

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М.  
СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ  
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

---

*На правах рукописи*

Самхаева Нюдля Дорджиевна

**Диагностика и патогенез алкоголь-индуцированного поражения  
скелетных мышц**

14.01.11 – Нервные болезни

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук.

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

Зиновьева Ольга Евгеньевна

Москва - 2019

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Введение</b>	3
<b>Глава 1.</b> Обзор литературы.	8
<b>Глава 2.</b> Материалы и методы исследования.	25
<b>Глава 3.</b> Клиническая характеристика пациентов.	45
<b>Глава 4.</b> Результаты лабораторных методов исследования	53
<b>Глава 5.</b> Результаты электрофизиологического обследования	59
<b>Глава 6.</b> Результаты МРТ-исследования мышц бедер	68
<b>Глава 7.</b> Результаты морфологического и иммуногистохимического методов исследования	75
<b>Глава 8.</b> Результаты электрофоретического исследования содержания и уровня фосфорилирования титина и небулина	80
Клинические примеры	83
<b>Глава 9.</b> Обсуждение	97
<b>Выводы</b>	108
<b>Практические рекомендации</b>	110
<b>Список сокращений</b>	111
<b>Библиографический список использованной литературы</b>	113

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность проблемы и степень разработанности темы исследования**

Несмотря на тенденцию к снижению, уровень потребления спиртных напитков в России остается высоким, снижая качество и продолжительность жизни лиц трудоспособного возраста. Одним из наиболее частых осложнений алкогольной болезни является хроническая алкогольная миопатия (ХрАМ), характеризующаяся прогрессирующей слабостью и гипотрофией проксимальных групп мышц конечностей, нормальным уровнем креатинфосфокиназы (КФК) в плазме крови и отсутствием типичного миопатического паттерна по данным игольчатой электромиографии (ЭМГ) [12, 40, 45]. Ведущим механизмом развития мышечной атрофии при хронической алкогольной миопатии является снижение белкового синтеза [124]. По данным ряда авторов, в атрофический процесс вовлекаются преимущественно мышечные волокна II (быстрого) типа, а по мере прогрессирования заболевания – и волокна I (медленного) типа [93, 94]. В 2011 году в работе «Патогенетические механизмы алкогольной миопатии» Ю.В. Казанцевой получены аналогичные данные, а также обнаружено снижение содержания рибосомальных киназ и уровня их фосфорилирования, что является маркером атрофического процесса в скелетной мышце [13]. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о снижении синтеза сократительных и цитоскелетных белков скелетных мышц при ХрАМ [108]. В то же отсутствуют данные о состоянии структуры и функции скелетных мышц при хронической алкогольной миопатии у человека. В диагностике ХрАМ «золотым стандартом» признана биопсия проксимальной мышцы конечности (дельтовидная мышца, четырехглавая мышца бедра) с последующим морфологическим и морфометрическим исследованием [3, 12, 114]. Однако, инвазивность метода, вероятность получения ложноотрицательных результатов в связи с неоптимальным выбором мышцы, делают

обоснованным поиск дополнительных методов диагностики поражения скелетных мышц при хронической алкогольной интоксикации. Получены данные об информативности метода магнитно-резонансной томографии (МРТ) для диагностики поражения скелетных мышц при злоупотреблении алкоголем [34]. Однако исследование, в ходе которого оценивалось состояние дистальных групп мышц нижних конечностей, было проведено на низкопольном аппарате напряженностью магнитного поля 0,2 Тесла.

Таким образом, вопрос изучения механизмов поражения скелетных мышц и поиск новых неинвазивных методов ранней диагностики ХрАМ остается открытым, и делает актуальными дальнейшие исследования.

### **Цель исследования**

Оптимизировать диагностику хронической алкогольной миопатии с помощью нейровизуализационного, морфологического и морфометрического обследования.

### **Задачи исследования**

- 1) Изучить частоту встречаемости ХрАМ по результатам клинического, нейровизуализационного и морфологического обследования.
- 2) Оценить роль гендерного фактора в развитии ХрАМ
- 3) Изучить состояние ростовых гуморальных факторов (инсулиноподобного фактора роста – IGF-I) у пациентов с ХрАМ.
- 4) Оценить информативность метода МРТ мышц бедер для диагностики алкоголь-индуцированного поражения скелетных мышц.
- 5) Изучить морфометрические проявления хронической алкогольной миопатии.
- 6) Исследовать состояние структурных белков саркомера (титина и небулина) и их роль в развитии миопатии при хронической алкогольной интоксикации.

### **Научная новизна**

В работе впервые проведена комплексная диагностика ХрАМ, включающая клиническое, лабораторное, нейровизуализационное,

морфологическое и иммуногистохимическое обследование пациентов с длительной этаноловой интоксикацией.

Представлена оценка роли гендерного фактора в развитии ХрАМ. Выявлена большая чувствительность лиц женского пола к негативному влиянию алкоголя при сопоставимой с пациентами мужского пола длительности и дозы потребляемого алкоголя.

Впервые в диагностике ХрАМ использован метод МРТ скелетных мышц, который показал информативность в выявлении доклинической стадии заболевания, определении наиболее пораженной группы мышц и оценке развития мышечной атрофии.

Уставлено участие структурных белков саркомера - титина и небулина в патогенезе атрофического процесса скелетных мышц при хронической алкогольной интоксикации.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Данные, полученные в результате проведенного комплексного обследования пациентов, длительно злоупотребляющих алкоголем, свидетельствуют о высокой частоте встречаемости ХрАМ, которая зачастую остается нераспознанной.

Показана информативность шкалы жировой дегенерации E. Mercuri при МР-диагностике поражения мышц у пациентов с хронической алкогольной интоксикацией.

Результаты клинического, нейрофизиологического и МР-исследования пациентов с запойным характером потребления алкоголя свидетельствуют о развитии у них остро/подострой полиневропатии смешанного генеза в сочетании с ХрАМ. Полученные в ходе проведенного исследования результаты указывают на целесообразность разделения пациентов по

гендерному признаку при оценке атрофического процесса скелетных мышц при ХрАМ.

### **Методология и методы исследования**

Объект исследования - 27 пациентов, злоупотребляющие алкоголем более 3 лет. Обследование проводилось на базе Клиники нервных болезней им.А.Я. Кожевникова Университетской клинической больницы №3 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Проводилась клиническая оценка неврологического статуса. Лабораторное обследование включало исследование уровня печеночных ферментов, креатинфосфокиназы и инсулин-подобного фактора роста-I. Электрофизиологическое обследование – стимуляционная и игольчатая ЭМГ, включало оценку СРВ по двигательным и чувствительным волокнам нервов конечностей, амплитуды моторных и сенсорных ответов, параметров ПДДЕ и спонтанной активности мышечных волокон и двигательных единиц. Проведено визуализационное исследование - магнитно-резонансная томография мышц бедер. Выполнена открытая биопсия латеральной головки четырехглавой мышцы бедра с последующим морфологическим, иммуногистохимическим исследованием биоптата, а также электрофорез структурных белков скелетных мышц.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

- 1) В развитии ХрАМ отмечаются гендерные различия: женщины более чувствительны токсическому действию этанола и продуктов его метаболизма.
- 2) Метод МРТ мышц бедер является информативным для ранней доклинической диагностики поражения скелетных мышц при ХрАМ.
- 3) Структурные белки цитоскелета: титин и небулин, принимают участие в развитии мышечной слабости и атрофии скелетных мышц при ХрАМ.

### **Личный вклад автора**

Автору принадлежит определяющая роль в разработке и выполнении протокола исследования, постановке цели и задач исследования,

формулировании выводов и практических рекомендаций. Автором самостоятельно проведен сбор анамнеза, клинический неврологический осмотр, проанализированы результаты электрофизиологического и МРТ обследования. Самостоятельно проведена статистическая обработка и анализ полученных данных. Подготовлены статьи и устные доклады с последующей публикацией в научных журналах и участием в научных конференциях.

### **Степень достоверности и апробация работы**

Достоверность полученных результатов определяется достаточным количеством наблюдений, основанной на адекватной выборке пациентов с учетом разработанных критериев включения, четкой постановкой цели и задач, использованием в работе современных электрофизиологических, визуализационных, патоморфологических методов исследования, а также высокоточной статистической обработке результатов с использованием пакета профессиональных программ статистического анализа.

Диссертационная работа была апробирована и рекомендована к защите на заседании кафедры нервных болезней и нейрохирургии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 17.09.2019г протокол №2.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ. В журналах базы цитирования Scopus опубликованы 2 статьи, 9 статей опубликованы в журналах рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 125 страницах, состоит из введения, 9 глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 13 рисунками, содержит 27 таблиц, список литературы, включающего 127 источника, в том числе 26 отечественных и 101 зарубежных.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Комитетом экспертов ВОЗ алкоголь рассматривается, как вещество, обладающее «...токсическим действием, которое может нанести вред практически любой системе или любому органу организма; может усиливать существующие психические и физические расстройства; может негативно взаимодействовать в организме с другими предписанными лекарственными препаратами или незаконными наркотиками; являясь веществом, вызывающим интоксикацию, связан с разнообразными видами травм, как преднамеренных, так и непреднамеренных; и может вызывать синдром наркотической зависимости с такой способностью вызывать злоупотребление, которая сопоставима с другими вызывающими зависимость веществами, подлежащими международному контролю.» [20]. Интерес к синдрому алкогольной зависимости и создание «Глобальной стратегии по снижению злоупотребления алкоголем» на международном уровне свидетельствует о масштабе проблемы и ее актуальности для мирового сообщества.

В докладе Всемирной организации здравоохранения 2017 года указано, что уровень потребления спиртных напитков в России за период с 2005 по 2015 годы сократился на 3,5 литра на душу населения [126]. Средний уровень потребления алкоголя в России, согласно отчету Роспотребнадзора за 2017 год, составил около 10 литров на человека, что в полтора раза меньше, чем в 2009 году. Тем не менее, этот показатель все еще превышает допустимый ВОЗ - 8 литров этанола на человека в год [17]. Несмотря на наличие положительной тенденции в отношении снижения потребления спиртных напитков в нашей стране, по данным Роспотребнадзора от алкоголя ежегодно умирают около полумиллиона россиян [18]. В настоящее время установлено, что не существует безопасного уровня потребления алкоголя, и любой уровень потребления становится причиной потери здоровых лет жизни, нередко приводя к утрате трудоспособности [35].

Употребление спиртных напитков имеет не только непосредственное негативное влияние на здоровье человека, а также опосредованное, мешая проявлению рациональных потребностей человека и полноценному выполнению им социальных функций. Алкоголь наносит так называемый био-психо-социальный ущерб. Социальные последствия пьянства весьма широки и оказывают отрицательное влияние на различные стороны жизни общества, такие как рост соматических и онкологических заболеваний, преждевременная смертность (в том числе в результате несчастных случаев), разрушение института семьи и брака, безнадзорность детей. В последние годы растет потребление алкоголя подростками, что может негативно сказаться на состоянии здоровья в целом и ее репродуктивной составляющей, на процесс социальной адаптации в обществе. Отрицательные последствия чрезмерного приема алкоголя приводят к различным проблемам с соблюдением закона и общественного порядка [2, 3, 4]. Колоссальны и экономические потери общества вследствие дезорганизации производства, повышения травматизма и аварийности, профессиональной деградации и роста преступности. Ущерб от алкоголя представляет значительное экономическое бремя для отдельных лиц, семей и государства в целом и связан с медицинскими расходами, снижением производительности труда.

Существуют гендерные различия заболеваемости и смертности, связанных с алкоголем. Процент всех случаев смерти, обусловленных приемом алкоголя, у мужчин составляет 7,7%, у женщин - 2,6%. Количество потребляемого алкоголя в год на душу населения в 2016 году среди мужчин и женщин во всем мире составило 19,4л л и 7,0 л чистого спирта соответственно [127]. Установлены различия в метаболизме алкоголя между мужчинами и женщинами, выражающиеся в скорости всасывания и, вследствие этого его в содержании в крови. Предиктором этих различий являются большая масса тела, а следовательно, и объем распределения алкоголя у мужчин. Низкий уровень алкогольдегидрогеназы в слизистой желудка у женщин, приводит к увеличению объема всасываемого алкоголя и

более выраженной интоксикации [39]. На метаболизм этанола оказывают влияние половые гормоны [82]. В частности повышение уровня эстрогена в первую фазу менструального цикла, сопровождается повышением уровня ацетальдегида, что способствует увеличению содержания этанола в крови и, как следствие, приводит к развитию более выраженной алкогольной интоксикации у женщин [19, 25, 26].

Медицинским сообществом принят термин «алкогольная болезнь» - заболевание, при котором длительная интоксикация этанолом приводит к возникновению характерных структурных изменений в органах и системах организма, проявляющихся соответствующей клинической симптоматикой [16]. Основными мишенями негативного действия этанола являются: печень, центральная и периферическая нервная системы, желудочно-кишечный тракт, миокард и скелетные мышцы [5, 11]. На наличие хронической алкогольной интоксикации у пациентов дополнительно могут указывать появление контрактуры Дюпюитрена, телеангиэктазии на лице и двусторонняя гипертрофия околоушных желез. Известно, что этанол хорошо всасывается в желудке, однако большая его часть всасывается в тонком кишечнике. Основной путь метаболизма этанола происходит в печени. Под воздействием алкогольдегидрогеназы и цитохрома P-450 (CYP) 2E1 этанол преобразуется в ацетальдегид [14, 88]. Негативные эффекты алкоголя обусловлены непосредственным действием этанола и его метаболита ацетальдегида на органы-мишени. К характерным лабораторным признакам хронической алкогольной интоксикации относятся повышение уровня печеночных ферментов: гамма-глутамилтранспептидазы (Г-ГТ), аспартат-аминотрансферазы (АСТ) и аланин-аминотрансферазы (АЛТ); а также снижение гематокрита, гипоальбуминемия и удлинение протромбинового времени. Указанные изменения свидетельствуют о нарушении функции и структуры печеночной ткани [14, 87].

Одним из частых и при этом наименее изученным осложнением алкогольной болезни является поражение скелетных мышц при хронической этаноловой интоксикации. Впервые мышечная слабость, развившаяся на фоне длительного употребления алкоголя, описана в 1822 году Д.Джексоном [65]. Ранее развитие мышечной слабости объяснялось наличием денервационных изменений мышц на фоне алкогольной полиневропатии. В опровержение данного факта и в пользу предположения независимого развития миопатии послужило морфологическое исследование биоптатов скелетных мышц, проведенное в 1986 году, по результатам которого не было выявлено группового некроза мышечных волокон, характерного для денервационных изменений [84]. Опубликованы работы, где описаны изменения скелетных мышц в виде атрофии мышечных волокон с преимущественным поражением волокон II типа [80]. В зависимости от синтезируемых в мышечном волокне изоформ тяжелых цепей миозина выделяют волокна двух типов: I (медленные) с аэробным типом метаболизма и IIa, IIx, IIb (быстрые) – окислительно-гликолитические [15, 33]. Преобладание того или иного типа изоформ тяжелых цепей миозина определяет скорость и силу мышечного сокращения, и соответственно метаболический тип его энергетического обеспечения. Наличие атрофического процесса определяется путем измерения площади поперечного сечения мышечных волокон различных типов и сравнения их с результатами в группе контроля, которую составляют здоровые добровольцы [102, 105].

Согласно современным представлениям алкогольная миопатия развивается независимо от других проявлений алкогольной болезни, таких как поражение печени (15-90%), желудочно-кишечного тракта (30-50%), центральной нервной системы (7-10%), полиневропатии (50-67%), при этом нередко с ними сочетается [45]. Различают несколько клинических форм алкогольной миопатии, которые объединены собирательным термином – «алкоголь-индуцированное поражение мышц» (АИПМ) [3, 12]. Выделяют

две основные формы поражения мышечной ткани в рамках данного состояния: острая (1-5%) и хроническая алкогольная миопатия (40-60%) [40]. Отдельную группу составляет алкогольная кардиомиопатия (15-35%), к проявлениям которой относятся: снижение сократительной функции миокарда и сердечного выброса, нарушения ритма сердечных сокращений. В настоящее время алкоголизм считают одной из наиболее частых причин поражения сердечной мышцы неишемического генеза [3, 27, 43].

На долю острой алкогольной миопатии приходится 1-5% случаев. Данная форма АИПМ проявляется слабостью преимущественно в проксимальных группах мышц, сопровождающейся резкой болезненностью и отеком пораженных мышц и лабораторными признаками рабдомиолиза (значительное повышение уровня креатинфосфокиназы в плазме крови, миоглобинурия) [11, 12, 40, 67]. Острая алкогольная миопатия, как правило, развивается на фоне тяжелого запоя. Результаты игольчатой ЭМГ указывают на наличие денервационной активности в виде потенциалов фибрилляций и уменьшения амплитуды и длительности потенциалов действия двигательных единиц (ПДДЕ). Результаты морфологического исследования выявляют некроз различных типов волокон (рабдомиолиз) и нарушение структуры саркомера [80]. Полученные данные послужили основанием для определения данной клинической формы алкогольной миопатии, как острая некротизирующая миопатия с высоким риском развития острой почечной недостаточности [59, 106]. Патогенез острой алкогольной миопатии остается неясным. Обсуждаются такие факторы, как прямое токсическое действие алкоголя и ацетальдегида, электролитные нарушения в виде гипокалиемии и гипофосфатемии [29, 85]. Высокий риск развития острой почечной недостаточности, обусловленный миоглобинурией, требует проведения гемодиализа и нередко приводит к летальному исходу. В более благоприятных условиях процесс восстановления занимает несколько недель или месяцев. Также к острым алкогольным миопатиям относят острую гипокалиемическую миопатию, которая характеризуется генерализованной

мышечной слабостью и, в отличие от некротизирующей алкогольной миопатии, отсутствием болезненности и отечности пораженных мышц. Содержание калия в плазме крови, как следует из названия, снижено и находится в пределах 1,4 – 2,1 ммоль/л (норма 3,6 – 6,3 ммоль/л), а уровень креатинфосфокиназы значительно повышен. При морфологическом исследовании может определяться некроз отдельных мышечных волокон и изменения структуры вакуолей [85].

Наиболее часто встречающейся клинической формой алкоголь-индуцированного поражения мышц является хроническая алкогольная миопатия, которая выявляется в 40-60% случаев и представляет совокупность сложных биохимических, структурных и физиологических изменений скелетной мышцы, которые развиваются вследствие длительной алкогольной интоксикации и приводят к потере мышечной силы и массы [40, 104].

В результате ряда исследований на экспериментальных животных и человеке установлено, что морфологической основой хронической алкогольной миопатии является атрофия мышечных волокон без признаков фиброза, некроза и воспалительной инфильтрации. Анализ результатов большого числа исследований показал, что при хронической алкогольной миопатии преимущественно страдают волокна II типа, в меньшей степени - волокна I типа. Однако, при более длительном употреблении алкогольных напитков, атрофии подвергаются мышечные волокна обоих типов. Степень и тяжесть мышечной атрофии находится в прямой зависимости от длительности потребления алкоголя и не зависит от его количества [12, 13].

В основе патогенеза развития ХрАМ рассматривается дисбаланс между синтезом белка и протеолизом [86]. В большинстве работ показано, что в генезе атрофии мышечных волокон при хроническом потреблении алкоголя преобладают процессы снижения синтеза белка, в то время как активность протеолиза не изменяется или повышается незначительно [79, 117]. Снижение синтеза белка происходит вследствие нарушения процесса

системной регуляции белка скелетных мышц. К основным системным регуляторам относят соматотропный гормон, инсулиноподобный фактор роста – I (IGF-I) и его основной связывающий белок [36, 48].

IGF-I принадлежит к семейству белков, обеспечивающих пролиферацию и дифференцировку клеток и обладающих инсулиноподобным действием. Более 95 % IGF-I синтезируется гепатоцитами. В крови и других биологических жидкостях данный белок связывается со специфическими белками, которые выполняют функцию модуляторов его активности. В экспериментальных работах, а также в клинических исследованиях, выявлено снижение уровня циркулирующего в крови IGF-I при хроническом потреблении алкоголя в основном за счет снижения скорости синтеза и секреции его печенью [49, 85, 96]. Действие IGF-I в мышечном волокне реализуется через сложный каскад сигнальных молекул. Ведущую роль в этом процессе играет фермент mTOR (mammalian target of rapamycin) – протеинкиназа, посредством которой, обеспечивается передача сигнала о синтезе белка в скелетной мышце [100]. Показано, что хроническое потребление алкоголя обуславливает токсическое поражение ряда ключевых звеньев сигнальной системы mTOR [74, 75, 91, 109]. При этом существенную роль в передаче сигнала от инсулина и IGF-I к PI3-киназе/Akt/mTOR сигнальному пути, который стимулирует ряд нижележащих воспринимающих молекул, имеющих влияние на специфические компоненты трансляционного аппарата, играет Insulin receptor substrate 1 (IRS-1). В экспериментальных исследованиях показано, что при острой и хронической алкогольной интоксикации снижается как общее количество, так и уровень фосфорилирования и содержание активной формы киназ P70 S6K и P90 RSK, которые принимают участие в передаче сигнала от IGF-I к mTOR [75, 92]. Аналогичные изменения выявлены и в клиническом исследовании, причем снижение экспрессии и фосфорилирования P70 S6K и P90 RSK киназ выявлялось и мышцах, не затронутых атрофическим процессом. [13]. Следовательно, нарушение

регуляции белкового синтеза опережает развитие морфологических проявлений атрофического процесса в скелетной мышце при хронической алкогольной интоксикации. После прекращения приема алкоголя компоненты mTOR сигнальной системы восстанавливаются. Таким образом, в дальнейшем определение уровня IGF-I в плазме крови может быть использовано в качестве показателя активности белково-синтетической функции печени и служить маркером ранних проявлений атрофического процесса скелетных мышц на фоне хронической алкогольной интоксикации.

