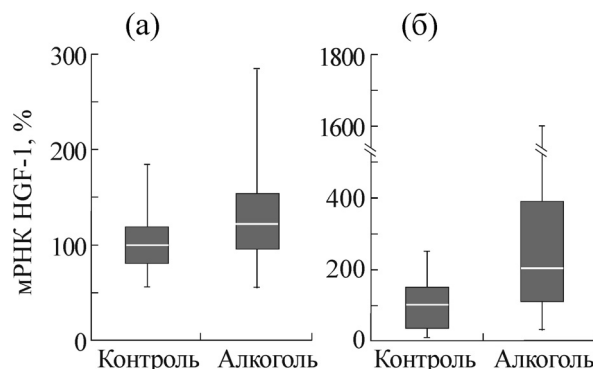


Рис. 1. Содержание мРНК HGF-1 в мышцах мужчин (а) и женщин (б), злоупотреблявших алкоголем, оценивали относительно соответствующих контрольных групп. Результаты представлены в виде максимума, минимума, медианы и интерквартильной широты (0,25–0,75).

Снижение мышечной массы происходит из-за разбалансировки между скоростью белкового синтеза и распада. Интересно отметить, что снижение содержания такого анаболического агента как инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1) в плазме крови при злоупотреблении алкоголем наблюдалось и у мужчин (у которых не выявлено атрофии мышечных волокон), и у женщин [1,2]. О снижении концентрации IGF-1 в плазме крови сообщалось ранее [20]. В то же время экспрессия мРНК IGF-1 в *m. vastus lateralis* как мужчин, так и женщин не была снижена относительно группы контроля (рис. 1). Это может свидетельствовать о том, что снижение концентрации IGF-1 в плазме крови может быть следствием уменьшения экспрессии IGF-1 в других органах (например, в печени), но не в скелетной мышце при злоупотреблении алкоголем. Имеется более раннее сообщение о снижении уровня IGF-1 в мышце у крыс [21,22], что не согласуется с нашими результатами, полученными на мышцах пациентов. Это несоответствие может быть связано с различием биологических объектов, исследуемых мышц, длительности употребления алкоголя и т.д. Данный вопрос, по-видимому, требует дополнительных исследований.

Работа сигнальных путей, контролирующих процессы синтеза белка в скелетных мышцах при алкоголизме. Большинство научных работ, изучающих сигнальные пути, которые могут повреждаться при алкогольной интоксикации, выполнено с использованием модели алкоголизации животных. Гораздо меньше работ проведено с человеком как объектом исследования. Практически отсутствует анализ причин развития хронической алкогольной миопатии у женщин. Если наблюдается снижение уровня IGF-1

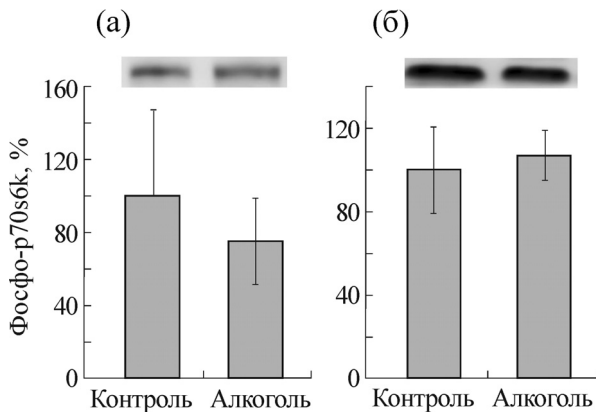


Рис. 2. Содержание p-P70S6k в мышцах мужчин (а) и женщин (б), злоупотреблявших алкоголем, оценивали относительно соответствующих контрольных групп. Результаты представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки.