Помимо инсулиноподобного фактора роста - I, mTOR-комплекс может быть активирован аминокислотой лейцин. В экспериментальных работах у предварительно алкоголизированных лабораторных животных применение лейцин-содержащей аминокислотной смеси приводило к ускорению процессов восстановления размеров быстрых мышечных волокон [13, 32].

Обсуждается также прямое токсическое действие этанола и его основного метаболита – ацетальдегида на сократительные белки скелетных мышц и миокарда, структуры и органеллы мышечной клетки [54]. Наиболее чувствительными к действию этанола и его метаболитов органеллами клетки являются митохондрии. В ряде исследований показано изменение нормального строения структуры крист митохондрий, ведущее к нарушению их функций, угнетению антиоксидантной защиты клетки на фоне хронической алкогольной интоксикации [28, 41].

В дополнение к выработке энергии, митохондрии являются основным источником активной формы кислорода. Ряд исследователей выявляют существенную роль оксидативного стресса в патогенезе ХрАМ [44, 109]. Ацетальдегид подавляет активность внутриклеточных антиоксидантных систем путем ингибирования супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, что приводит к повышению уровня токсичного малондиальдегида. Окислительный стресс также ингибирует ацетилхолинэстеразу, что также может привести к развитию мышечной

атрофии [31]. Предполагается, что большая уязвимость мышечных волокон II типа при ХрАМ может быть связана с их исходно низким уровнем антиоксидантной защиты по сравнению с волокнами I типа, обусловленная различиями основного пути метаболизма двух типов мышечных волокон [123]. При введении прогестерона в эксперименте на модели хронически алкоголизованных крыс было выявлено снижение степени ответа на оксидативный стресс и частичное предотвращение снижения площади поперечного сечения мышечных волокон. В других работах не обнаружено изменений в содержании таких антиоксидантов, как альфа-токоферол, аскорбиновая кислота, ретинол в мышцах пациентов с миопатией на фоне длительного потребления алкоголя [68, 69]. Полученные данные о роли оксидативного стресса в развитии алкогольной миопатии противоречивы и требуют дальнейшего изучения с целью расширения представлений о понимании патогенеза и решения вопроса о целесообразности использования антиоксидантов в терапии ХрАМ.

Вопрос генетической предрасположенности к развитию проявлений алкогольной болезни, в том числе алкогольной миопатии, представляется актуальным. Генетически обусловленная высокая активность алкогольдегидрогеназы и низкая активность альдегиддегидрогеназы может приводить к более выраженному токсическому действию ацетальдегида и других метаболитов этанола на органы мишени (печень, головной мозг, скелетные мышцы, миокард) и, следовательно, к более тяжелым проявлениям алкогольной болезни.

Актуальная проблема гендерных различий в составе мышечных волокон и функции скелетных мышц, а также механизмах развития ХрАМ. В настоящее время изучено более 3000 генов, экспрессия которых в скелетных мышцах различается у мужчин и женщин [125]. Известно 11 генов тяжелых цепей миозина (ТЦМ), кодирующих различные изоформы белка, 4 из которых составляют большую часть у взрослых людей [102]. К генам относятся: MYH7, кодирующий изоформы I типа, MYH2 – изоформы IIa

типа, МҮН1 – изоформы Пх типа и МҮН4 – изоформы Пб типа. Результаты исследований на экспериментальных животных и здоровых добровольцах демонстрируют различия в экспрессии изоформ ТЦМ в зависимости от половой принадлежности. Так анализ мРНК латеральной головки четырехглавой мышцы бедра выявил, что у женщин на 35% больше мРНК, кодирующих изоформы ТЦМ I типа, на 30% и 15% меньше мРНК, кодирующих изоформы ТЦМ Па и Пх типов соответственно. Получены данные, что в латеральной головке четырехглавой мышцы бедра у женщин преобладают мышечные волокна I типа, в то время как у мужчин – мышечные волокна II типа [58]. Обсуждается роль тиреоидных гормонов, эстрогена и тестостерона в формировании гендерных различий состава мышечных волокон [99].

Обсуждается наличие полового диморфизма в развитии патологического процесса в мышцах у пациентов на фоне длительного употребления алкоголя [116, 118]. Эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что женский организм более чувствителен к негативному влиянию алкоголя, по сравнению с мужским. Ряд работ, проведенных на экспериментальных животных, выявляют наличие полового диморфизма в отношении влияния этанола на различные органы [52, 66]. Установлено, что при хроническом потреблении алкоголя функция гепатоцитов и структура ткани печени в большей степени нарушается у самок-мышей по сравнению с самцами [50]. Женщины в большей степени подвержены развитию пристрастия к алкоголю [95, 97]. В отечественной литературе в работе «Патогенетические механизмы развития хронической алкогольной миопатии» Ю.В.Казанцевой впервые было установлено, что атрофический процесс в мышцах у женщин развивается чаще и при меньшей длительности алкогольной интоксикации, что может указывать на большую чувствительность лиц женского пола к действию этанола и его метаболитов [13]. Аналогичные данные получены и в работе «Нервно-мышечные нарушения при хронической алкогольной интоксикации у женщин»

Н.С.Щегловой, проведенной на женском контингенте пациентов [25]. Зарубежные исследования, посвященные выявлению половых различий в развитии и патологии скелетных мышц, проведенные на экспериментальных моделях животных, демонстрируют противоречивые данные. Установлено, что на фоне хронической алкогольной интоксикации у мужских особей содержание и синтез белка в икроножной мышце снижен в большей степени, чем у самок, в то время как при остром воздействии алкоголя гендерных различий в синтезе и содержании белка в скелетной мышце выявлено не было. Полученные данные авторы объясняют в контексте видовых различий и сложностях экстраполяции экспериментальных данных на человеческую популяцию. Также обсуждается взаимосвязь алкоголя и различных вторичных факторов (например, питания), влияющих на развитие процесса *in vivo*, который исключен в строго контролируемом эксперименте [76].

Имеются данные, что в случаях хронической алкогольной миопатии происходит снижение синтеза не только основного сократительного белка - миозина, но белков саркомерного цитоскелета титина и небулина, обеспечивающих условия для взаимодействия актина и миозина [62]. Саркомер представляет постоянно повторяющуюся часть миофибриллы между двумя соседними Z-дисками и является структурной единицей мышечного волокна. Z-линия (диск) – это сеть переплетающихся белковых молекул, к которой прикрепляются тонкие (актиновые) филаменты. В центре саркомера выделяют А-диск, состоящий из миозиновых и концов актиновых нитей. Согласно теории «скользящих нитей», впервые предложенной в 1954 году, мышечное сокращение рассматривалось с позиции взаимодействия в саркомере двух типов нитей: толстых (миозиновых) и тонких (актиновых) [63, 64]. Однако, уже в то время было высказано предположение о существовании третьего типа филаментов, связывающих концы противоположных нитей актина в саркомере. Белковый компонент этих эластичных нитей впервые был получен в 1976 году двумя группами

исследователей независимо друг от друга и назван тайтином/коннектином [81, 122]. В настоящее время известно, что титин (тайтин, коннектин) - гигантский эластичный белок поперечно-полосатых и гладких мышц позвоночных, представляется важным компонентом саркомеров скелетных мышц [56, 72]. Открытие данного белка разрушило старые представления о двунитевой структуре саркомера. Молекулы титина, перекрывая расстояние от М-линии до Z-диска, формируют третью филаментную систему миофибриллах [7]. Молекулярные массы изоформ титина (N2A, N2BA, N2B) и их изовариантов составляют 3000-3700 кДа. Показано, что титин служит каркасом для сборки толстых нитей и саркомера; участвует в поддержании высокоупорядоченной саркомерной структуры; вносит вклад в пассивное напряжение, возникающее при растяжении мышцы, и развивает возвратную силу при сокращении саркомера, участвует в запуске и регуляции актин-миозинового взаимодействия и регуляции процессов внутриклеточной сигнализации. Другим важным саркомерным белком является небулин. Впервые небулин обнаружен в 1980 году Wang K. and Williamson C.L. Молекулярная масса небулина 600-900кДа. Данный белок регулирует длину тонких нитей актина путем их стабилизации. Предполагается участие небулина в регуляции сокращения скелетных мышц, поддержания правильной структуры и определения ширины Z-диска. Было показано, что небулин взаимодействует с N-WASP (нейронный белок синдрома Вискотта-Олдрича) при стимуляции IGF-1 посредством активации сигнального каскада PI3K-AKT, что способствует удлинению и гипертрофии мышечных волокон [42].

Получены экспериментальные данные о снижении изоформ титина относительно содержания тяжелых цепей миозина в камбаловидной мышце хронически алкоголизированных крыс, в то время как содержание небулина в этой мышце существенно не изменялось. Авторы предположили, что в основе снижения титина лежит увеличение активности кальпаиновых протеаз, которые принимают участие в метаболизме мышечных белков (в

том числе миозин- и актин-содержащих нитей) по убиквитин-протеосомному пути [10, 98]. Известно, что в присутствии  $\text{Ca}^{2+}$   $\mu$ -кальпаин подвергается аутолизу, что приводит к увеличению его протеолитической активности. В последующих работах обнаружено увеличение аутолиза  $\mu$ -кальпаина в икроножной и камбаловидной мышцах алкоголизованных крыс на фоне повышенной деградации титина и небулина в этих же мышцах. Также выявлено снижение уровня экспрессии мРНК титина и небулина в икроножной мышце крыс на фоне длительной алкоголизации. Чувствительность этих белков к протеолизу, опосредованного изменением активности  $\mu$ -кальпаина, зависит от уровня их фосфорилирования. Получены данные, что повышение уровня фосфорилирования титина сопряжено со снижением его содержания в скелетной мышце. Предполагается, что гиперфосфорилирование титина усиливает его чувствительность к протеолизу под воздействием кальпаина [57]. Таким образом, результаты экспериментальных исследований свидетельствуют об участии структурных мышечных белков титина и небулина в развитии мышечной атрофии на фоне хронической алкогольной интоксикации.

В целом развитие мышечной атрофии при ХрАМ происходит вследствие нарушений звеньев патогенеза на нескольких уровнях и требует дальнейшего изучения с целью разработки эффективных методов коррекции данного состояния.

Клинически ХрАМ характеризуется прогрессирующей слабостью, гипотрофией проксимальной группы мышц конечностей, чаще ног, и крампи. При хронической алкогольной миопатии процесс носит прогрессивный характер, приводит к потере до 30% мышечной массы и, при тяжелой форме, даже через 5 лет после отмены алкоголя не происходит регресса клинических и морфологических признаков заболевания [12, 46, 94]. Полученные данные свидетельствуют о необходимости ранней диагностики ХрАМ и разработки методов предотвращения последствий заболевания. В связи с отсутствием некроза мышечных волокон уровень КФК остается нормальным. При

проведении игольчатой электромиографии (ЭМГ) не выявляется типичного миопатического паттерна в связи с чем, затруднена дифференциальная диагностика невральное и мышечное уровни поражения. Исследование уровня КФК и проведение игольчатой ЭМГ не являются информативными для диагностики миопатического синдрома при хронической алкогольной интоксикации. «Золотым стандартом» диагностики ХрАМ признано проведение биопсии проксимальной мышцы конечности, морфометрического и иммуногистохимического исследований с определением площади поперечного сечения различных типов мышечных волокон [47, 121]. Большинство работ, проводимых с целью диагностики и углубления представлений о патогенезе хронической алкогольной миопатии, требуют наличия морфологического материала. Инвазивность биопсии затрудняет проведение клинических исследований, и делает необходимым поиск новых методов диагностики ХрАМ.

В последние годы все большую распространенность в диагностике поражения скелетных мышц получают неинвазивные методы их визуализации. Ультразвуковое исследование мышц позволяет выявить послойную дезорганизацию мышечной архитектоники и с большой долей вероятности отличить нормальную мышечную структуру от пораженной [111]. Однако, данный метод является трудоемким, требует высокой квалификации персонала, проводящего исследование. Метод рентгеновской компьютерной томографии широко используется для диагностики поражения мышц, отличается простотой и невысокой стоимостью, однако данный метод сопряжен с лучевой нагрузкой, что особенно актуально при проведении расширенного исследования, включающего несколько областей тела [101]. Более 20 лет в диагностике миопатий используется МРТ мышц. Данный метод позволяет выявить ранние дегенеративные изменения, наличие жировой дегенерации, отека и воспалительных изменений скелетных мышц. Большинство работ посвященных информативности МРТ скелетных мышц проведено на пациентах, страдающих наследственными миопатиями.

Представлены также работы выявляющие изменения скелетных мышц у космонавтов после пребывания в условиях отсутствия гравитации [77].

Метод МРТ основан на получении серий изображений во фронтальной и аксиальной проекциях и использованием T1- и T2 импульсных последовательностей. Сущность метода заключается в измерении электромагнитного отклика ядер атомов водорода в ответ на возбуждение их определенной комбинацией электромагнитных волн под воздействием постоянного магнитного поля высокой напряженности. Изменение количества свободной воды и ее внутриклеточное распределение изменяет интенсивность сигнала от ткани. При исследовании здоровой мышцы время релаксации T1 велико, а у жировой ткани это значение сравнительно мало. Из этого следует, что T1-импульсная последовательность весьма чувствительна к выявлению жировой дегенерации скелетных мышц [8]. При первично-мышечных заболеваниях, за исключением воспалительных миопатий, использование T1-импульсной последовательности является базовой методикой, позволяющей определить мышечный объем и выявить процент жировой дегенерации мышечной ткани [37]. Степень жирового замещения оценивается качественно в каждой мышце. Для этой цели используется классификация E.Mercuri, предложенная в 2002 году, которая является адаптированной МРТ версией классификации томоденситометрии, предложенной Goutallier D. и Bernageau J., позволяющей оценить степень дегенерации мышц плеча [73, 83]. По классификации Mercuri выделяют 4 стадии жировой дегенерации, при этом для каждой мышцы принимается в расчет весь мышечный объем [38]. Следует учитывать, что отложение жировой ткани в мышцах является признаком хронического заболевания, что не позволяет в режиме T1ВИ диагностировать патологический процесс на ранней стадии болезни. В этом случае применяется T2-импульсная последовательность, при которой у здоровой мышечной ткани время релаксации T2ВИ короткое, в то время как у воды и жировой ткани – длинное. Таким образом, T2-взвешенные изображения чувствительны к

повышению содержания, как воды, так и жира в мышце, и помогают в визуализации повышенного содержания жидкости при воспалительном процессе. При этом и вода, и жировая ткань на T2-импульсной последовательности выглядят светлыми, что не позволяет отличить жировую дегенерацию от отека. Для этого существует метод инверсия-восстановление короткими тау-волнами STIR (Shot TI Inversion Recovery), при котором удаляется сигнал от жировой ткани, что позволит различить отек и жировую дегенерацию. Импульсная последовательность STIR особенно важна в случаях, когда имеются подозрения на воспалительные изменения мышечной ткани.

Однако, не всегда стандартного качественного МР-обследования достаточно для анализа состояния исследуемой области. Для оценки какого-либо показателя в качестве биомаркера необходимо придать ему количественную оценку с целью установления специфических патологических изменений, которые могут быть точно измерены. Благодаря современным технологиям, разработке специализированных программ и протоколов исследования стало возможна количественная обработка результатов обследования [113]. В настоящее время количественные переменные и индексы, полученные по данным МРТ и магнитно-резонансной (МР) спектроскопии оказались главными кандидатами на роль биомаркеров или методов измерения в клинических исследованиях патологии мышц. Многие параметры и переменные МРТ, рассматриваемые в качестве потенциальных биомаркеров, продолжают исследовать в тестовом режиме. Сегодня в качестве адекватных методик длительного мониторинга состояния мышц с помощью МРТ широко используются следующие параметры: оценка степени дистрофических изменений мышц путем измерения их поверхности и объема, оценка степени хронических дегенеративных изменений в мышцах посредством определения процентной выраженности сигнала от жировой ткани, инфильтрирующей мышцу, а также оценка активности течения болезни с помощью измерения времени

релаксации сигнала от воды в мышечной ткани в режиме T2 в качестве индекса, характерно для прогрессирующих патологий. В стадии разработки методов формирования МР-изображений находятся следующие направления: определение новых МР-последовательностей, отражающих гистологические, физиологические и биохимические изменения, в частности наличие фиброза и микрососудистых нарушений, а также использование существующих и разработка новых контрастных агентов для применения в МРТ с целью получения дополнительных характеристик пораженных скелетных мышц [37].

Опубликованы отдельные работы, выявляющие изменения скелетных мышц методом МРТ у пациентов, злоупотребляющих алкоголем [34]. Таким образом, МРТ скелетных мышц представляется перспективным методом диагностики миопатий различной этиологии, в том числе ХрАМ.

Современные представления о терапии хронической алкогольной миопатии включают в первую очередь отказ от алкоголя и восстановление сбалансированного питания. Обсуждается возможный терапевтический эффект антиоксидантов, лейцин-содержащих аминокислотных смесей, предшественников глутатиона [89, 90]. Однако, на сегодняшний день не разработано доказанных эффективных способов лечения данного состояния, что делает изучение механизмов развития атрофического процесса в скелетных мышцах при хронической алкогольной интоксикации и разработку методов ранней диагностики ХрАМ весьма актуальным.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Общая характеристика группы в целом

В ходе исследования обследовано 27 пациентов, находившихся на стационарном лечении в Клинике нервных болезней им. А.Я.Кожевникова Университетской клинической больницы №3 Первого МГМУ им. И.М.Сеченова. Отбор испытуемых в основную группу осуществлялся на основании разработанных критериев включения, не включения и исключения.

#### Критерии включения, невключения и исключения пациентов:

##### Критерии включения:

1. Наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании;
2. Наличие письменного информированного согласия на проведение биопсии четырехглавой мышцы бедра;
3. возраст от 20 до 60 лет, пол: мужчины и женщины;
4. длительность регулярного приема алкоголя не менее 3 лет в количестве: для женщин - не менее 14 единиц алкоголя в неделю; для мужчин - не менее 21 единиц алкоголя в неделю.

##### Критерии невключения:

1. возраст менее 20 и более 60 лет;
2. наследственные и воспалительные миопатии;
3. наличие сопутствующей патологии: сахарный диабет, острые и хронические воспалительные демиелинизирующие полиневропатии, онкологические заболевания, васкулиты, заболевания щитовидной железы, системные заболевания соединительной ткани,

4. лекарственная или наркотическая зависимость;
5. инфекционные заболевания (в том числе вирусные гепатиты, сифилис и ВИЧ-инфекция);
6. беременность.

Критерии исключения:

1. отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании;
2. периваскулярная и/или интерстициальная воспалительная инфильтрация скелетной мышцы.

Сбор анамнеза, с учетом длительности и количества потребляемого алкоголя, проводился со слов пациентов и при участии их родственников.

Уровень риска для здоровья, согласно критериям ВОЗ, зависит от количества алкоголя, употребляемого в неделю [WHO. International Guide for Monitoring alcohol consumption and related harm 2000]. На основании этого рассчитывалось количество употребляемых напитков в неделю в единицах алкоголя. Расчет производился по формуле:

**Количество единиц алкоголя = количество (литры) × крепость (%) × 0,789**

(1 единица алкоголя = 10мл чистого (96%) этанола).

**Таблица №1. Уровни риска для здоровья при потреблении алкоголя в неделю в единицах в соответствии с рекомендациями ВОЗ.**

	<b>Низкий риск</b>	<b>Средний риск</b>	<b>Высокий риск</b>
<b>Для мужчин</b>	<21	21-35	>35
<b>Для женщин</b>	<14	14-28	>28

## **2.2. Контрольная группа**

Контрольную группу составили 10 здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту.

Все испытуемые контрольной группы отрицали факт злоупотребления спиртными напитками, не имели на момент обследования острых и/или хронических заболеваний, признаков поражения периферических нервов и скелетных мышц. В соответствии с поставленными задачами всем добровольцам проводилось обследование, включавшее клинический осмотр, общий клинический анализ крови, биохимический анализ крови (глюкоза, АСТ, АЛТ, ГГТ, КФК), определение IGF-I в плазме крови, маркеров вирусных гепатитов В и С, реакции Вассермана (RW), антител к ВИЧ-инфекции, электромиографическое исследование, МРТ мышц бедер, пункционная биопсия *m.quadriceps femoris (vastus lateralis)* с последующим морфологическим, морфометрическим и иммуногистохимическим исследованием, исследование содержания изоформ титина, небулина, а также уровень их фосфорилирования в *m.quadriceps femoris (vastus lateralis)*.

### **2.3. Методы исследования**

При проведении исследования использовались клинические (неврологический осмотр), лабораторные (общий анализ крови, исследование уровня печеночных ферментов, уровень IGF-I в плазме крови, маркеры вирусных гепатитов В и С, реакции Вассермана (RW), антител к ВИЧ-инфекции, общий анализ спинномозговой жидкости (в случае острого и подострого развития слабости в конечностях), нейрофизиологические (стимуляционная ЭМГ по двигательным и чувствительным волокнам, игольчатая ЭМГ), визуализационное (МРТ скелетных мышц бедер), морфологические (биопсия *m.quadriceps femoris (vastus lateralis)* с последующим морфометрическим и иммуногистохимическим исследованием) методы исследования, исследование уровня содержания изоформ титина и небулина и уровень их фосфорилирования методом электрофореза белков мышечной ткани.

**2.3.1. Клинический неврологический осмотр** включал исследование чувствительной, двигательной, координаторной сфер и глубоких рефлексов.

### **Исследование двигательной сферы.**

При исследовании двигательной сферы оценивались мышечный тонус, мышечная сила в проксимальных и дистальных отделах конечностей, по 6-балльной шкале при изометрическом напряжении мышцы (Таблица №2). В ногах сила оценивалась отдельно в передней и задней группах мышц.

**Таблица № 2. Международная шкала оценки мышечной силы Medical Research Council (MRC)**

<b>Баллы</b>	<b>Характеристика</b>
5	Нормальная сила
4	Возможность активного движения против силы тяжести и против внешнего сопротивления
3	Возможность активного движения против силы тяжести
2	Возможность активного движения при отсутствии силы тяжести
1	Намёк на сокращение (еле заметное)
0	Сокращение мышцы отсутствует

Для выявления субклинического снижения мышечной силы в конечностях проводились функциональные пробы, включавшие ходьбу на носках, пятках и проба с глубоким приседанием.

**Исследование чувствительной сферы** включало в себя исследование болевой, тактильной, вибрационной и суставно-мышечной чувствительности.

*Болевая чувствительность* исследовалась в руках и ногах при помощи укола иглой и оценивалась по следующей шкале:

- болевая чувствительность отсутствует – пациент не чувствует укола иглой;

- снижена - ошибается в определении острого и тупого укола;

- нормальная – чувствительность не изменена.

*Тактильная чувствительность* исследовалась на тыльной поверхности дистальных фаланг указательных пальцев кистей и больших пальцев стоп с помощью кисточки и оценивалась по следующей шкале:

- отсутствует – пациент не ощущает прикосновения ни кисточкой, ни рукой;

- снижена – не чувствует прикосновения кисточкой, но воспринимает прикосновение рукой;

- нормальная – чувствительность к прикосновению кисточкой полностью сохранена.

*Мышечно-суставное чувство* исследовалось в суставах дистальных фаланг пальцев кистей и стоп и оценивалось по шкале:

- отсутствует – пациент не может определить направление движения;

- снижено – ошибается в определении направления движения;

- нормальное – правильно называет направление движения.

*Вибрационная чувствительность* исследовалась с применением градуированного 128 Гц камертона по 8-ми бальной шкале. Исследование вибрационной чувствительности проводилось на тыльной поверхности указательных пальцев кистей и больших пальцев стоп.

### **Исследование глубоких рефлексов.**

Всем пациентам проводилось исследование сухожильных и периостальных рефлексов с рук и ног. С рук исследовались карпорадиальные рефлексы, рефлексы с сухожилий двуглавых и трехглавых мышц; с ног – коленные и ахилловы рефлексы. Для оценки рефлексов применялась следующая шкала:

**0** - рефлексы нормальной живости, рефлексогенные зоны не расширены;

**1** - рефлексы снижены;

**2** - рефлексы не вызываются;

**3** - рефлексы высокие, рефлексогенные зоны расширены.

Также оценивалась симметричность вызывания рефлексов с двух сторон и наличие/отсутствие патологических кистевых и стопных рефлексов.

### **Исследование координаторной сферы.**

Наличие изменений в координаторной сфере оценивалось с использованием динамических и статических координаторных проб (пальце-носовой, пяточно-коленной, пробы Ромберга с открытыми и закрытыми глазами).

**2.3.2. Лабораторные исследования** проводились с целью выявления сопутствующей патологии и включали: общий клинический анализ крови, общий клинический анализ мочи, биохимический анализ крови (с оценкой уровня общего белка, общей фракции билирубина, печеночных трансаминаз (АЛТ, АСТ), Г-ГТ, КФК, глюкозы). Также исследовалось содержание в плазме крови инсулиноподобного фактора роста I (IGF-I, соматомедин C) методом иммуноферментного анализа.

**2.3.3. Электромиографическое исследование (ЭМГ)** проводилось на 4х-канальном миографе фирмы МБН (Россия) и включало стимуляционную и игольчатую электромиографию. Пациенты обследовались на базе отделения функциональной диагностики по нейрофизиологии УКБ №3 Первого МГМУ им. И.М.Сеченова (Клиники нервных болезней им А.Я.Кожевникова) врачом функциональной диагностики к.м.н. Н.С.Щегловой.

**Методом стимуляционной электромиографии** исследовались двигательные и чувствительные волокна нервов нижних конечностей. Исследовались двигательная порция бедренного (n. femoralis), малоберцового (n. peroneus), большеберцового (n. tibialis) нервов, чувствительная порция малоберцового нерва (n. peroneus superficialis) и икроножный нерв (n.suralis). Оценка функции двигательных и чувствительных волокон включала анализ таких параметров моторного ответа (М-ответа), как амплитуда негативной фазы, площадь и форма моторного ответа, показатели резидуальной латенции (РЛ) и скорость распространения возбуждения по двигательным волокнам (СРВ<sub>М</sub>) в дистальных отделах нервов, анализ параметров

амплитуды сенсорного ответа (S-ответа), измерение проводилось от пика до пика, и скорость распространения возбуждения по быстропроводящим сенсорным волокнам (CPV<sub>S</sub>). Полученные результаты анализировались в сравнении с показателями контрольной группы (таблица №3).

**Таблица №3. Результаты стимуляционной электромиографии в контрольной группе.**

<b>Параметры стимуляционной электромиографии</b>		<b>Результаты стимуляционной электромиографии (n=10)</b>
<b>Двигательные волокна нервов нижних конечностей</b>		
Бедренный нерв	Амплитуда М-ответа, мВ	6,4±0,7
	Дистальная латенция, мс	3,0±0,1
Малоберцовый нерв	Амплитуда М-ответа, мВ	7,4±0,7
	Скорость распространения возбуждения, м/с	48,1±0,7
Большеберцовый нерв	Амплитуда М-ответа, мВ	9,4±0,9
	Скорость распространения возбуждения, м/с	48,4±1,4
<b>Чувствительные волокна нервов нижних конечностей</b>		
Поверхностный малоберцовый нерв	Амплитуда S-ответа, мкВ	10,9±0,9
	Скорость распространения возбуждения, м/с	53,0±1,0
Икроножный нерв	Амплитуда S-ответа, мкВ	14,2±1,9
	Скорость распространения возбуждения, м/с	54,5±1,5

**Методом игольчатой электромиографии** пациентам исследовались латеральная головка четырехглавой мышцы бедра (m. quadriceps femoris (vastus lateralis), двуглавая мышца (m.biceps femoris). Обследование

проводилось одноразовыми концентрическими игольчатыми электродами. Оценивали наличие и выраженность денервационной спонтанной активности мышечных волокон в виде потенциалов фибриляций (ПФ) и положительных острых волн (ПОВ), которую регистрировали в состоянии полного расслабления исследуемой мышцы в течение не менее 30 секунд после каждого изменения положения игольчатого электрода. Анализировалось также наличие и выраженность потенциалов фасцикуляций (ПФц), являющихся проявлением спонтанной активности всей двигательной единицы. В каждой мышце исследовали не менее 20 различных двигательных единиц, зарегистрированных при минимальном произвольном напряжении, с последующим их качественным анализом. Оценивались такие параметры потенциалов двигательных единиц (ПДЕ) как средняя длительность, средняя и максимальная амплитуды (измерение производилось от пика позитивной фазы до пика негативной фазы). Определялось количество полифазных и псевдополифазных ПДЕ (высчитывался их % от общего количества зарегистрированных ПДЕ). Анализ параметров ПДЕ производился в сравнении с возрастной нормой для исследованной мышцы. Нормы средней длительности ПДЕ определялись по таблицам Н.Р.Ludin (1980 г.) с уточнениями параметров ПДЕ по таблицам Б.М.Гехта и соавторов (1997 г.). Отклонением от нормы считалось увеличение или уменьшение средней длительности более чем на 12% от нормативных значений. При анализе результатов игольчатой ЭМГ оценивалось также наличие миопатического паттерна, для которого характерны полифазные ПДЕ уменьшенной амплитуды и длительности.

**2.3.4. МРТ мышц бедер** проводилось на МР-томографе компании Toshiba excelart vantagec напряженностью магнитного поля в 1.5 Тесла на базе отделения лучевой диагностики Обособленного структурного подразделения "Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева" ФГБОУ ВО РНИМУ им.Н.И.Пирогова врачом-радиологом Д.О.Казаковым. Протокол исследования включал

сканирование в режимах обычного T1SE с временем релаксации (TR) 500 мс и в вариации режима T2 с подавлением жировой ткани — STIR (инверсия-восстановление короткими тау-волнами), с временем релаксации 4000 мс. В аксиальной ориентации срезов через обе конечности, толщиной среза 14 мм и расстоянием между срезами 1мм. Для интерпретации полученных данных и оценки степени поражения мышечной ткани использовалась шкала, E. Mercuri, позволяющая дать качественную оценку степени жирового замещения в каждой мышце исследуемой области. (Таблица №4).

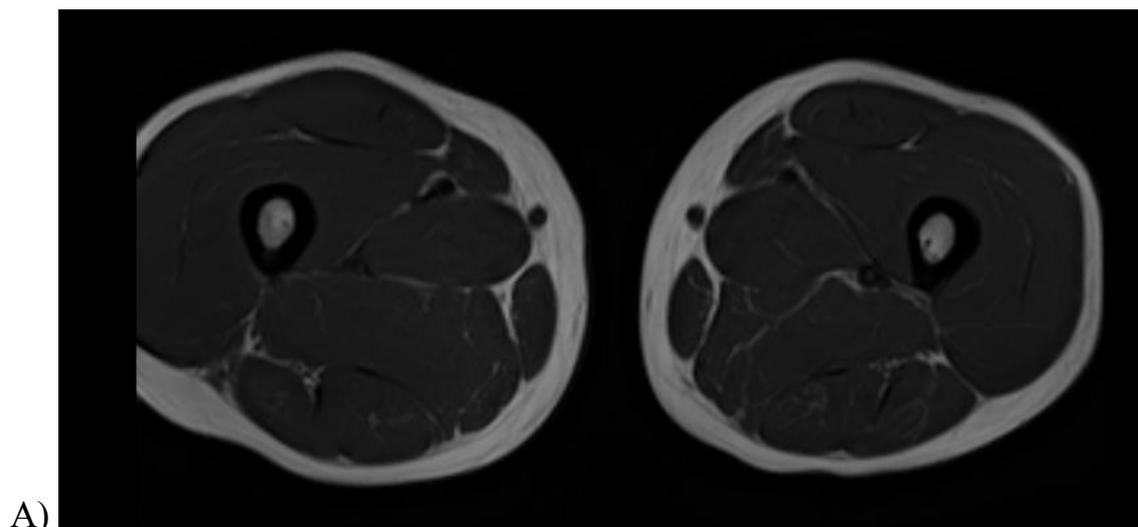
**Таблица №4. Шкала степеней дегенерации мышечной ткани, выявляемой при оценке МРТ мышц в T1-взвешенных изображениях (модификация по E. Mercuri, 2002)**

Баллы	Степени дегенерации мышечной ткани
0	Нормальная мышечная ткань
1	Начальные проявления феномена «изъеденных молью» мышечных волокон с небольшими участками повышения МР-сигнала
2a	Поздние проявления феномена «изъеденных молью» мышечных волокон с многочисленными отдельными участками повышения МР-сигнала, начинающимися сливаться, с вовлечением до 30% объема конкретной мышцы
2b	Поздние проявления феномена «изъеденных молью» мышечных волокон многочисленными отдельными участками повышения МР-сигнала, начинающимися сливаться, с вовлечением от 30 до 60% объема конкретной мышцы
3	Появления размытости и нечеткости из-за слияния не менее 3 областей в одной мышце с повышением МР-сигнала
4	Последняя стадия дегенерации мышечной ткани, замещение ее соединительной и жировой тканями с повышенным МР-сигналом, при этом различимы кольца фасций и нервно-сосудистые пучки.

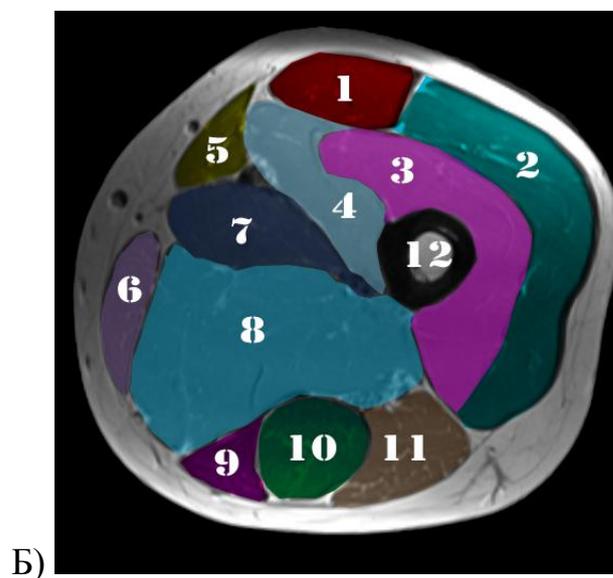
Выявленные дегенеративные изменения оценивались с учетом нормальной возрастной жировой дегенерации мышц. Также проводилась

количественная оценка объема передней и задней групп мышц бедра у больных и группы контроля. Для измерения объема скелетной мышцы передней группы бедра выбрана латеральная головка четырехглавой мышцы бедра, задней группы - двуглавая мышца бедра (Рисунок №1).

**Рисунок №1. МРТ мышц бедра, аксиальный срез. T1-взвешенное изображение. А- контроль. Б – определение площади поперечного сечения мышцы на конкретном срезе.**



- 1) m. rectus femoris
- 2) **vastus lateralis m.quadriceps femoris**
- 3) vastus intermedius m.quadriceps femoris
- 4) vastus medialis m.quadriceps femoris
- 5) m.sartorius
- 6) m.gracilis
- 7) m.adductor longus
- 8) m.adductor magnus
- 9) m.semitendinosus
- 10) m.semimembranosus
- 11) **m.biceps femoris**
- 12) os femoris



Расчет объема скелетной мышцы проводился по формуле Симпсона (стереометрическая формула срединного сечения) [1]:

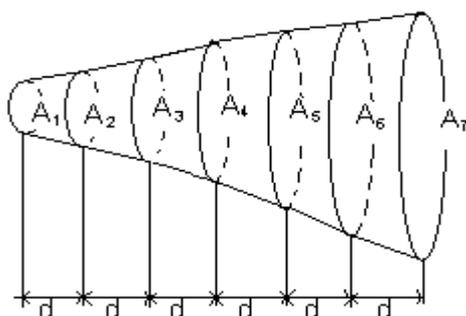
$$V=(d/3)*[(A_1+A_7) +4(A_2+A_4+ A_6)+2(A_3+A_5)],$$

где  $V$  – объем исследуемой мышцы;

$A_n$  – площадь поперечного сечения среза мышцы;

$d$  – ширина интервала для неправильного тела, ограниченного двумя параллельными плоскостями (Рисунок №2).

**Рисунок №2. Расчет объема скелетной мышцы с помощью формулы Симпсона.**



Расчет площадей мышц проводился методом сегментирования каждой мышцы на каждом МР-срезе в программе Onis Free Edition версии 2,5. Средний объем латеральной головки четырехглавой мышцы бедра в контрольной группе справа составил  $491,8 \pm 34,1 \text{ см}^3$ , слева -  $485,1 \pm 33,1 \text{ см}^3$ , двуглавой мышцы бедра справа -  $261,1 \pm 32,6 \text{ см}^3$ , слева -  $255,4 \pm 32,2 \text{ см}^3$ .

### **2.3.5. Морфологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов скелетных мышц.**

Морфологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов скелетных мышц проводились в лаборатории миологии ГНЦ РФ Института медико-биологических проблем РАН - заведующий лабораторией, доктор биологических наук, профессор, Б.С.Шенкман.

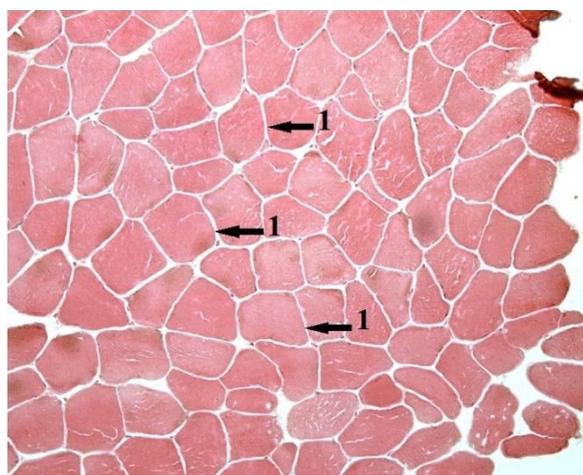
Забор биологического материала, для морфологического и иммуногистохимического исследования, проводился на базе нейрохирургического отделения УКБ №3 Первого МГМУ им И.М. Сеченова врачами-нейрохирургами. Образцы мышечной ткани были получены путем открытой биопсии из латеральной головки четырехглавой мышцы бедра (*m.quadriceps femoris vastus lateralis*) под местной анестезией 1% раствором новокаина. Подготовка проб проводилась д.б.н., Т.Л.Немировской. Пробы освобождались от жировой и соединительной ткани, фиксировались с использованием тканевого клея Tissue Tek (O.C.T.<sup>TM</sup> Compound 4583) на специально подготовленной подложке и немедленно замораживались в жидком азоте. До момента обработки пробы хранились при температуре -80°C. Из биоптата мышечной ткани изготавливались гистологические препараты (серийные криостатные срезы толщиной 10мкм каждый).

**Морфологический анализ** с исследованием признаков деструкции (некроза) мышечных волокон, разрастания соединительной (признаков фиброза) и жировой ткани, лейкоцитарной инфильтрации (признаки воспаления) проводился посредством окраски гематоксилином и эозином.

Поперечные криотомные срезы толщиной 10мкм в течение 60 минут высушивали при комнатной температуре. Затем срезы помещали в воду на 10 минут. Далее для окрашивания на срезы капали раствор гематоксилина (Sigma, США) и выдерживали при комнатной температуре в течение 10 минут. После этого срезы промывали в течение 1 минуты в воде. Далее на срезы наносился раствор эозина (Sigma, США). В растворе эозина препараты выдерживались при комнатной температуре в течение 4 минут. Затем их вновь промывали водой в течение 1 минуты. После этого препараты подвергались дегидратации в батарее спиртов восходящей концентрации. Срезы на 5 секунд последовательно помещались в растворы этилового спирта 50%, 60%, 70%, 80% 96%. Далее срезы на 5 секунд последовательно помещали в раствор ксилола 1 и ксилол 2 соответственно. После чего препараты заключали в канадский бальзам (AppliChem, Германия) под

покровное стекло. Затем препараты фотографировали при 20-кратном увеличении объектива с использованием микроскопа фирмы Leica Q500MC (Германия), соединенного с цветной фотокамерой Leica модель DC300F. Анализ формы и ориентировочно, размеров мышечных волокон, а также выявление признаков фиброза, некроза, лейкоцитарной и жировой инфильтрации производился по фотографиям при помощи программного обеспечения Leica Qwin.

**Рисунок №3. Окраска гематоксилином и эозином (20-кратное увеличение объектива). Контроль.**



1-Мышечные волокна полигональной формы нормального размера.