в плазме крови при длительном употреблении алкоголя, сказывается ли это на скорости анаболических процессов в скелетных мышцах? Субстрат инсулинового рецептора-1 (IRS-1) играет ключевую роль в передаче сигнала от рецептора IGF-1 к анаболическим PI3K/Akt/mTORC1- и ERK1/2-сигнальным путям. Снижение уровня IRS-1 было обнаружено ранее в мышце алкоголизованных крыс [23]. Авторы связывали это уменьшение с увеличением активности протеин-тирозин фосфатазы-1B и инсулин-рецепторного сигнального пути при хроническом потреблении алкоголя. Есть ли отличия в передаче этого сигнала в мышцах мужчин и женщин, злоупотребляющих алкоголем? Как уже было отмечено выше, имеющиеся сообщения о регуляции сигнальных путей белкового синтеза в скелетных мышцах относятся к работам, выполненным на алкоголизованных крысах и мышцах, и касаются только быстрых мышц *gastrocnemius* и/или *plantaris*, состоящих из волокон II типа [24]. Мы обнаружили одинаковое 50%-е снижение уровня IRS-1 в *m. vastus lateralis* у пациентов мужского и женского пола относительно соответствующих контрольных групп. Указанная мышца является смешанной, состоящей из мышечных волокон I и II типов, что свидетельствует о чувствительности к алкоголю также и волокон I типа. Белковый синтез в скелетной мышце регулируется в основном mTORC1-сигнальным каскадом, который стимулирует фосфорилирование его главных субстратов: киназы S6 и эукариотического фактора инициации 4E-связывающего белка-1 (4E-BP1). Ранее в работе [25] сообщалось о снижении фосфорилирования киназы S6 рибосомального белка p70 (p70S6K) у старых алкоголизованных крыс, что, однако, не все-

гда подтверждалось [26,27]. Мы получили противоречивые результаты по этому показателю у пациентов с хронической алкогольной интоксикацией: в одной из ранних работ мы обнаружили снижение уровня фосфорилирования p70S6k [5] у пациентов смешанной гендерной группы, а в нашем последнем исследовании мы не нашли снижения фосфорилирования p70S6k ни у мужчин, ни у женщин, злоупотреблявших алкоголем (рис. 2). Этот факт может быть связан с тем, что длительность употребления алкоголя у этих пациентов не превышала 10 лет, кроме того, пациенты были разделены по гендерному признаку. Уровень киназы 3 β гликоген-синтазы, который может регулироваться фосфо-p70S6k, у наших пациентов также не отличался от контрольной группы и не выявлял гендерных различий. В работах [21,22,24] сообщалось о снижении белкового синтеза в мышцах из-за подавления mTOR-зависимой инициации трансляции в экспериментах с алкоголизованными крысами. Одновременно высказывалось предположение, что изменение уровня фосфорилирования 4E-BP1 может быть связано как с mTORC1-зависимыми, так и с mTORC1-независимыми механизмами [24]. Ранее отмечалось, что при исследовании алкоголизованных самок крыс у них в отличие от самцов не было обнаружено снижения уровня фосфорилированного 4E-BP1 [28], что может быть связано с гендерными различиями в регуляции процессов инициации трансляции при введении алкоголя. Мы показали существенное снижение уровня фосфо-4E-BP1 (Thr 37/46) как у пациентов-мужчин, так и у женщин на 37 и 47% соответственно ($p < 0,05$). Таким образом, мы не можем подтвердить выводы о наличии гендерных различий в регулировании процессов инициации трансляции при действии алкоголя на скелетные мышцы.

Анаболические процессы в мышце могут регулироваться не только mTORC1-, но и ERK1/2-сигнальным путем. К последнему относится рибосомальная киназа p90RSK1, которая способна фосфорилировать рибосомальный белок S6 независимо от mTORC1 (или p70S6k). В литературе роль ERK1/2-сигнального пути в регуляции анаболических процессов скелетных мышц при хроническом потреблении алкоголя не изучена. Ранее нами было показано снижение фосфорилирования p90RSK1 при хронической алкоголизации самцов крыс Wistar [27]. Однако сейчас мы показали, что содержание фосфорилированного p90RSK1 было существенно ниже только у злоупотребляющих алкоголем мужчин (на 30% относительно уровня контроля), но не у женщин.