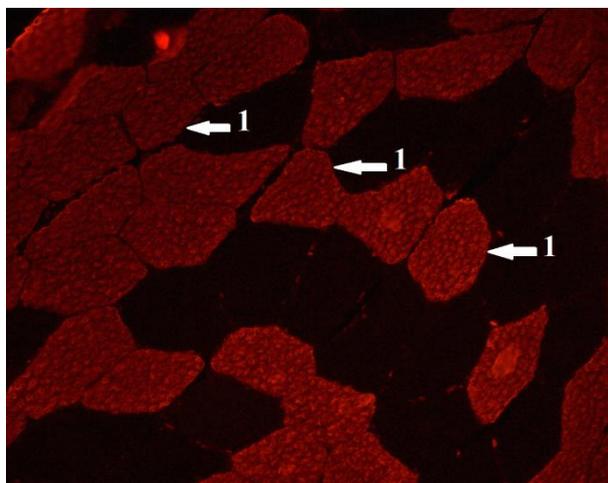
**Иммуногистохимический анализ мышечных срезов, окрашенных моноклональными антителами против МНС I и МНС II.**

Поперечные криотомные срезы замороженной мышечной ткани (латеральная головка четырехглавой мышцы бедра) толщиной 10мкм в течение 60 минут высушивали на воздухе при комнатной температуре. Затем при комнатной температуре срезы помещали в PBS (pH 7,2) на 10 минут. Для окрашивания против миозинов в качестве первичных антител использовали моноклональные антитела против МНС I и МНС II (Novocastra Laboratories, США), которые разводили в PBS в соотношении 1:40. Инкубацию срезов с первичными антителами проводили во влажной камере при температуре +37°C в течение 60 минут. После этого препараты 3 раза по 5 минут

промывали в PBS. Далее на препараты раскапывали вторичные, FITC-конъюгированные поликлональные антитела козы против иммуноглобулинов мыши (Sigma, США), которые разводили в PBS в соотношении 1:100. Срезы с вторичными антителами инкубировали во влажной камере в темном месте при комнатной температуре в течение 60 минут. Затем срезы повторно промывали в PBS 3 раза по 5 минут. После этого препараты заключали в среду, стабилизирующую флуоресцентную метку (Fluoromount-G, Southern Biotech) под покровное стекло. Далее препараты фотографировали при 20-кратном увеличении объектива с использованием флуоресцентного микроскопа фирмы Leica Q500MC (Германия), соединенного с цветной фотокамерой Leica модель DC300F.

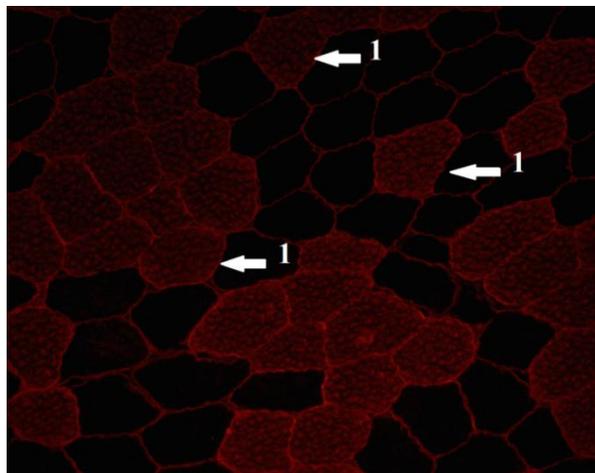
Для расчета средней площади поперечного сечения (ППС) анализировалось не менее 100 мышечных волокон каждого типа. Оценка выраженности атрофического процесса в скелетной мышце, проводилась на основании сравнения площади поперечного сечения (ППС) мышечного волокна (МВ) пациентов с аналогичными показателями контрольной группы. Средняя ППС мышечных волокон I типа в контрольной группе составила  $4927,6 \pm 136,7 \text{ мкм}^2$ , мышечных волокон II типа –  $4653,3 \pm 137,9 \text{ мкм}^2$  (рисунки №4, №5).

**Рисунок №4 Мечение тяжелых цепей миозина МНС I (20-кратное увеличение объектива). Контроль.**



1 – мышечные волокна I типа (медленные).

**Рисунок №5 Мечение тяжелых цепей миозина МНС II (20-кратное увеличение объектива). Контроль.**



1-мышечные волокна II типа (быстрые)

Результаты морфометрического и иммуногистохимического исследования скелетных мышц пациентов оценивались в сравнении с показателями контрольной группы (таблица №5).

**Таблица №5. Данные морфометрического и иммуногистохимического методов исследования в контрольной группе.**

<p align="center"><b>Параметры иммуногистохимического исследования</b></p>	<p align="center"><b>Результаты иммуногистохимического исследования контроль (n-10)</b></p>
<p>ППС мышечных волокон I типа, мкм<sup>2</sup></p>	<p align="center">4927,6±136,7</p>
<p>ППС мышечных волокон II типа мкм<sup>2</sup></p>	<p align="center">4653,3±137,9</p>

**2.3.6. Определение содержания титина и небулина и уровень фосфорилирования** этих белков проводился на базе лаборатории структуры и функции мышечных белков Института теоретической и экспериментальной

биофизики РАН в г.Пущино группой под руководством д.б.н., И.М.Вихлянцева.

**Определение изоформного состава титина и небулина.** Образцы мышечной ткани были получены путем открытой биопсии из латеральной головки четырехглавой мышцы бедра под местной анестезией 1% раствором новокаина. Пробы хранились при температуре  $-75^{\circ}\text{C}$ . Для электрофоретического разделения небулина (м.м. 890 кДа), высокомолекулярных изоформ интактного титина-1 (Т1, м.м. 3500-3700 кДа) и протеолитических фрагментов титина (Т2-фрагментов, м.м. 2000-2200 кДа) в присутствии ДСН использовали крупнопористый 2,2%-ный полиакриламидный гель с содержанием агарозы 0,5–0,6% [112], с модификациями [120]. Мышечную ткань (2 мг) гомогенизировали в буфере для лизиса (12 мМ Трис-НСl, 1,2% SDS, 10% глицерина, 2% меркаптоэтанола или 75 мМ DTT, 5 мкг/мл, Leupeptin и E64, рН 6,8-7,0). В целях предотвращения разрушения титина при высоких температурах [55], электрофоретический образец инкубировался при  $+40^{\circ}\text{C}$  в течение 30-40 минут [120]. ДСН-гель-электрофорез проводили на аппаратах с вертикальным расположением геля («Helicon», Россия и «C.B.S. Scientific Co.», США) с использованием пластинки геля  $8\times 10\text{см}$ . Гели, окрашенные Coomassie Brilliant Blue (G-250 и R-250, смешанные в соотношении 1:1), оцифровывали, а затем проводили денситометрическую обработку с помощью компьютерной программы Total Lab v1.11. Содержание изоформ титина и небулина оценивали по отношению к содержанию тяжелых цепей миозина (ТЦМ).

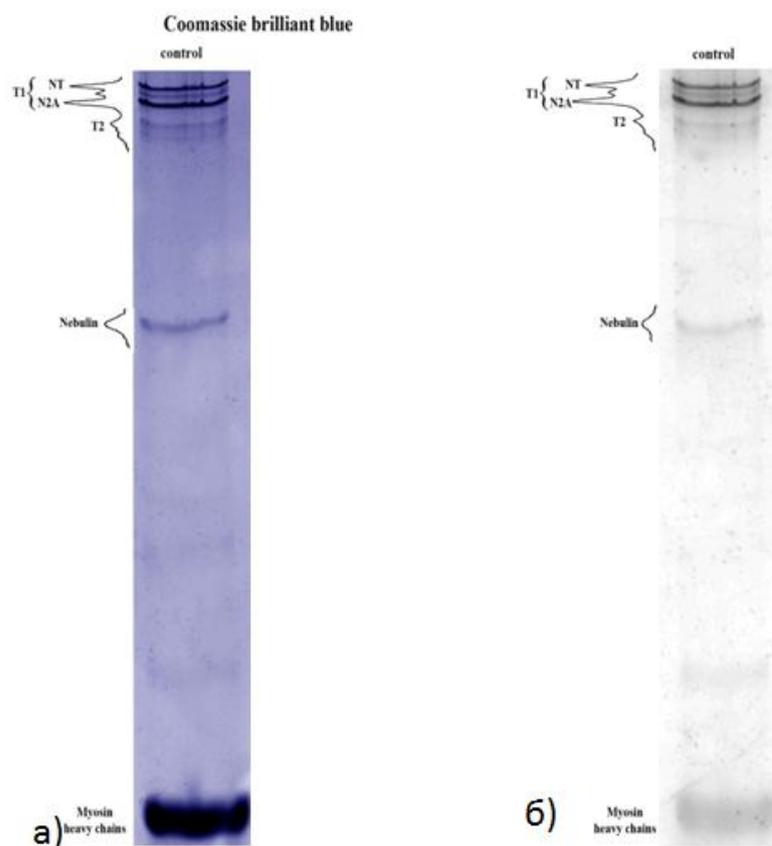
**Определение уровня фосфорилирования титина и небулина** проводилось с целью выявления возможного влияния этой посттрансляционной модификации на изменение чувствительности вышеуказанных белков к протеолизу. Нативный уровень фосфорилирования белков в геле оценивали с помощью флуоресцентного красителя Pro-Q

Diamond (Invitrogen) для фосфопротеинов. Гели помещали в раствор, содержащий 50% этанола и 10% уксусной кислоты в течение 12-18 часов и после 30 мин отмывки в дистиллированной воде, окрашивали в течение 1,5 часов вышеуказанным флуоресцентным красителем. Окрашенный гель отмывали в Pro-Q Diamond destain solution. Белковые полосы, содержащие фосфат, были визуализированы с использованием системы Bio-Rad Chemi Doc Touch Imaging System. Затем гели окрашивали Coomassie Brilliant Blue G-250 и R-250, смешанные в соотношении 1: 1 для контрольной оценки содержания белка.

В таблицах, отражающих изменение содержания и уровня фосфорилирования T1 и T2 и небулина контрольные значения принимали за 100%. При этом в каждом отдельно взятом эксперименте принималось среднее значение от не менее 3 контрольных образцов, присутствующих в геле [9]. Для содержания T1 среднее контрольное значение составило  $100\% \pm 17,6$ , T2 –  $100\% \pm 21,7$ , небулина –  $100\% \pm 23,4$ . Для фосфорилирования среднее контрольное значение T1 составило  $100\% \pm 20,4$ , T2 –  $100\% \pm 33,7$ , небулина –  $100\% \pm 29,8$ .

На основании полученных результатов электрофоретического исследования в группе контроля (таблица %) содержание T1 менее 80% или более 120%, T2 менее 77% или более 123% и небулина менее 75% или более 125%, а уровень фосфорилирования T1 менее 78% и более 122%, T2 менее 65% и более 135%, небулина менее 70% и более 130% считалось критерием включения пациентов в подгруппу с измененным содержанием титина и небулина и/или их фосфорилированных форм.

**Рисунок №6. Результаты электрофоретического исследования содержания (а) и фосфорилирования (б) титина и небулина в здоровой мышце.**



**Таблица №6. Данные электрофоретического исследования содержания и уровня фосфорилирования мышечных белков в группе контроля.**

<b>Параметры электрофоретического исследования мышечных белков в латеральной головке четырехглавой мышцы бедра</b>	<b>Результаты электрофоретического исследования мышечных белков, принятые за 100% в контрольной группе</b>
Уровень содержания T1, %	100%±17,6
Уровень содержания T2, %	100%±21,7
Уровень содержания небулина, %	100%±23,4
Уровень фосфорилирования T1, %	100%±20,4
Уровень фосфорилирования T2, %	100%±33,7
Уровень фосфорилирования небулина, %	100%±29,8

## 2.4. Статистическая обработка

Статистический анализ данных выполнен в ГНЦ РФ Институте медико-биологических проблем РАН под руководством ведущего научного сотрудника, д.б.н. Носовского А.М.

С помощью критерия Ливиня оценивалась однородность дисперсий выборок. Нормальность распределения данных в каждой из групп определялся с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для анализа данных использовался однофакторный дисперсионный анализ, основная математическая идея которого состоит в применении критерия Фишера для оценки различия средней межгрупповой и средней внутригрупповой дисперсий [22].

Межгрупповая дисперсия характеризует собственно влияние фактора на отклики, поскольку представляет дисперсию средних значений для групп откликов относительно общего среднего для всей совокупности откликов. Внутригрупповая дисперсия (или остаточная дисперсия) характеризует влияние случайных причин, определяющих разброс значений внутри каждой группы откликов относительно среднего для этой группы. Чем больше межгрупповая дисперсия по сравнению с остаточной, тем больше влияние фактора на отклики на фоне случайной вариабельности внутри каждой группы [22].

С помощью данного метода на основе параметрического критерия Фишера проверяли нулевые гипотезы:

-средние значения для групп откликов, измеренных при различных значениях фактора, не имеют существенных различий между собой (модель 1);

-дисперсия средних значений для групп откликов, измеренных при различных значениях фактора, не отлична от нуля (модель 2).

В зависимости от получаемых результатов применяли методы анализа, изложенные в работе Шеффе Г. [24].

Статистическая обработка данных электрофореза мышечных белков и его изоформ проводилась с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Для получения данных описательной статистики использовался научный профессиональный статистический пакет Statistica 10.0 фирмы StatSoft.

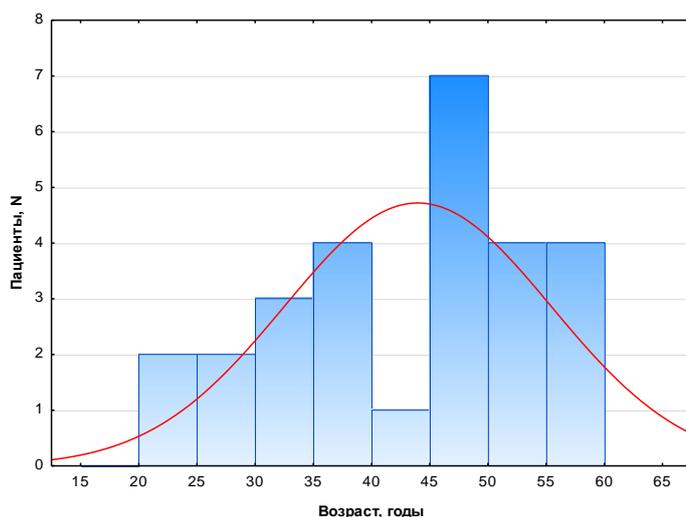
## ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ.

### 3.1. Клиническая характеристика группы обследованных пациентов.

Основную группу составили 27 пациентов (14 мужчин и 13 женщин) в возрасте от 20 до 60 лет.

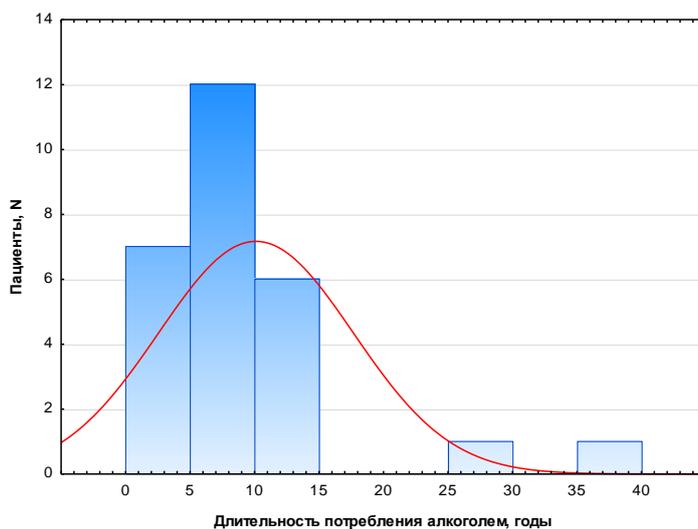
Средний возраст составил  $43,8 \pm 2,21$  лет. Из представленного ниже графика видно, что группа имеет различный возрастной состав, преобладают пациенты старше 45 лет, среди которых наиболее многочисленную возрастную подгруппу составили пациенты в возрасте от 45 до 50 лет.

**График №1. Средний возраст пациентов в исследуемой группе.**



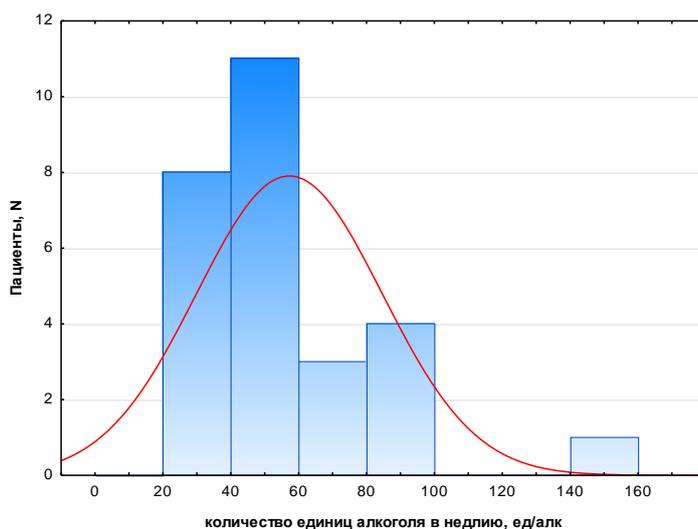
Длительность употребления алкоголя во всех случаях, согласно критериям включения, была более 3х лет и варьировала от 4 до 37 лет. На представленном ниже графике, отображено, что большинство пациентов - 25 человек (93%) потребляли алкоголь в течение 3-15 лет. Средняя длительность употребления алкоголя составила  $10,0 \pm 1,5$  лет.

**График. №2. Средняя продолжительность потребления алкоголя у пациентов.**



Среднее количество потребляемого алкоголя в неделю составило  $56,9 \pm 5,2$  ед.алк./нед (минимальное – 25, максимальное - 153 ед.алк/нед). В наиболее многочисленную подгруппу, состоящую из 11 человек (41%), вошли пациенты с количеством потребляемого алкоголя от 40 до 60 ед.алк./нед. Данные показатели указывают на наличие высокого риска для здоровья у обследованной группы пациентов, как мужчин, так и женщин.

**График. №3. Среднее количество потребляемого алкоголя в неделю у пациентов.**



**Таблица №7. Общая характеристика пациентов, включенных в исследование.**

Средний возраст (лет) $M \pm m$	$43,8 \pm 2,21$ (20-60)
Распределение по полу: мужчины/женщины (%)	52/48
Длительность приема алкоголя (лет), $M \pm m$	$10,0 \pm 1,5$ (4-37)
Количество единиц алкоголя в неделю, $M \pm m$	$56,9 \pm 5,2$ (25-153)

На основании полученных ранее данных о различиях в течении алкогольной миопатии у мужчин и женщин исследуемая группа была разделена по гендерному признаку на 2 группы. В первую группу вошли 14 мужчин, во вторую 13 женщин. Средний возраст мужчин составил  $43,2 \pm 14,9$  года, женщин  $44,4 \pm 6,7$  года. Средняя длительность потребления алкоголя у мужчин составила  $12,0 \pm 9,6$  лет, у женщин -  $7,9 \pm 3,8$  лет. Среднее количество алкоголя, потребляемого в неделю среди мужчин было равно  $51,9 \pm 22,8$  ед/алк, среди женщин -  $63 \pm 32,3$  ед/алк. Пациенты обеих групп статистически не различались по возрасту, длительности и количеству потребляемого алкоголя. Однако обнаружена тенденция, что женщины по длительности пили меньше, но по количеству больше. Общая характеристика групп представлена в таблице №8.

**Таблица №8. Общая характеристика групп пациентов, разделенных по гендерному признаку.**

Характеристики	Мужчины (n=14)	Женщины (n=13)
Средний возраст, лет	$43,2 \pm 14,9$ (20-60)	$44,4 \pm 6,7$ (33-57)
Длительность употребления, лет	$12,0 \pm 9,6$ (4-37)	$7,9 \pm 3,8$ (4-15)
Количество алкоголя в нед, ед.алк/нед.	$51,9 \pm 22,8$ (25-100)	$63 \pm 32,3$ (32-153)
* $p \leq 0,05$		

При качественном анализе потребляемых алкогольных напитков обнаружено, что только крепкие напитки (водка, коньяк, виски, джин) употребляли 14 пациентов (51,9%): 7 мужчин и 7 женщин; только слабоалкогольные напитки (вино, пиво, коктейли) - 3 пациента (11,1%): 2 мужчин и 1 женщина, 10 пациентов (37%) предпочитали различные по крепости напитки. 16 пациентов (59,3%) предпочитали только один алкогольный напиток, 11 пациентов (40,7%) употребляли два и более алкогольных напитков. Большинство пациентов - 24 человека (88,9%): предпочитали крепкие алкогольные напитки, из них 9 одновременно сочетали прием со слабоалкогольными напитками, при этом четверо пациентов (14,8%) сообщали, что могли употреблять различные крепкие напитки (водка, виски, джин, коньяк).

Анализ характера злоупотребления алкоголем установил, что 17 (63%) пациентов употребляли спиртные напитки равномерно в течение недели, а у 10 (37%) пациентов отмечался запойный характер употребления алкоголя.

**Анализ жалоб пациентов.** При поступлении в клинику жалобы на слабость в ногах и, связанные с ней, затруднения при ходьбе предъявляли 12 пациентов (44,5%): 3 мужчин и 9 женщин. Двое пациентов испытывали трудности при подъеме из положения глубокого приседания, а также при подъеме и спуске по лестнице. 4 больных отмечали преимущественную слабость в стопах. 6 пациентов предъявляли жалобы на наличие слабости, как в стопах, так и в мышцах бедер, различной степени выраженности. Двое - использовали средства дополнительной опоры при ходьбе в связи с выраженностью пареза. 8 пациентов (29,6%) жаловались на похудание мышц конечностей. Двое больных также предъявляли жалобы на слабость в мышцах плечевого пояса, трудности при поднимании рук, 6 пациентов отмечали наличие слабости в кистях. Никто из пациентов при активном опросе не предъявлял жалобы на боли в мышцах.

Разнообразные жалобы сенсорного характера в ногах как негативные (от легкого ощущения онемения в стопах и голених до практически полной анестезии), так и позитивные (болезненные ощущения в стопах различной интенсивности, ощущение жжения, простреливающие боли, покалывание) отмечались у 21 пациента (77,8%). 11 пациентов (40,7%) также предъявляли жалобы на расстройство чувствительности (онемение, покалывание, жжение) в кистях.

6 пациентов (22,2%) отмечали пошатывание и неустойчивость при ходьбе. Пятеро пациентов (18,5%) обращали внимание на ощущение ходьбы по неровному полу, усиливающееся в темноте и при закрывании глаз.

При анализе **анамнестических данных** установлено, что у 6 (22,2%) пациентов (1 мужчина и 5 женщин) имело место остро-подострое развитие слабости в нижних конечностях: у 2х пациентов - проксимального и дистального тетрапареза, у 3 пациентов слабости в кистях и нижнего парапареза, у 1 пациента – нижнего проксимального парапареза. 3 пациента в период остро развившейся слабости не могли самостоятельно встать с постели, самостоятельно передвигаться, в связи с чем, нуждались в постороннем уходе. Остальные больные передвигались самостоятельно, однако при подъеме из положения глубокого приседания и при ходьбе по лестнице возникала необходимость в дополнительной опоре. Во всех случаях симптомы развивались после употребления алкоголя в течение нескольких дней, нарастали в течение от 1 до 7 дней и в последующем сохранялись от нескольких недель до нескольких месяцев. Состояние сопровождалось симптомами общей интоксикации с тошнотой, рвотой, иногда диареей. Четверо пациентов отметили значительную (около 10 кг) потерю массы тела в течение месяца. В течение нескольких дней у пяти пациентов присоединились жалобы на расстройства чувствительности в виде ощущения онемения в стопах, голених и кистях, у четырех – онемение сопровождалось чувством жжения и простреливающими болями в стопах и кистях.

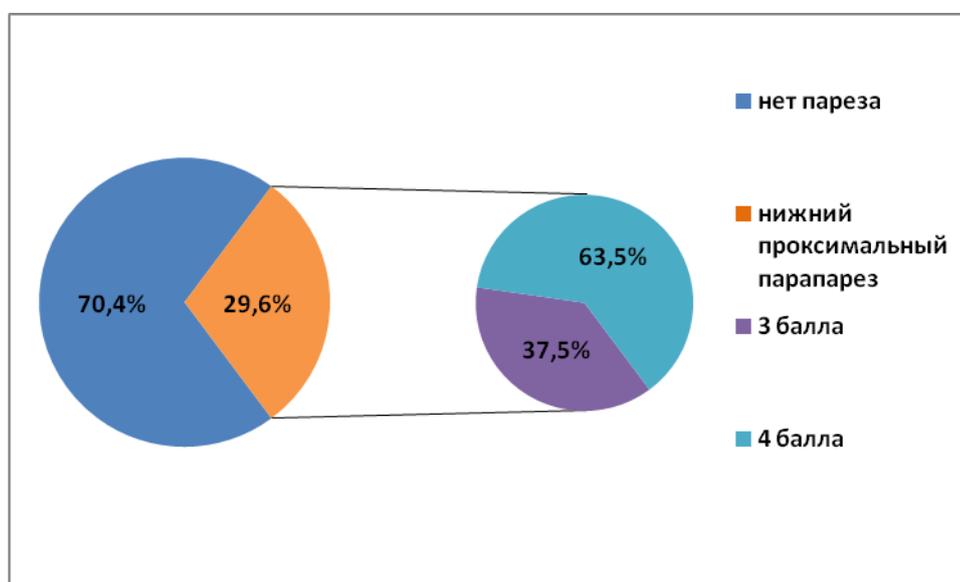
Практически у всех пациентов данной группы имел место запойный характер употребления этанол-содержащих напитков, при этом они отрицали факт наличия болей в мышцах бедер и потемнения мочи. Все пациенты были осмотрены и обследованы в период не ранее, чем через 1 месяц от начала развития симптомов.

**При клиническом неврологическом обследовании** двигательные нарушения в виде периферических вялых парезов выявлены у 11 (40,8%) больных: у 4 симметричный тетрапарез, у 2 – симметричный нижний проксимальный тетрапарез, у 2 – сочетание проксимального и дистального нижнего парапареза, у 2 – нижний дистальный симметричный парапарез, у 1 – верхний парапарез. Клинические признаки симметричного нижнего проксимального парапареза, как изолированного, так и в сочетании с дистальным, были выявлены в 8 случаях (29,6%): у 2 мужчин и 6 женщин. Степень пареза варьировала от 3 баллов (у 3 пациентов) до 4 баллов (у 5 пациентов) как в передней, так и в задней группах мышц бедер и во всех случаях сопровождалась мышечной гипотонией и гипотрофией. У 2 пациентов слабость в проксимальных отделах выявлялась лишь в специальных пробах с глубоким приседанием (передняя группа мышц) и при удержании согнутых в коленях ног в положении лежа на животе (задняя группа мышц).

В случае периферического тетрапареза слабость в руках в 3 случаях выявлялась лишь в кистях и оценивалась в 4 балла и в 1 случае имело место сочетание проксимальной (4 балла) и дистальной (3 балла) слабости верхних конечностей. Все пациенты с клиническими проявлениями периферического тетрапареза относились к подгруппе пациентов с остро-подострым развитием слабости и были обследованы на этапе стабилизации симптомов. Таким образом, клинически у пациентов с остро-подострым развитием симптомов распространенность и степень парезов были более выраженными, чем в группе в целом.

При осмотре пациентов в отдаленном периоде (не менее чем через 1 месяц после развития симптомов) клинические проявления в подгруппе пациентов с остро-подострым развитием двигательных и чувствительных нарушений в одном случае были представлены вялым симметричным проксимальным и дистальным тетрапарезом. У 3х пациентов из данной подгруппы имелись клинические проявления дистального симметричного пареза в кистях, а также нижнего вялого проксимального и дистального парапареза. При этом у двоих пациентов выраженность нижнего парапареза преобладала в проксимальных отделах. В одном случае имел место вялый проксимальный парапарез и у еще 1го пациента была клиника нижнего дистального парапареза. Во всех случаях двигательные нарушения сопровождались расстройствами чувствительности по полиневропатическому типу.

**График №4. Распределение и степень выраженности нижнего вялого проксимального симметричного парапареза в группе пациентов.**



**Глубокие рефлексy** с рук (карпорадиальные, с сухожилий двуглавой и трехглавой мышц) были снижены у 2 пациентов (7,4%) и оставались живыми у 25 пациентов (92,6%). Коленные рефлексy отсутствовали у 5 обследованных (18,5%), были снижены – у 7 (25,9%) и оставались живыми у

15 (55,6%). Ахилловы рефлексы не вызывались у 14 пациентов (51,9%). Еще у 5 обследованных (18,5%) выявлялось асимметричное выпадение ахиллова рефлекса с одной стороны, что вероятно обусловлено наличием остаточных явлений перенесенной радикулопатии. В 3х случаях (11,1%) ахилловы рефлексы были снижены, и в 5-ти (18,5%) – оставались живыми. Ни в одном из обследованных случаев патологические кистевые и стопные рефлексы не выявлялись.

Клиническое исследование поверхностной **чувствительности** (болевой и температурной) выявило наличие гипалгезии у 10 (37,0%), гипералгезии - у 5 (18,5%), сочетание гиперестезии и аллодинии – у 3х пациентов в нижних конечностях. Распространенность чувствительных нарушений варьировала от кончиков пальцев до уровня коленных суставов. Снижение поверхностной чувствительности в руках выявлялось у 3 (11,1%) пациентов в виде гипестезии в кистях.

Тактильная чувствительность в ногах была снижена у 12 (44,5%) пациентов. При исследовании суставно-мышечного чувства в стопах снижение выявлялось у 7 (25,9%) пациентов, у 1 (3,7%) пациента – отсутствовала. У 13 (48,1%) пациентов отмечалось снижение вибрационной чувствительности. Среднее значение вибрационной чувствительности на уровне дистальной фаланги большого пальца стопы составила  $6,14 \pm 0,6$  (норма – 8 баллов). Воспроизводимых нарушений глубокой чувствительности в руках у обследованных пациентов выявлено не было.

У 11 (40,8%) обследованных пациентов отмечались клинические симптомы сенситивной атаксии, проявляющейся нарастанием неустойчивости при закрывании глаз. Симптомы мозжечковой атаксии выявлялись у 15 (55,6%) пациентов и проявлялись интенцией при выполнении динамических координаторных проб в конечностях. В 6 (22,2%) случаях отмечалось сочетание симптомов сенситивной и мозжечковой атаксии.

## **ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.**

### **3.1. Результаты биохимического анализа крови**

Анализ результатов исследования печеночных ферментов (АСТ, АЛТ, Г-ГТ) выявил их повышение в группе испытуемых по сравнению с группой контроля. При статистической обработке выявлено достоверное повышение уровня АСТ и Г-ГТ у пациентов по сравнению с контролем.

Уровень Г-ГТ превышал референсные значения у 14 пациентов (51,9%): у 7 мужчин и 7 женщин. У четырех испытуемых показатель превышал допустимую норму более чем в 10 раз, у семи – был превышен более чем в два раза, в 3х случаях – превышение было менее, чем в 1,5 раза. С целью получения достоверных данных для статистической обработки групп с нормальным распределением чисел пациенты были распределены на 2 группы по уровню Г-ГТ: со значениями, превышающими и не превышающими 100 ед/л. В результате получены достоверные различия каждой из групп пациентов в сравнении с контролем.

У 9 (33,3%) пациентов (3 мужчин и 6 женщин) выявлялось повышение уровня АСТ или АЛТ, у пяти из них были повышены показатели обоих ферментов. Средний уровень АСТ составил  $47,26 \pm 9,9$  ед/л (контроль  $18,8 \pm 0,8$ ), АЛТ  $34,7 \pm 4,3$  ед/л (контроль  $19,5 \pm 1,9$ ). Следовательно, повышение уровня АСТ и АЛТ, и в большей степени Г-ГТ могут свидетельствовать о длительном токсическом действии этанола и его метаболитов на функцию печени.

У всех обследованных пациентов уровень КФК оставался в пределах референсных значений и достоверно не отличался от группы контроля, что указывает на отсутствие признаков некроза мышечной ткани. В группе пациентов среднее значение уровня КФК составило  $86,4 \pm 8,0$  ед/л, что

достоверно не отличалось от данного показателя в группе контроля (64,0 ±2,1).

**Таблица №9. Результаты биохимического анализа крови.**

Данные лабораторных исследований	Пациенты (n-27)	Контроль (n-10)
АСТ (ед/л)	47,26±9,9*	18,8 ±0,8
АЛТ (ед/л)	34,7±4,3	19,5 ±1,9
ГГТ (ед/л) группа1 < 100 ед/л	37,5±6,1**	18,7 ±1,1
ГГТ (ед/л) группа2 > 100 ед/л	595,7±134,9*	18,7 ±1,1
КФК (ед/л)	86,4 ±8,0	64,0 ±2,1
* p<0,01 (пациенты - контроль); ** p<0,05 (пациенты - контроль)		

При анализе результатов биохимического анализа крови по группам, разделенным по гендерному признаку, получены следующие результаты. В группе мужчин отмечалось достоверное повышение уровня АСТ, Г-ГТ. Также выявлено достоверное повышение уровня КФК, однако, результаты анализа КФК у всех пациентов данной группы были в пределах референсных значений, что обусловлено гендерными особенностями. В группе женщин выявлено достоверное повышение уровня всех печеночных ферментов (АСТ, АЛТ и Г-ГТ). Более низкие по сравнению с мужчинами значения КФК обусловлены влиянием эстрогенов. Полученные результаты представлены в таблице №10.

**Таблица №10. Результаты биохимического анализа крови у мужчин и женщин в сравнении с контролем.**

Данные лабораторных исследований	Мужчины (n=14)	Женщины (n=13)	Контроль (n-10)
АСТ (ед/л)	30,9±14,3*	64,8±19,3*	18,8 ±0,8
АЛТ (ед/л)	30,4±19,6	39,4±6,8*	19,5 ±1,9
ГГТ (ед/л)	87,3±110,9*	331,7±124,4*	18,7 ±1,1

КФК (ед/л)	103,3±29,3*	67,0±10,4	64,0 ±2,1
* $p \leq 0,05$ (группа - контроль)			

Анализ данных лабораторного исследования в подгруппе пациентов с остро-подострым развитием слабости (6 пациентов) выявил достоверное повышение уровня АЛТ и Г-ГТ по сравнению с контролем.

**Таблица №11. Результаты биохимического анализа крови у пациентов с остро-подострым развитием двигательных нарушений в сравнении с контролем.**

Данные лабораторных исследований	Подгруппа пациентов с остро-подострым развитием парезов (n-6)	Контроль (n-10)
АСТ (ед/л)	75,0±36,6	18,8 ±0,8
АЛТ (ед/л)	47,3±10,4 *	19,5 ±1,9
ГГТ (ед/л)	302,0±215,2*	18,7 ±1,1
КФК (ед/л)	73,0 ±25,3	64,0 ±2,1
* $p < 0,05$ (подгруппа - контроль)		

### 3.2. Результаты исследования уровня IGF-1 (соматомедин С) в плазме крови

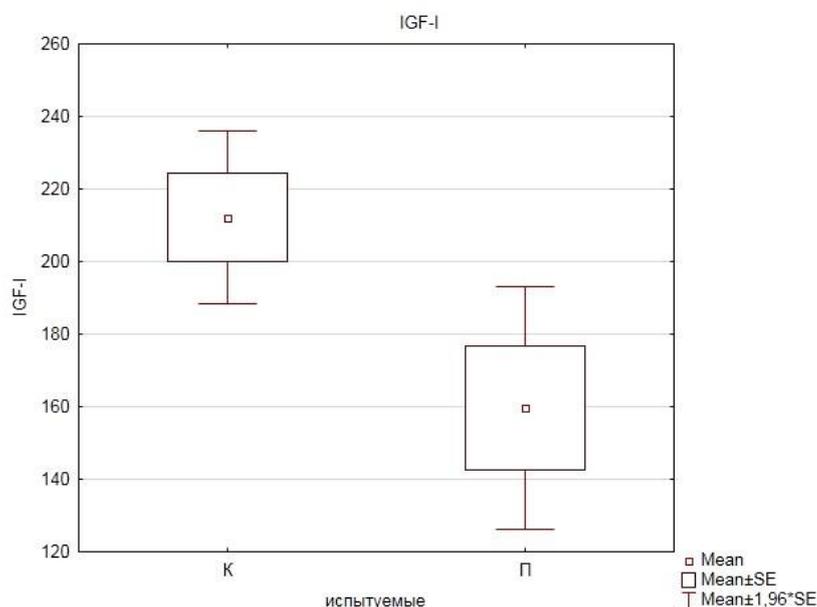
Снижение уровня IGF-1 в крови выявлено у 21 (77,8%) пациента: у 10 мужчин и 11 женщин. При исследовании уровня IGF-1 в группе обследованных средний показатель составил 159,7±17,0 нг/мл, что достоверно ниже, чем в группе контроля (212,1±12,1 нг/мл).

**Таблица №12. Результаты исследования IGF-I в плазме крови.**

Данные лабораторных исследований	Пациенты (n-27)	Контроль (n-10)
IGF-1 (нг/мл)	159,7±17,0*	212,1±12,1

\*  $p < 0,05$  (пациенты - контроль)

**График №5. Уровень IGF-I в плазме крови у группы контроля (К) и пациентов (П).**



При исследовании уровня IGF-I по группам, разделенным по гендерному признаку, выявлено его достоверное снижение у женщин и тенденцию к снижению у мужчин. Средний уровень IGF-I в группе мужчин составил  $192,2 \pm 83,7$  нг/мл, в группе женщин -  $145,5 \pm 89,6$  нг/мл. Полученные результаты представлены в таблице №13.

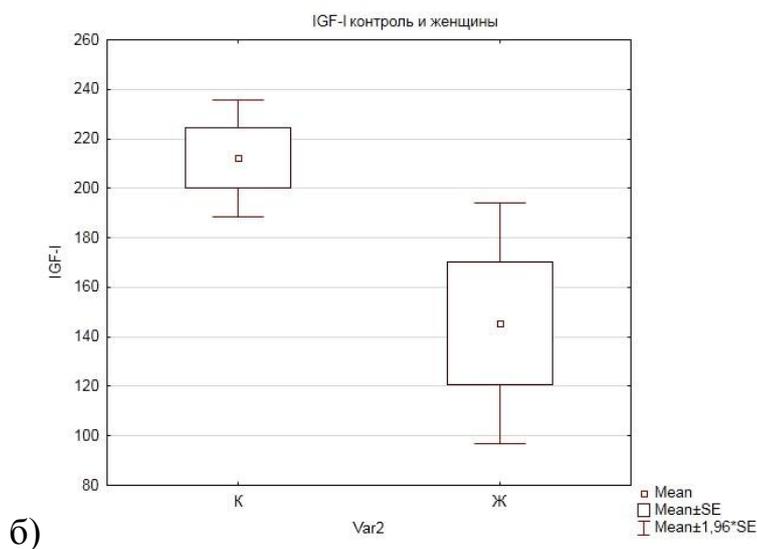
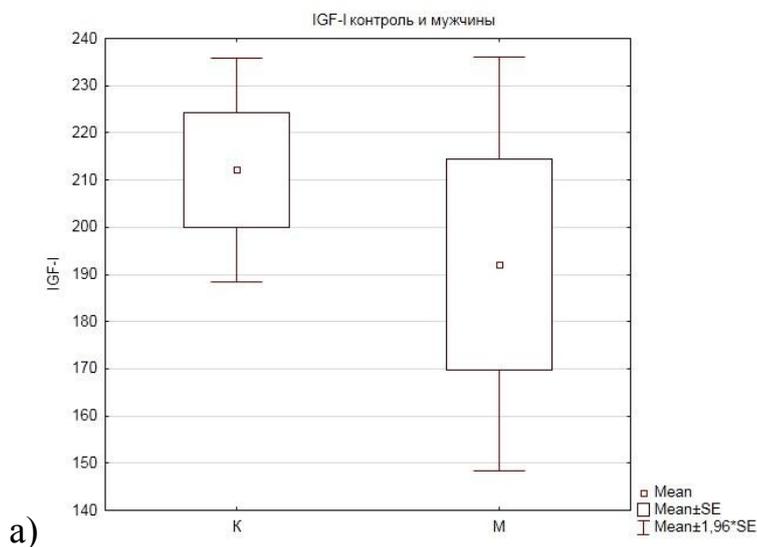
**Таблица №13. Результаты исследования IGF-I в плазме крови у мужчин и женщин в сравнении с контролем.**

Данные лабораторных исследований	Мужчины (n=14)	Женщины (n=13)	Контроль (n=10)
IGF-1 (нг/мл)	$192,2 \pm 83,7$	$145,5 \pm 89,6$ *	$212,1 \pm 12,1$
* $p < 0,05$ (группа - контроль)			

Таким образом, на основании анализа результатов лабораторного исследования, установлено, что при сопоставимом по длительности и количеству потребляемого алкоголя у женщин выявляется более значимое по

сравнению с мужчинами повреждение ткани печени и снижение ее белково-синтетической функции.

**График №6. Уровень IGF-I в крови у контроля (К) в сравнении с группами пациентов мужчин (а) и женщин (б).**



Уровень содержания IGF-I в данной в подгруппе пациентов с остро-подострым развитием слабости (6 пациентов) составил  $181,5 \pm 29,5$  нг/мл (контроль  $212,1 \pm 12,1$ ), что достоверно не отличалось от контроля. Отсутствие снижения IGF-I в этой подгруппе может быть обусловлено исследованием его уровня у пациентов через короткий промежуток времени (1-2 месяца) после остро-подострого развития двигательных нарушений, а

тенденция к снижению его содержания может свидетельствовать об инициации процесса нарушения белково-синтетической функции печени.

## ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ

Проводилась стимуляционная электромиография (ЭМГ) с оценкой скорости распространения возбуждения по двигательным и чувствительным волокнам нервов нижних конечностей и амплитуды М- и S-ответов, а также игольчатая ЭМГ мышц нижних конечностей для последующей оценки уровня поражения периферического нейромоторного аппарата.

Анализ данных **стимуляционной ЭМГ** выявил достоверное снижение скорости распространения возбуждения по двигательным волокнам всех исследованных нервов нижних конечностей, а также достоверное снижение амплитуды двигательного ответа по малоберцовому нерву и амплитуды чувствительного ответа по поверхностному малоберцовому и икроножному нервам в группе пациентов по сравнению контролем. Полученные данные свидетельствуют о наличии сопутствующей невропатии.