Можно заключить, что промежуточные компоненты каскада mTORC1 анаболического сигнального пути (p70S6k и киназа β гликоген-синтазы) на ранней стадии развития хронической алкогольной миопатии у мужчин и женщин между собой не различаются, в то время как регуляция процессов инициации трансляции (фосфо-p4E-BP1) ухудшается у всех пациентов в одинаковой степени. В то же время у пациентов мужского пола поражается работа ERK1/2-сигнального пути (судя по изменению маркера фосфо-p90RSK1). Однако мы видим, что атрофические процессы в скелетной мышце у женщин, злоупотребляющих алкоголем, развиваются быстрее, чем у мужчин.

Работа сигнальных путей, контролирующих процессы деструкции белка в скелетных мышцах при алкоголизме. Распространена точка зрения о том, что при злоупотреблении алкоголем сигнальные системы, иницирующие распад белка, страдают в меньшей степени, чем иницирующие синтез [24]. Белковая деградация регулируется как убиквитин-протеасомным сигнальным путем, так и аутофагово-лизосомальной системой. Так, ранее было обнаружено, что активность кальпаинов 1 и 2 не различается у алкоголизованных крыс и контрольных животных [29]. Мы обнаружили повышение в мышцах мужчин и женщин содержания кальпаина-1 на 30 и 20% соответственно относительно контрольного уровня. Некоторые исследователи обнаруживали повышение содержания мРНК таких E3-лигаз, как MuRF-1 и atrogen-1 в мышцах алкоголизованных крыс [25]. Эти E3-лигазы обычно используются как маркеры убиквитин-протеасомной активности. Другие исследователи таких изменений при хронической алкогольной интоксикации не обнаруживали [2,5,6,27]. Мы также не обнаружили изменения уровня мРНК этих E3-лигаз в *m. vastus lateralis* у пациентов, злоупотреблявших алкоголем. В то же время убиквитинирование белков в мышце как у мужчин, так и у женщин было повышено относительно соответствующих контролей на 80 и 35% соответственно. Известно, что в мышце находится больше 100 E3-лигаз, которые могут убиквитинировать белки. Поэтому увеличение уровня убиквитинирования белков в мышце пациентов, злоупотребляющих алкоголем, могло осуществляться не только E3-лигазами MuRF-1 и atrogen-1. Уровень фосфорилирования элонгационного фактора eEF2 у женщин не меняется, а у мужчин – увеличивается. Фосфорилирование eEF2 киназой eEF2k предотвращает его транслокацию в ядро, блокируя элонгацию и синтез белка.

ВЫВОДЫ

Полученные данные позволяют заключить, что: 1) у женщин, злоупотребляющих алкоголем, атрофия мышц происходит гораздо быстрее, чем у мужчин, и выражена в большей степени; при этом атрофии подвергаются как быстрые, так и медленные мышечные волокна; 2) как у мужчин, так и у женщин маркеры mTORC1 сигнального пути не подвергаются изменениям, в то время как работа ERK1/2 сигнального пути (судя по маркеру p-p90RSK1) угнетается только у мужчин при продолжительности периода алкоголизации до 10 лет; 3) активность убиквитин-протеасомной системы и кальпаинов увеличена в одинаковой степени у мужчин и женщин, злоупотреблявших алкоголем. Вероятно, отличия между мужчинами и женщинами по степени выраженности и характеру атрофического процесса в скелетной мышце могут объясняться снижением у мужчин рибосомального биогенеза.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-15-00392).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. О. Е. Зиновьева и Б. С. Шенкман, Неврологический журн. **12** (5), 4 (2007).
2. О. Е. Зиновьева, А. Ю. Емельянова, Н. Д. Самхаева и др., Физиология человека **42**, 3 (2016).
3. R. A. Cormier, C. A. Dell and N. Poole, BMC Women's Health **4**, 1 (2004).
4. M. S. Mumenthaler, J. L. Taylor, R. O'Hara, et al, Alcohol Res. Health **23**, 1 (1999).
5. Ю. В. Казанцева, О. Е. Зиновьева, Б. С. Шенкман и др., Нервно-мышечные болезни, № 2, 35 (2013).
6. Т. Л. Немировская, Б. С. Шенкман, О. Е. Зиновьева и др., Физиология человека, **41**, 6 (2015).
7. R. Freilich, R. Kirsner, G. Whelan, et al., Drug Alcohol Rev. **15** (3), 277 (1996).
8. A. Hanid, G. Slavin, W. Mair, et al. J Clin Pathol. **34**, 991 (1981).
9. M. E. Reilly, G. McKoy, D. Mantle, et al., J. Muscle Res. Cell Motil., **21**, 8 (2000).
10. J. Adachi, M. Asano, Y. Ueno, et al., J. Nutr. Biochem. **14**, 11 (2003).
11. S. K. Powers, A. N. Kavazis and K. C. DeRuisseau, Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. **288**, 2 (2005).
12. J. S. Moylan and M. B. Reid, Muscle & Nerve **35**, 4 (2007).
13. S. K. Powers, J. Duarte, A. N. Kavazis, et al., Exp. Physiol. **95**, 1 (2010).
14. L. Brocca, M. A. Pellegrino, J. F. Desaphy, et al., Exp. Physiol. **95**, 2 (2010).