**Таблица №14. Результаты стимуляционной электромиографии по двигательным и чувствительным волокнам нервов нижних конечностей.**

Исследуемые нервы	Параметры стимуляционной ЭМГ	Результаты стимуляционной ЭМГ	
		Пациенты (n=27)	Контроль (n=10)
<b>Двигательные волокна нервов нижних конечностей</b>			
Бедренный нерв	Амплитуда, мВ	5,8±0,7	6,4±0,7
	Дистальная латенция, мс	4,0±0,2 *	3,0±0,1
Малоберцовый нерв	Амплитуда, мВ	3,6±0,5 *	7,4±0,7
	Скорость распространения возбуждения, м/с	40,2±1,8 *	48,1±0,7
Большеберцовый нерв	Амплитуда, мВ	8,4±1,1	9,4±0,9
	Скорость распространения	42,0±1,0 *	48,4±1,4

	возбуждения, м/с		
<b>Чувствительные волокна нервов нижних конечностей</b>			
Поверхностный малоберцовый нерв	Амплитуда S-ответа, мкВ	3,7±0,9*	10,9±0,9
	Скорость распространения возбуждения, м/с	47,4±2,2	53,0±1,0
Икроножный нерв	Амплитуда S-ответа, мкВ	5,6±1,2*	14,2±1,9
	Скорость распространения возбуждения, м/с	48,3±1,6	54,5±1,5
* $p \leq 0,01$ (пациенты - контроль)			

При анализе данных стимуляционной ЭНМГ у пациентов мужского и женского пола получены результаты аналогичные в группе в целом: выявлено достоверное снижение скорости распространения возбуждения по всем исследованным нервам нижних конечностей и достоверное снижение амплитуды двигательного и чувствительного ответа по малоберцовому нерву. Однако, у мужчин в отличие от женщин не получено достоверных различий в амплитуде чувствительного ответа по икроножному нерву в сравнении с контролем. Полученные данные могут свидетельствовать о большем поражении чувствительных волокон нервов нижних конечностей у женщин в сравнении с мужчинами при сопоставимой длительности и количестве потребляемого алкоголя. Результаты стимуляционной ЭНМГ у мужчин и женщин по сравнению с контролем представлены в таблице №15.

**Таблица №15. Результаты стимуляционной электромиографии по двигательным и чувствительным волокнам нервов нижних конечностей у мужчин и женщин по сравнению с группой контроля.**

Исследуемые нервы	Параметры стимуляционной ЭМГ	Результаты стимуляционной ЭМГ		
		Мужчины (n=14)	Женщины (n=13)	Контроль (n=10)

<b>Двигательные волокна нервов нижних конечностей</b>				
Бедренный нерв	Амплитуда, мВ	6,7±4,2	4,9±2,3	6,4±0,7
	Дистальная латенция, мс	4,2±1,2*	3,8±0,9*	3,0±0,1
Малоберцовый нерв	Амплитуда, мВ	4,1±3,1*	3,1±1,6 *	7,4±0,7
	Скорость распространения возбуждения, м/с	39,3±12,7 **	41,2±3,9 *	48,1±0,7
Большеберцовый нерв	Амплитуда, мВ	8,6±6,0	8,1±5,3	9,4±0,9
	Скорость распространения возбуждения, м/с	43,0±4,7 *	40,8±5,0 *	48,4±1,4
<b>Чувствительные волокна нервов нижних конечностей</b>				
Поверхностный малоберцовый нерв	Амплитуда S-ответа, мкВ	5,0±1,3 *	2,2±1,1 *	10,9±0,9
	Скорость распространения возбуждения, м/с	46,1±2,9	50,2±2,5	53,0±1,0
Икроножный нерв	Амплитуда S-ответа, мкВ	8,2±1,9	2,9±0,9 *	14,2±1,9
	Скорость распространения возбуждения, м/с	48,7±2,1	48,1±2,5	54,5±1,5
* $p \leq 0,01$ ; ** $p \leq 0,05$ (группа - контроль)				

Данные стимуляционной ЭНМГ по двигательным волокнам в подгруппе пациентов с остро-подострым развитием слабости в нижних конечностях (6 пациентов) в целом соответствовали результатам стимуляционной ЭНМГ в группе в целом: выявлено достоверное снижение скорости распространения возбуждения по всем исследованным нервам нижних конечностей, а также достоверное снижение амплитуды двигательного ответа по малоберцовому нерву. При этом также выявлено достоверное снижение амплитуды двигательного ответа по большеберцовому

нерву. Данные стимуляционной ЭНМГ по чувствительным волокнам нервов нижних конечностей выявили в подгруппе пациентов с остро-подострым развитием симптомов достоверное снижение и амплитуды (как в группе в целом) и скорости распространения возбуждения по чувствительным волокнам. Полученные данные могут свидетельствовать о наличии дополнительного, например дефицитарного, механизма повреждения чувствительных волокон нервов нижних конечностей при остро-подостром развитии симптомов.

**Таблица №16. Результаты стимуляционной электромиографии по двигательным и чувствительным волокнам нервов нижних конечностей в подгруппе пациентов с остро-подострым развитием симптомов по сравнению контролем.**

Исследуемые нервы	Параметры стимуляционной ЭМГ	Результаты стимуляционной ЭМГ	
		Подгруппа (n=6)	Контроль (n=10)
<b>Двигательные волокна нервов нижних конечностей</b>			
Бедренный нерв	Амплитуда, мВ	3,9±0,9	6,4±0,7
	Дистальная латенция, мс	3,9±0,5 *	3,0±0,1
Малоберцовый нерв	Амплитуда, мВ	2,1±0,5 *	7,4±0,7
	Скорость распространения возбуждения, м/с	38,7±1,6 *	48,1±0,7
Большеберцовый нерв	Амплитуда, мВ	5,2±1,8	9,4±0,9
	Скорость распространения возбуждения, м/с	39,0±2,0 *	48,4±1,4
<b>Чувствительные волокна нервов нижних конечностей</b>			
Поверхностный малоберцовый нерв	Амплитуда S-ответа, мкВ	1,3±0,9 *	10,9±0,9
	Скорость распространения	43,0±3,0 *	53,0±1,0

	возбуждения, м/с		
Икроножный нерв	Амплитуда S-ответа, мкВ	3,5±1,7*	14,2±1,9
	Скорость распространения возбуждения, м/с	42,8±4,1 *	54,5±1,5
* $p \leq 0,01$ (подгруппа - контроль)			

### Результаты игольчатой электромиографии мышц бедра.

Методом игольчатой электромиографии у всех пациентов исследовались латеральная головка четырехглавой мышцы бедра (*m. quadriceps femoris - vastus lateralis*). У 8 пациентов исследована мышца задней группы бедра – двуглавая мышца бедра (*m. biceps femoris caput longum*). При проведении игольчатой ЭМГ оценивалось наличие миопатического паттерна, для которого характерны полифазные потенциалы двигательных единиц (ПДЕ) уменьшенной амплитуды и длительности (Гехт Б.М., Касаткина Л.Ф. и др., 1997). Все результаты игольчатой ЭМГ пациентов сравнивались с нормальными значениями параметров ПДЕ исследованных мышц для данной возрастной группы (таблицы Н.Р.Лудин, 1980, Гехт Б.М., Касаткина Л.Ф. с соавт., 1997).

**Таблица №17. Результаты игольчатой ЭМГ в группе пациентов.**

Параметры игольчатой электромиографии	Результаты игольчатой электромиографии	
	Пациенты	Норма для данной возрастной группы
	Латеральная головка четырехглавой мышцы бедра ( <i>m. Quadriceps femoris vastus lateralis</i> ) (n=27)	
Средняя длительность, мс	10,2±0,2 *	11-12
Средняя амплитуда, мкВ	1373,6±106,9 *	600-700
Максимальная амплитуда, мкВ	2657,5±209,8 *	До 1500

% полифазных ПДЕ, %	14,8±2,1	До 10%
Спонтанная денервационная активность (ПФ, ПОВ)	У 3х пациентов (единичные ПФ и ПОВ)	нет
Потенциалы фасцикуляций	У 2 пациентов (единичные ПФц)	нет
	<b>Двуглавая мышца бедра (m. biceps femoris caput longum) (n=8)</b>	
Средняя длительность, мс	9,5±0,2*	10,6-12,2
Средняя амплитуда, мкВ	1237,3±215,0*	600-700
Максимальная амплитуда, мкВ	2312,2±435,4*	До 1500
% полифазных ПДЕ, %	16,5±3,1*	До 10 %
Спонтанная денервационная активность (ПФ, ПОВ)	У 2 пациентов (единичные ПФ и ПОВ)	Нет
Потенциалы фасцикуляций	У 1 пациента (единичные ПФц)	нет
* $p \leq 0,05$ (пациенты - норма для данной возрастной нормы)		

При анализе данных игольчатой ЭМГ мышц бедра у большинства – 24 пациентов (88,9%) выявлялось уменьшение средней длительности в сочетании с увеличением средней и максимальной амплитуды ПДЕ, что может указывать как на мышечный, так и невральный уровень поражения. Спонтанная денервационная активность в мышцах бедра в виде единичных ПФ, ПОВ регистрировалась у 3 пациентов. Полученные данные указывают на отсутствие типичного миопатического паттерна и могут быть проявлением как невального, преимущественно аксонального, так и мышечного поражения.

При анализе результатов игольчатой ЭМГ у мужчин и у женщин выявлено достоверное уменьшение средней длительности в сочетании с увеличением средней и максимальной амплитуды ПДЕ. Спонтанная денервационная активность в виде единичных ПФ и ПОВ регистрировалась у 3 пациентов: 1 мужчины и 2 женщин. Результаты игольчатой ЭМГ мышц бедра у мужчин и женщин представлены в таблице №18.

**Таблица №18. Результаты игольчатой ЭМГ у мужчин и женщин в сравнении с контролем.**

Параметры игольчатой электромиографии	Результаты игольчатой электромиографии		
	Мужчины (n=14)	Женщины (n=13)	Норма для данной возрастной группы
	<b>Латеральная головка четырехглавой мышцы бедра (m. Quadriceps femoris vastus lateralis) (n=27)</b>		
Средняя длительность, мс	10,4±0,5 *	9,8±0,9 *	11-12
Средняя амплитуда, мкВ	1418,7±594,4 *	1324±529,9 *	600-700
Максимальная амплитуда, мкВ	2484,7±1011,7 *	2877,5±1102,6 *	До 1500
% полифазных ПДЕ, %	13,6±10,5	16,3±10,3	До 10%
Спонтанная денервационная активность (ПФ, ПОВ)	У 1 пациента (единичные ПФ и ПОВ)	У 2х пациенток (единичные ПФ и ПОВ)	нет
Потенциалы фасцикуляций	нет	У 1 пациентки (единичные ПФц)	нет
	<b>Двуглавая мышца бедра (m. biceps femoris caput longum) (n=8)</b>		
Средняя длительность, мс	9,6±0,5*	9,5±0,7 *	10,6-12,2
Средняя амплитуда, мкВ	1500,7±668,0*	1079,2±583,9 **	600-700
Максимальная амплитуда, мкВ	2531,3±1010,4*	2093,0±1295,6	До 1500
% полифазных ПДЕ, %	19,4±6,6*	14,0±9,0	До 10 %
Спонтанная денервационная активность (ПФ, ПОВ)	нет	У 2х пациенток (единичные ПФ и ПОВ)	нет
Потенциалы фасцикуляций	нет	нет	нет
* p≤0,01; ** p≤0,05 (группа - норма для данной возрастной нормы)			

Анализ результатов игольчатой ЭМГ в группе пациентов с остро-подострым развитием двигательных нарушений (6 пациентов) выявил, как и в группе в целом, достоверно снижение средней длительности в сочетании с увеличением средней и максимальной амплитуды ПДЕ. При индивидуальном анализе установлено, что во всех 3х случаях наличия спонтанной денервационной активности имело место остро-подострое развитие слабости в нижних конечностях после периода запоя.

**Таблица №19. Результаты игольчатой ЭМГ в подгруппе пациентов с остро-подострым развитием двигательных нарушений.**

Параметры игольчатой электромиографии	Результаты игольчатой электромиографии	
	Подгруппа (n=6)	Норма для данной возрастной группы
	<b>Латеральная головка четырехглавой мышцы бедра (m. Quadriceps femoris vastus lateralis) (n=6)</b>	
Средняя длительность, мс	10,4±0,2 *	11-12
Средняя амплитуда, мкВ	1545,4±215,2 *	600-700
Максимальная амплитуда, мкВ	3583,5±613,9 *	До 1500
% полифазных ПДЕ, %	12,5±7,8	До 10%
Спонтанная денервационная активность (ПФ, ПОВ)	У 3х пациентов (единичные ПФ и ПОВ)	нет
Потенциалы фасцикуляций	У 1 пациента (единичные ПФц)	нет
	<b>Двуглавая мышца бедра (m. biceps femoris caput longum) (n=4)</b>	
Средняя длительность, мс	9,5±0,2*	10,6-12,2
Средняя амплитуда, мкВ	964,8±202,1**	600-700
Максимальная амплитуда, мкВ	2299,5±955,9**	До 1500
% полифазных ПДЕ, %	15,0±10,0*	До 10 %
Спонтанная денервационная	У 2 пациентов (единичные ПФ и ПОВ)	Нет

активность (ПФ, ПОВ)		
Потенциалы фасцикуляций	У 1 пациента (единичные ПФц)	нет
* $p \leq 0,01$ ** $p \leq 0,05$ (подгруппа - норма для данной возрастной нормы)		

## **ГЛАВА 6. РЕЗУЛЬТАТЫ МРТ-ИССЛЕДОВАНИЯ МЫШЦ БЕДЕР**

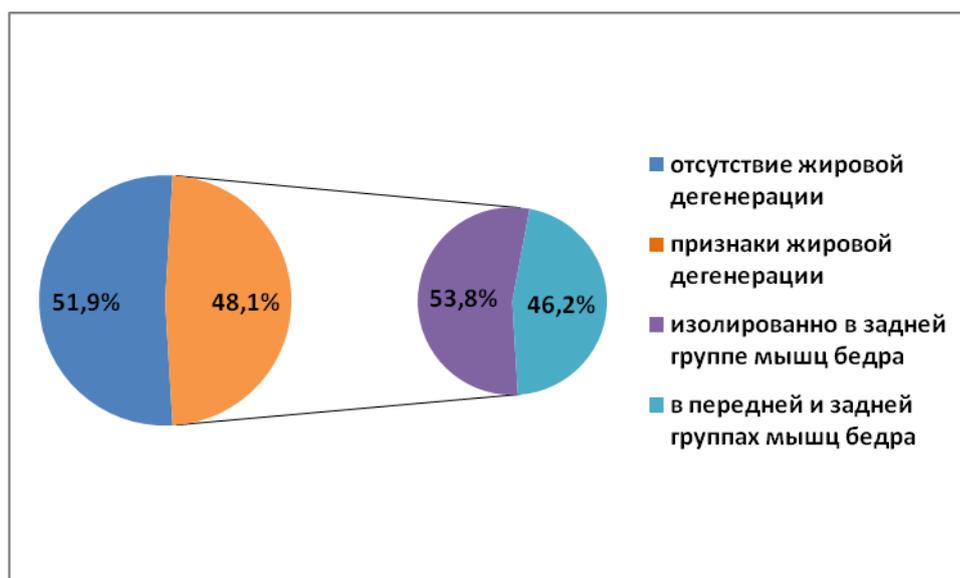
В соответствии с поставленными задачами 26 пациентам было проведено МРТ мышц бедра, с последующей качественной и количественной оценкой полученных результатов.

При анализе результатов МРТ степени дегенерации мышечной ткани (модификация по E. Mercuri) изменения в мышцах бедра отмечались у 13 (48,1%) пациентов: 5 мужчин и 8 женщин. При этом изменения в передней группе мышц бедра выявлялись у 6 пациентов (2 мужчин и 4 женщин), а в задней группе у всех 13 пациентов (5 мужчин и 8 женщин). Показатели степени жировой дегенерации варьировали от 1 до 2а стадии.

Анализ результатов МРТ шкале E. Mercuri в группе пациентов с остро-подострым развитием слабости выявил изменения у 5 (из 6 пациентов): изменения в передней группе бедра выявлены у 2 пациентов, в задней группе у 5 пациентов.

Таким образом, признаки дегенерации мышечной ткани в большей степени затрагивали мышцы задней группы бедра. Также выявлено, что признаки жировой дегенерации мышц чаще выявлялись у женщин, чем у мужчин.

**График №7. Результаты исследования изменения структуры мышц бедра по данным МРТ по шкале E. Mercuri.**



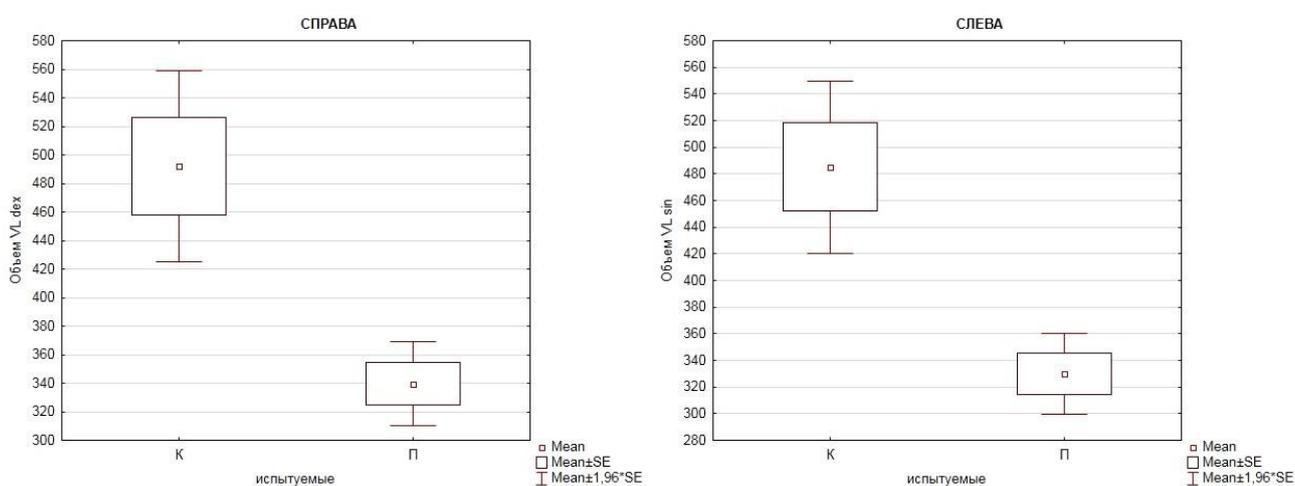
При анализе объема мышц бедер выявлено достоверное симметричное снижение объема мышц передней группы (латеральная головка четырехглавой мышцы бедра) в группе пациентов по сравнению с группой контроля. Средний объем латеральной головки четырехглавой мышцы бедра справа у пациентов составил  $339,5 \pm 15,0 \text{ см}^3$ , в контрольной группе справа -  $491,8 \pm 34,1 \text{ см}^3$ , средний объем латеральной головки четырехглавой мышцы бедра слева составил  $329,7 \pm 15,4 \text{ см}^3$ , у контроля слева -  $485,1 \pm 33,1 \text{ см}^3$ . При оценке задней группы мышц бедер выявлена тенденция к снижению объема двуглавой мышцы бедра. Средний объем двуглавой мышцы бедра у пациентов справа составил  $196,0 \pm 17,9 \text{ см}^3$ , у контроля справа -  $261,1 \pm 32,6 \text{ см}^3$ . Средний объем двуглавой мышцы бедра у пациентов слева -  $187,9 \pm 17,9 \text{ см}^3$ , у контроля слева -  $255,4 \pm 32,2 \text{ см}^3$ . Полученные данные представлены в таблице №20.

**Таблица №20. Данные объема скелетных мышц бедер пациентов в сравнении с контролем.**

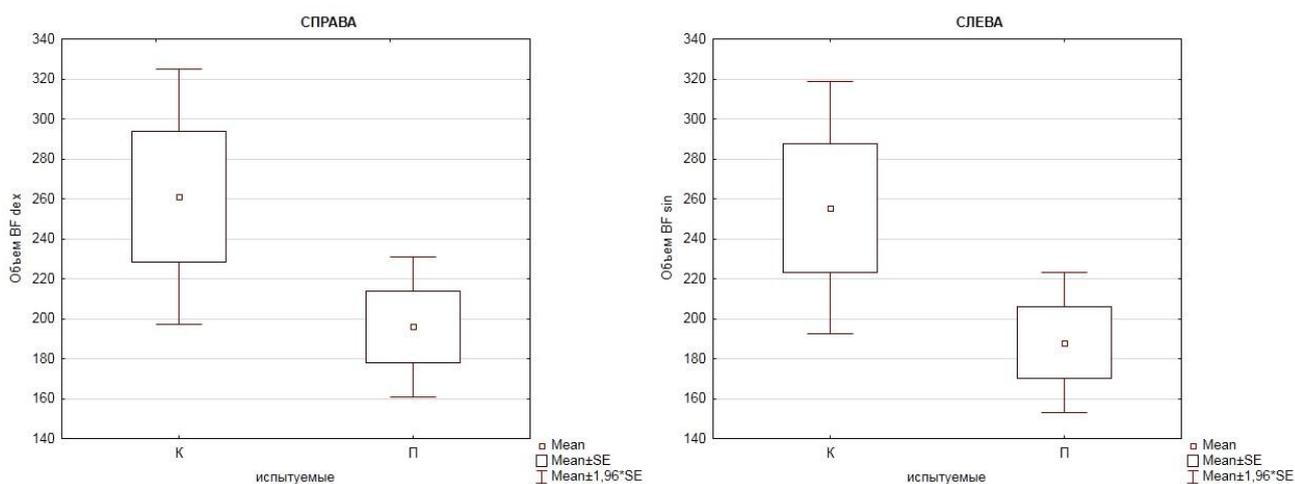
Исследуемые мышцы	Пациенты (n=26)		Контроль (n=10)	
	справа	слева	справа	слева
сторона				

латеральная головка четырёхглавой мышцы бедра, см <sup>3</sup>	339,5±15,0 *	329,7±15,4*	491,8±34,1	485,1±33,1
двуглавая мышца бедра, см <sup>3</sup>	196,0±17,9	187,9±17,9	261,1±32,6	255,4±32,2
* p≤0,01 (пациенты - контроль)				

**График №8. Объем латеральной головки четырехглавой мышцы бедра у пациентов (П) и контроля (К) справа и слева.**



**График №9. Объем двуглавой мышцы бедра у пациентов (П) и контроля (К) справа и слева.**



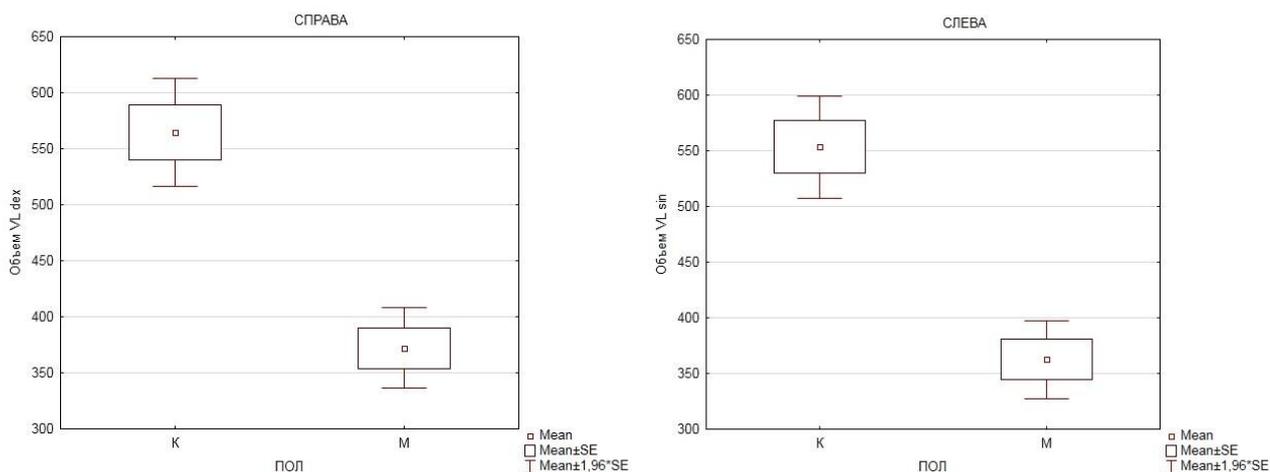
При оценке объема мышц бедра по данным МРТ в группах, разделенных по гендерному признаку, объем мышц пациентов-мужчин

сравнивался с объемом мышц у мужчин контрольной группы и, соответственно, в группе женщин-пациентов и женщин контрольной группы. Анализ результатов в группе пациентов мужского пола выявил достоверное симметричное снижение объема мышц передней и задней групп по сравнению с контролем. Средний объем латеральной головки четырехглавой мышцы бедра у мужчин справа составил  $372,1 \pm 66,0 \text{ см}^3$  (контроль  $564,5 \pm 55,4 \text{ см}^3$ ), слева -  $362,7 \pm 64,3 \text{ см}^3$  (контроль  $553,4 \pm 52,6 \text{ см}^3$ ). Средний объем двуглавой мышцы бедра у мужчин справа составил  $272,8 \pm 48,9 \text{ см}^3$  (контроль  $354,4 \pm 25,3 \text{ см}^3$ ), слева -  $265,0 \pm 47,5 \text{ см}^3$  (контроль  $348,1 \pm 24,9 \text{ см}^3$ ).

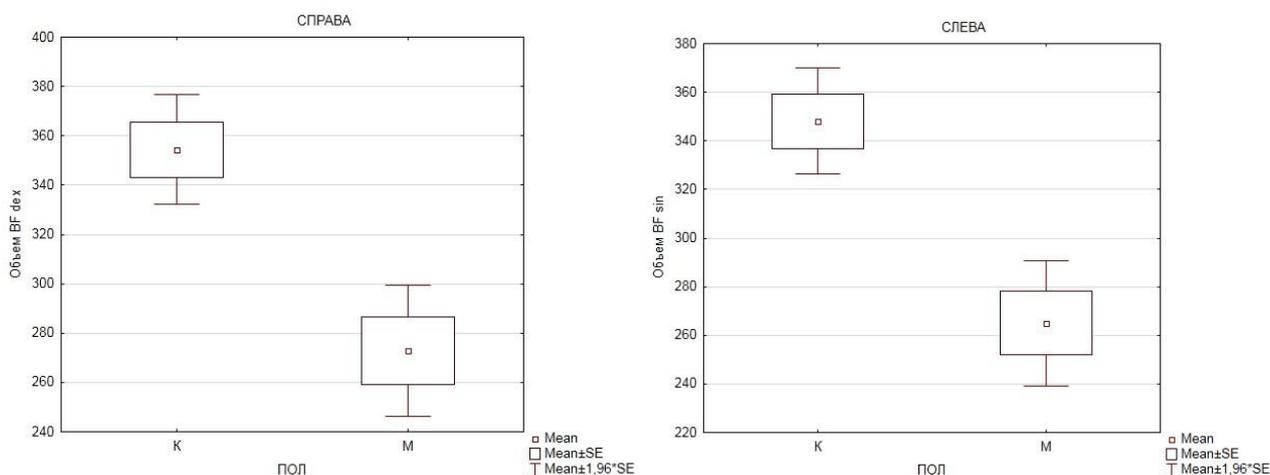
**Таблица №21. Данные объема скелетных мышц бедра у мужчин и женщин в сравнении с контролем.**

Исследуемые мышцы	Пациенты		Контроль	
	справа	слева	справа	слева
<b>Мужчины (n=13)</b>				
латеральная головка четырёхглавой мышцы бедра, $\text{см}^3$	$372,1 \pm 66,0^*$	$362,7 \pm 64,3^*$	$564,5 \pm 55,4$	$553,4 \pm 52,6$
двуглавая мышца бедра, $\text{см}^3$	$272,8 \pm 48,9^*$	$265,0 \pm 47,5^*$	$354,4 \pm 25,3$	$348,1 \pm 24,9$
<b>Женщины (n=13)</b>				
латеральная головка четырёхглавой мышцы бедра, $\text{см}^3$	$304,1 \pm 70,3^*$	$294 \pm 76,2^*$	$419,2 \pm 44,4$	$416,8 \pm 45,2$
двуглавая мышца бедра, $\text{см}^3$	$112,8 \pm 16,4^*$	$104,4 \pm 18,7^*$	$167,8 \pm 38,9$	$162,7 \pm 35,2$
$p \leq 0,01$ (группа – контроль)				

**График №10. Объем латеральной головки четырехглавой мышцы бедра у пациентов-мужчин (М) и контроля-мужчин (К) справа и слева.**

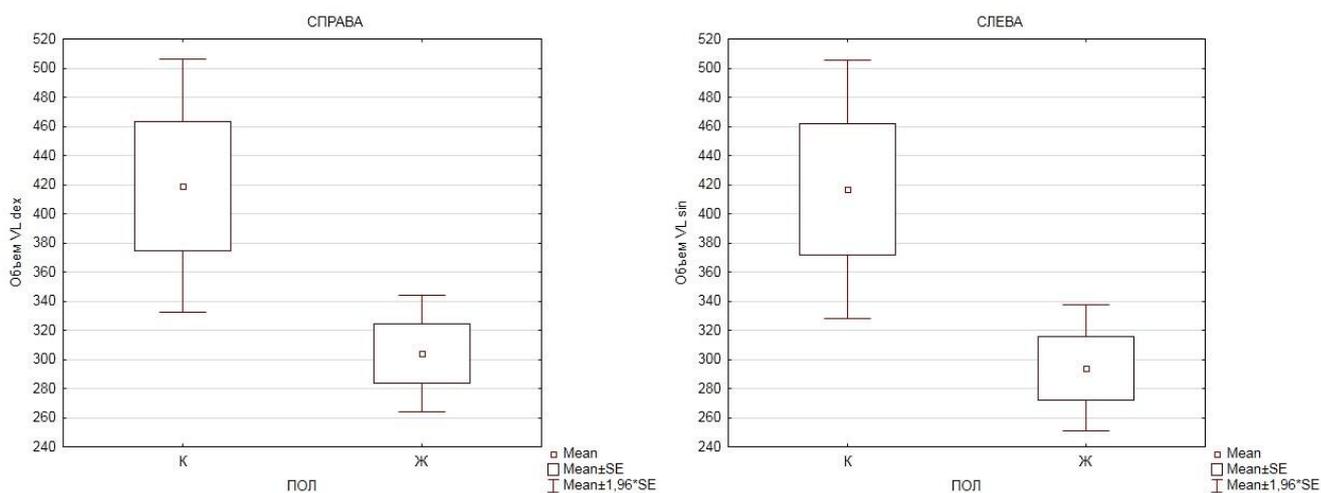


**График №11. Объем двуглавой мышцы бедра у пациентов-мужчин (М) и контроля-мужчин (К) справа и слева.**

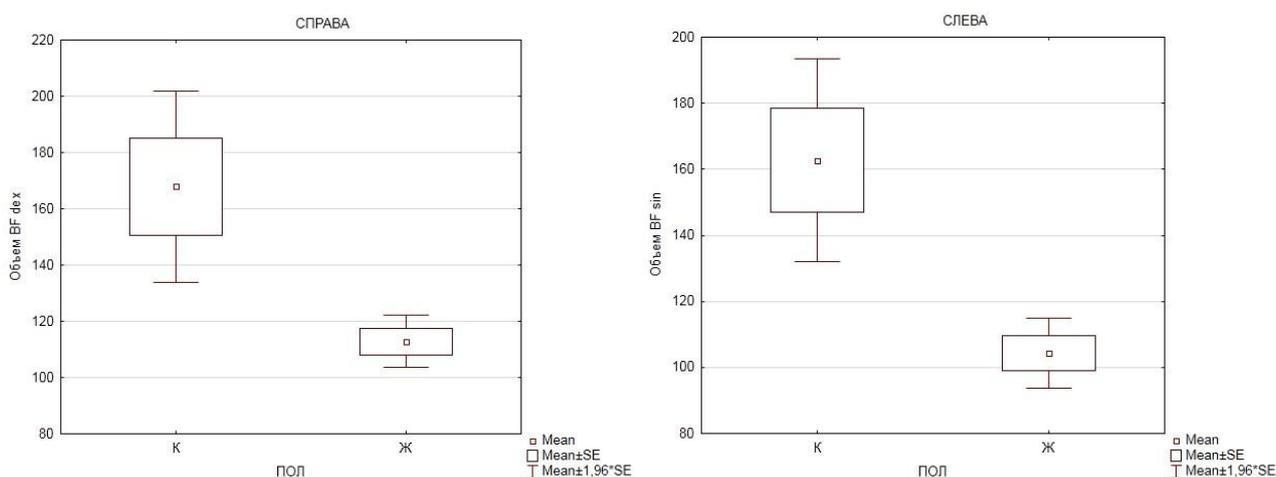


Анализ результатов в группе пациентов женского пола также выявил достоверное симметричное снижение объема мышц передней и задней групп в сравнении с контролем. Средний объем латеральной головки четырехглавой мышцы бедра у женщин справа составил  $304,1 \pm 70,3 \text{ см}^3$  (контроль  $419,2 \pm 44,4 \text{ см}^3$ ), слева  $294 \pm 76,2 \text{ см}^3$  (контроль  $416,8 \pm 45,2 \text{ см}^3$ ). Средний объем двуглавой мышцы бедра у женщин справа составил  $112,8 \pm 16,4 \text{ см}^3$  (контроль  $167,8 \pm 38,9 \text{ см}^3$ ), слева -  $104,4 \pm 18,7 \text{ см}^3$  (контроль  $162,7 \pm 35,2 \text{ см}^3$ ). Полученные результаты представлено в таблице №12.

**График №12. Объем латеральной головки четырехглавой мышцы бедра у пациентов-женщин (Ж) и контроля-женщин (К) справа и слева.**



**График №13 Объем двуглавой мышцы бедра у пациентов-женщин (Ж) и контроля-женщин (К) справа и слева.**



Анализ данных объема мышц бедра в группе пациентов с остро-подострым развитием двигательных нарушений (6 пациентов) выявил достоверное снижение объема передней и задней групп мышц в сравнении с контролем.

**Таблица №22. Данные объема скелетных мышц в подгруппе пациентов с остро-подострым развитием парезов в сравнении с контролем.**

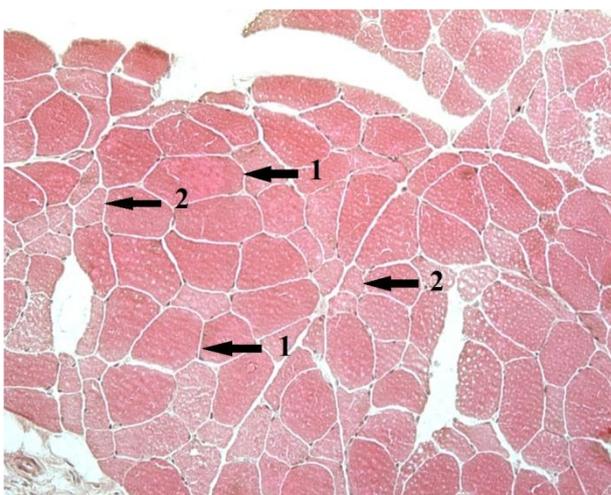
Исследуемые мышцы	Подгруппа пациентов с остро-подострым развитием парезов (n=6)		Контроль (n=10)	
	справа	слева	справа	слева
сторона	справа	слева	справа	слева

латеральная головка четырехглавой мышцы бедра, см <sup>3</sup>	286,9±29,1 *	269,1±31,1*	491,8±34,1	485,1±33,1
двуглавая мышца бедра, см <sup>3</sup>	137,7±27,5**	128,1±28,1**	261,1±32,6	255,4±32,2
* p≤0,01, ** p≤0,05 (подгруппа - контроль)				

## ГЛАВА 7. РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

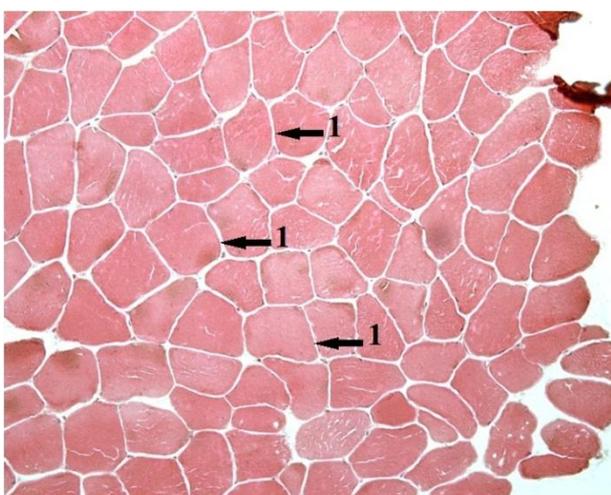
По результатам **морфологического исследования** у всех пациентов установлено, что большинство мышечных волокон имели правильную полигональную форму, однако встречались и мышечные волокна измененной формы. Во всех пробах отсутствовали признаки воспалительной инфильтрации, а также зоны некроза. Также не выявлено признаков группировки мышечных волокон, характерных для процесса денервации.

**Рисунок №7. Окраска гематоксилином и эозином (20-кратное увеличение объектива). Пациент и контроль.**



### Пациент.

1. – мышечные волокон полигональной формы нормального размера.
2. – мышечные волокна полигональной формы уменьшенного размера.



### Контроль.

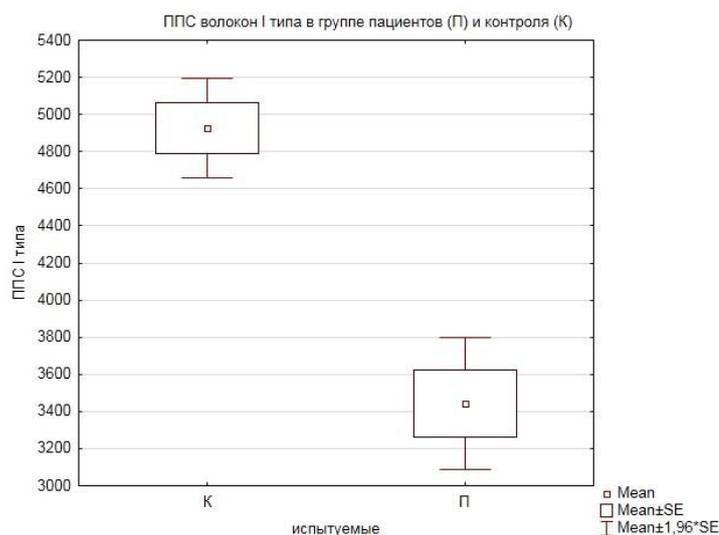
1. – мышечные волокна полигональной формы нормального размера.

**Результаты иммуногистохимического анализа мышечных срезов, окрашенных моноклональными антителами против МНС I и МНС II.**

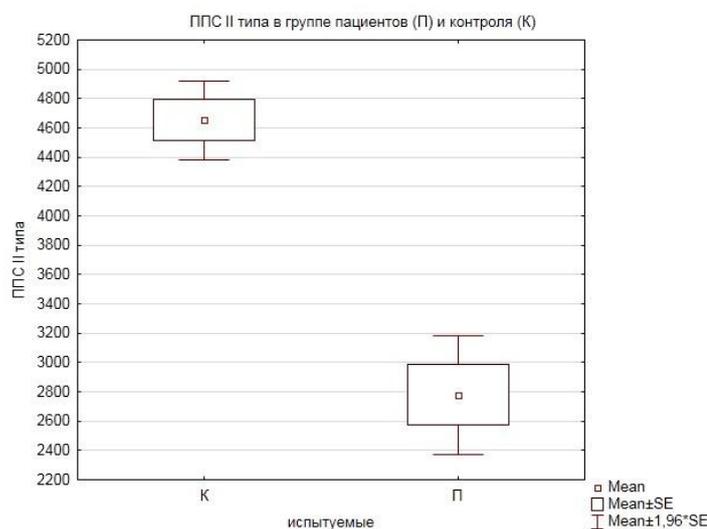
Анализ площади поперечного сечения (ППС) мышечных волокон выявил достоверное ( $p < 0,01$ ) уменьшение размеров волокон I-го и II-го типов в группе пациентов по сравнению с контролем. Средняя ППС волокон I типа у пациентов была равна  $3444 \pm 741$  мкм<sup>2</sup> (контроль  $4928 \pm 547$  мкм<sup>2</sup>), минимальная - 2642 мкм<sup>2</sup> (контроль 4310 мкм<sup>2</sup>), максимальная – 4252 мкм<sup>2</sup> (контроль 6331 мкм<sup>2</sup>). Средняя ППС мышечных волокон II типа -  $2778 \pm 851$  мкм<sup>2</sup> (контроль  $4653 \pm 552$  мкм<sup>2</sup>), минимальная - 1730 мкм<sup>2</sup> (контроль 3895 мкм<sup>2</sup>), максимальная 3591 мкм<sup>2</sup> (контроль 6003 мкм<sup>2</sup>).