15. M. A. Pellegrino, J. F. Desaphy, L. Brocca, et al., *J. Physiol.* **1**, 589 (2011).
16. S. K. Powers, A. J. Smuder, and A. R. Judge, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **15**, 3 (2012).
17. J. F. Desaphy, S. Pierno, A. Liantonio, et al., *Pharmacol. Res.* **61**, 6 (2010).
18. E. I. Glover, N. Yasuda, M. A. Tarnopolsky, et al., *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **35**, 2 (2010).
19. H. Kuwahara, T. Horie, S. Ishikawa, et al., *Free Radic. Biol. Med.* **1** (48), 9 (2010).
20. C. H. Lang, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **31**, 8 (2007).
21. C. H. Lang, R.A. Frost, N. Deshpande, et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **285** (6), E1205 (2003).
22. C. H. Lang, R. A. Frost, E. Svanberg, et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **286**, E916 (2003).
23. L. Gao, X. Zhang, F. Wang, et al., *Acta Pharmacol. Sinica* **31** (12) 1576 (2010).
24. J. L. Steiner and C. H. Lang, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **308** (9) E699 (2015).
25. D. H. Korzick, D. R. Sharda, A. M. Pruznak, et al., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **304**, R887 (2013).
26. V. Kumar, R. A. Frost, and C. H. Lang, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **283**, E917 (2002).
27. E. A. Lysenko, O. V. Turtikova, E. V. Morozkina, et al., *Neurosci. Behav. Physiol.* **43**, 8 (2013).
28. C. H. Lang, R. A. Frost, and T. C. Vary, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **292**, E1497 (2007).
29. M. Koll, S. Ahmed, D. Mantle, et al., *Metabolism* **51**, 97 (2002).

A Response of Skeletal Muscle to Alcohol Intoxication: Gender Differences

B.S. Shenkman*, **O.E. Zinovyeva****, **S.P. Belova***, **N.D. Samkhaeva****,
N.S. Shcheglova**, **T.M. Mirzoev***, **N.A. Vilchinskaya***, **E.G. Altaeva***,
O.V. Turtikova*, and **T.L. Nemirovskaya* *****

**Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Khoroshevskoe shosse 76a, Moscow, 123007 Russia*

***The First Sechenov Moscow State Medical University of the Russian Ministry of Health,
ul. Trubetskaya 8/2, Moscow, 119991 Russia*

****Faculty of Basic Medicine, Lomonosov Moscow State University,
Lomonosovskii prosp. 31/5, Moscow, 117191 Russia*

A gender analysis has been conducted to analyze changes in intracellular signaling pathways that lead to the development of chronic alcoholic myopathy. It is known that acute or chronic alcohol intoxication can result in alcohol-induced lesions in skeletal muscles. A chronic alcoholic myopathy occurs much more frequently and can develop either independently or in combination with other forms of alcoholic disease (liver and heart lesions, malabsorption syndrome or alcohol polyneuropathy). This disease is manifested by atrophy of skeletal muscles and performance decrement. Most of the studies on the pathogenesis of chronic alcoholic myopathy have been carried out with male patients. Studies on alcoholic myopathy-induced muscle damage in women have not been previously reported.

Key words: atrophy, muscle, alcohol, alcoholic myopathy