**График №14. Средняя площадь поперечного сечения мышечных волокон I и II типов пациентов (П) в сравнении с контролем (К):**

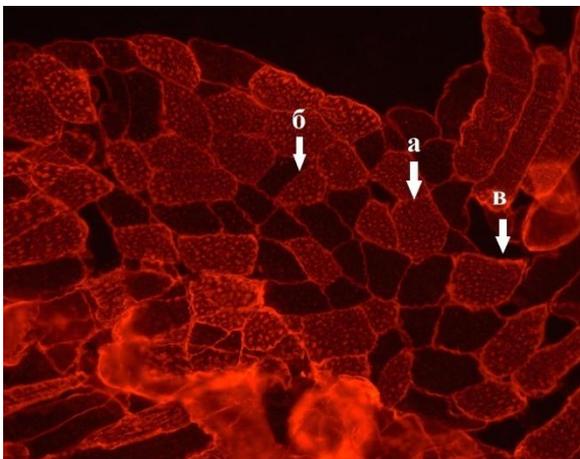
**а) мышечные волокна I типа**



**б) мышечные волокна II типа**

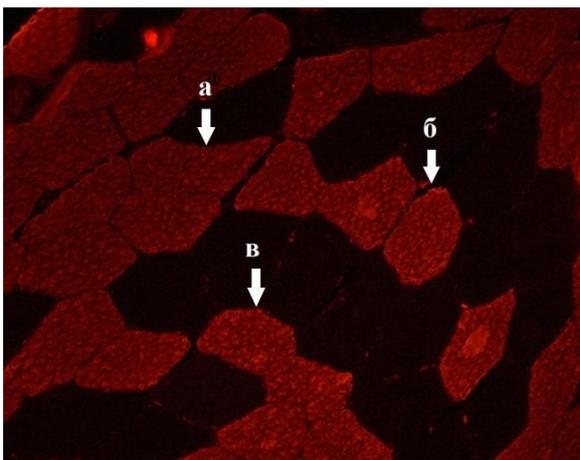


**Рисунок №8. Атрофия мышечных волокон I типа. Мечение тяжелых цепей миозина МНС I (20-кратное увеличение объектива). Пациент и контроль. (стрелками указаны мышечные волокна разных размеров)**



**Пациент.  
Мышечные волокна I типа**

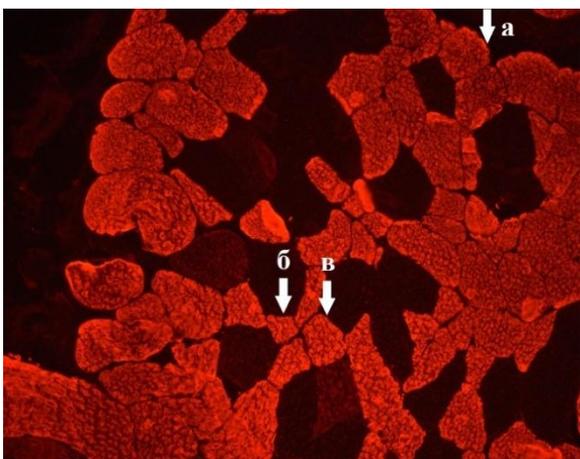
- а) 2491.413 мкм<sup>2</sup>
- б) 1696.676 мкм<sup>2</sup>
- в) 2932.687 мкм<sup>2</sup>



**Контроль.  
Мышечные волокна I типа**

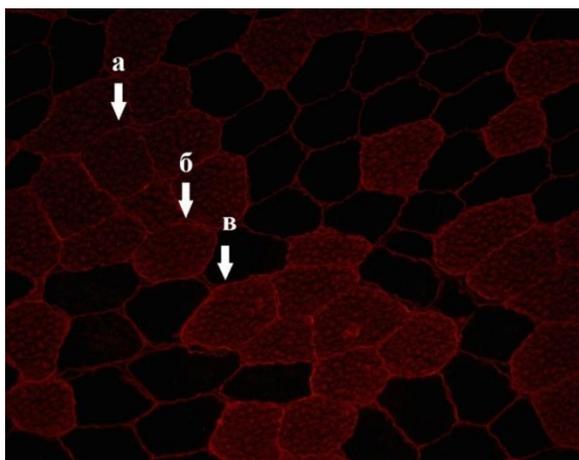
- а) 4838.227 мкм<sup>2</sup>
- б) 4020.499 мкм<sup>2</sup>
- в) 3920.776 мкм<sup>2</sup>

**Рисунок №9. Атрофия мышечных волокон II типа. Мечение тяжелых цепей миозина МНС II (20-кратное увеличение объектива). Пациент и контроль.**



**Пациент  
Мышечные волокна II типа**

- а) 2170.914 мкм<sup>2</sup>
- б) 1688.920 мкм<sup>2</sup>
- в) 2125.208 мкм<sup>2</sup>



**Контроль**  
**Мышечные волокна II типа**  
 а) 3456.510  
 б) 3897.507  
 в) 4380.886

При расчетах ППС мышечных волокон по группам сравнивались данные ППС пациентов-мужчин/женщин с данными ППС контрольных мужчин/женщин. Анализ данных ППС мышечных волокон мужчин выявили достоверное уменьшение ППС I и II типов ( $p < 0,01$ ). Средняя ППС волокон I типа у мужчин составила  $3509,1 \pm 256,6$  мкм<sup>2</sup> (контроль  $5053,1 \pm 243,3$  мкм<sup>2</sup>, средняя ППС волокон II типа –  $3000,2 \pm 264,8$  мкм<sup>2</sup> ( $4808,8 \pm 239,1$  мкм<sup>2</sup>). Анализ ППС мышечных волокон женщин также выявил достоверное уменьшение ППС мышечных волокон обоих типов ( $p < 0,01$ ). Средняя ППС волокон I типа у женщин была равна  $3325,2 \pm 234,5$  мкм<sup>2</sup> ( $4802,1 \pm 128,3$  мкм<sup>2</sup>), II типа –  $2371,2 \pm 279,4$  мкм<sup>2</sup> ( $4497,9 \pm 131,9$  мкм<sup>2</sup>). Полученные данные представлены в таблице №23.

**Таблица №23. Данные ППС мышечных волокон I и II типов у мужчин и женщин в сравнении с контролем.**

Параметры иммуногистохимического исследования	Результаты иммуногистохимического исследования	
	Пациенты (n=27)	Контроль (n=10)
<b>Мужчины (n=14)</b>		
ППС мышечных волокон I типа, мкм <sup>2</sup>	$3509,1 \pm 256,6^*$	$5053,1 \pm 243,3$
ППС мышечных волокон II типа, мкм <sup>2</sup>	$3000,2 \pm 264,8^*$	$4808,8 \pm 239,1$
<b>Женщины (n=13)</b>		

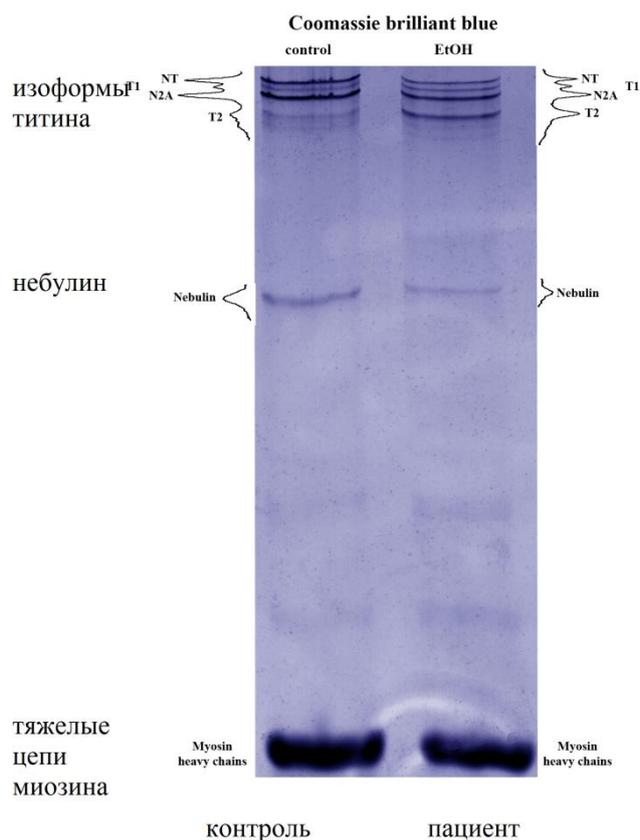
ППС мышечных волокон I типа, $\text{мкм}^2$	$3325,2 \pm 234,5^*$	$4802,1 \pm 128,3$
ППС мышечных волокон II типа, $\text{мкм}^2$	$2371,2 \pm 279,4^*$	$4497,9 \pm 131,9$
* $p \leq 0,01$ (группа – контроль)		

## **ГЛАВА 8. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ СОДЕРЖАНИЯ И УРОВНЯ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ТИТИНА И НЕБУЛИНА**

Исследование содержания изоформ титина и небулина, а также уровень их фосфорилирования было проведено 13 пациентам: 4 мужчинам и 9 женщинам. Средний возраст обследованных пациентов составил  $38,9 \pm 9,9$  лет. Средняя длительность регулярного потребления спиртных напитков в группе пациентов -  $7,6 \pm 3,7$  лет. Среднее количество спиртного, употребляемого в неделю -  $48,2 \pm 13,1$  единиц алкоголя, что согласно критериям ВОЗ, соответствует высокому риску развития различных проявлений алкогольной болезни.

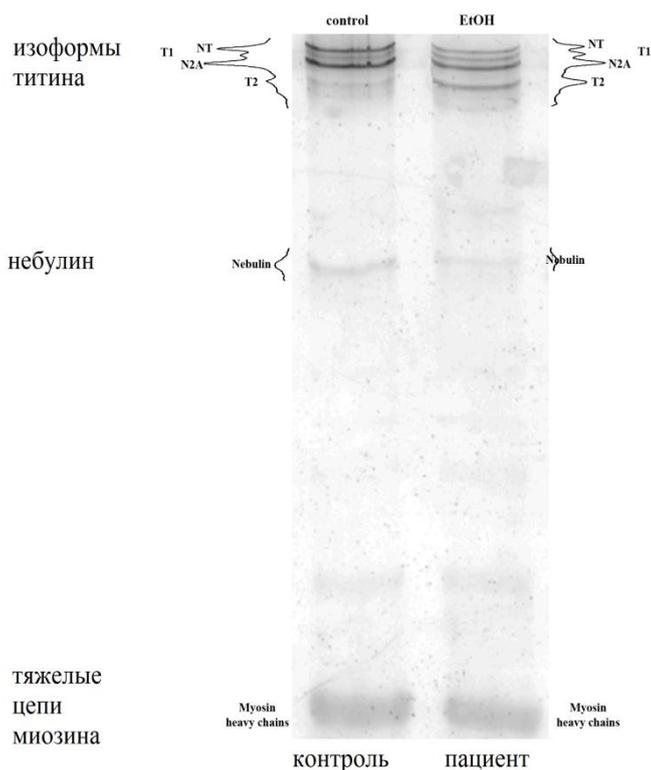
Содержание интактного титина (T1) в латеральной головке четырехглавой мышцы бедра по сравнению с аналогичным показателем в группе контроля имело четкую тенденцию к снижению и, согласно установленным параметрам, было снижено у 6 пациентов (46,2%). Уровень содержания продуктов деградации титина (T2) в большинстве случаев был более 100% и превышал установленное значение 123% в 5 случаях (38,5%), однако у 4 пациентов (30,8%) отмечалось его снижение. Содержание небулина имело общую тенденцию к снижению, а у 4 пациентов (30,8%) было снижено.

**Рискунок №10 Электрофореграмма содержания титина и небулина в четырехглавой мышце бедра.**



Уровень фосфорилирования продуктов деградации титина T2 в латеральной головке четырехглавой мышцы бедра был повышен у 2х обследованных пациентов (15,4%), фосфорилирование небулина было повышенным в 1 случае (7,7%), при этом у 3 пациентов отмечалось его снижение. Уровень фосфорилирования интактного титина T1 у всех обследованных пациентов оставался неизменным в сравнении с контролем.

**Рисунок №11 Электрофореграмма фосфорилирования титина и небулина в четырехглавой мышце бедра.**



Таким образом, содержание титина и небулина, а также уровень фосфорилирования данных белков в четырехглавой мышце бедра у лиц, злоупотребляющих спиртными напитками, изменяется под воздействием длительного потребления алкоголем и может вносить вклад в развитие хронической алкогольной миопатии.

## КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ

### Клинический пример №1.

Пациентка Е., 39 лет, поступила в клинику с жалобами на слабость и жгучие боли в ногах, больше в стопах, а также в кистях, неустойчивость при ходьбе, снижение веса. Из анамнеза заболевания известно, что за 3 месяца до госпитализации во время запоя развились тошнота, многократная рвота. Через 3-4 недели появилось ощущение жжения в стопах, которое в течение месяца распространилось до уровня голеней. В это же время появилась и постепенно нарастала слабость в ногах – сначала в бедрах, а затем и в стопах, приводящая к падениям. Постепенно присоединилась слабость в кистях. За 2 месяца пациентка похудела на 5 кг. Обследована амбулаторно. Выявлено снижение уровня гемоглобина до 108г/л (норма 120-150), эритроцитов  $-2.26 \cdot 10^{12}$  (норма 3,7-4,7), ускорение СОЭ от 22 до 60мм/ч (норма 5-15) при повторных исследованиях. В биохимическом анализе крови выявлялось повышение щелочной фосфатазы до 322 ед/л (норма 35.0 – 105.0), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ) до 1369ед/л (норма <32), аланинтрансаминазы до 66 ед/л (норма <33.0) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) – 254 ед/л (норма <33.0), С-реактивный белок – 7.0 мг/дл (норма <5.0).. Также проводилось исследование уровня витамина В12 – 375 пг/мл (норма 187-883), и фолиевой кислоты – 5.6 нг/мл (норма 3,1 - 20,5). УЗИ брюшной полости: гепатомегалия, спленомегалия, диффузные изменения поджелудочной железы. Эзофагогастродуоденоскопия: поверхностный гастрит, хронический рефлюкс-эзофагит, недостаточность кардии, дуоденогастральный рефлюкс, косвенные признаки патологии панкреатобиллиарной системы. Компьютерная томография брюшной полости: признаки жировой дистрофии печени, гепато- и спленомегалии. Косвенные признаки портальной гипертензии. Умеренные диффузные изменения паренхимы поджелудочной железы. Диагноз: Стихающая атака острого алкогольного гепатита на фоне алкогольного цирроза печени с синдромом портальной гипертензии. Макроцитная анемия. Хронический панкреатит. Токсическая полиневропатия. При поступлении в отделение

гепатологии пациентка передвигалась с опорой на трость в связи со слабостью в ногах. Проводилась лечение: гепатопротекторы, препараты альфа-липоевой кислоты, витамины группы В, фолиевая кислота. На фоне терапии отмечался положительный эффект в виде уменьшения выраженности диспептических расстройств, сохранялась слабость в кистях, нижних конечностях, ощущение жжения в голених и стопах. В связи с наличием неврологической симптоматики пациентка госпитализирована в клинику нервных болезней им. А.Я. Кожевникова. Состояние при поступлении средней тяжести. Астенического телосложения, пониженного питания. Индекс массы тела =  $14.69 \text{ кг/м}^2$  (норма 18-25). Кожные покровы чистые, обычной окраски. Пальмарная эритема («печеночные ладони»). АД 120/80 мм.рт.ст. ЧСС 83 в минуту. Живот мягкий, безболезненный при пальпации. Печень выступает из-под реберной дуги на 2 см. В неврологическом статусе: Сознание ясное. Положительные симптомы орального автоматизма: хоботковый, ладонно-подбородочный. Периферический тетрапарез со снижением силы в руках: проксимально – 5 баллов, дистально – 4 балла; в ногах: проксимально - 3 балла, дистально 4 балла. Тонус мышц конечностей снижен. Подъем из положения глубокого приседания затруднен, поднимается с помощью рук. Невозможна ходьба на косяках и пятках. Снижение поверхностной чувствительности по полиневропатическому типу в виде «перчаток» и «гольф». Снижение вибрационной чувствительности в стопах до 5 баллов. Сухожильные рефлексы с рук симметричные средней живости, с ног не вызываются. Пальце-носовую пробу выполняет с интенцией, проба на дизметрию – положительная. Выполнение пяточно-коленной пробы затруднено в связи с наличием пареза в ногах. Тазовые функции контролирует. В клиническом анализе крови сохраняется анемия: гемоглобин 112 г/л (норма 120-150), эритроциты  $3.13 \cdot 10^{12}$  (норма 3,7-4,7), СОЭ 20мм/ч (норма 5-15), однако в сравнении с результатами месячной давности отмечается положительная динамика указанных показателей. В биохимическом анализе крови: ГГТ – 233 ед/л (норма <32), АЛТ – 28 ед/л (норма <33.0), АСТ – 70 ед/л (норма <33.0). Уровень креатинфосфокиназы (КФК) - 92 ед/л (норма <167), креатинин - 64 мкмоль/л (норма 50-98), калий - 4.7 ммоль/л (норма 3,5-5,1).

Инсулиноподобный фактор роста – 1 (IGF-I) 181нг/мл (норма 109-284). Маркеры вирусных гепатитов отрицательны. Анализ цереброспинальной жидкости: белок 0,19‰ (норма 0,16-0,33‰), цитоз - 4 клетки в 1мм<sup>3</sup> (норма 0-5). С целью оценки функционального состояния тонких волокон нервов верхних и нижних конечностей проведено количественное сенсорное тестирование. Выявлено повышение порога холодовой чувствительности в кистях и стопах. Показатели тепловой и болевой чувствительности не изменены.

Для оценки состояния толстых миелинизированных волокон нервов верхних и нижних конечностей выполнена электронейромиография (ЭНМГ). Выявлено поражение двигательных и чувствительных волокон нервов ног по типу миелинопатии в дистальных и проксимальных сегментах нервов. Поражение чувствительных волокон нервов верхних и нижних конечностей в виде сочетания миелино- и аксонопатии (Таблица №№).

**Таблица №24. Результаты ЭНМГ**

Исследуемые нервы	Двигательные волокна				Чувствительные волокна	
	амплитуда, мВ	СРВ, м/с	РЛ, мс	F-волна, средняя скорость, м/с	амплитуда, мкВ	СРВ, м/с
Срединный	8,8- 8,0 (норма ≥3,5).	<b>45,0</b> (норма ≥ 50).	<b>2,8</b> (норма ≤2,5).	52,8 (норма ≥ 50) 0% выпадений (норма до 20%)	8,5 (норма ≥7,0)	<b>43,0</b> (норма ≥50).
Локтевой	7,9-7,2 (норма ≥4,5)	<b>49,0</b> (норма ≥ 50)	1,9 (норма ≤2,5)		16,4 (норма ≥5,0).	<b>39,0</b> (норма ≥50)
Бедренный	4,6 (норма ≥ 3,5)		<b>4,6м</b> (норма до 4,2)			
Малоберцовый	3,0-2,4 (норма ≥ 3,0)	<b>36,0</b> (норма ≥ 40)	3,1 (норма ≤ 3,5)		Ответ не получен	

					(норма $\geq 5,0$ ).	
Большеберцовый	10,7-7,2 (норма $\geq 3,5$ ).	<b>37,0</b> (норма $\geq 40$ )	2,8 (норма $\leq 3,5$ )	<b>37,1</b> (норма $\geq 40$ ) 0% выпадений (норма до 30%)		
Икроножный					<b>2,1</b> (норма $\geq 4,2$ )	<b>33,0</b> (норма $\geq 46$ )

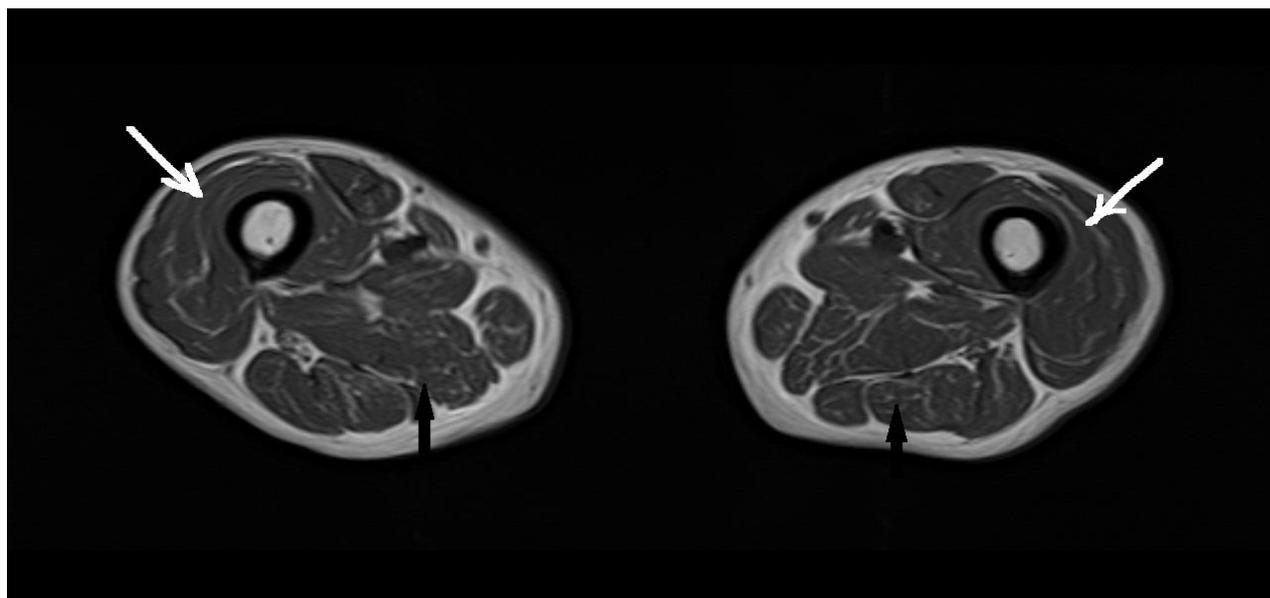
Для уточнения уровня поражения периферического нейромоторного аппарата и выявления денервационной спонтанной активности мышечных волокон методом игольчатой электромиографии (ЭМГ) исследованы латеральная головка четырехглавой мышцы бедра. Выявленные изменения параметров потенциалов двигательных единиц (ПДЕ) в виде увеличения амплитуды ПДЕ при близких к норме показателях средней длительности не позволяют дифференцировать невральный и мышечный уровень поражения. (Таблица №№).

**Таблица №25. Данные игольчатой ЭМГ.**

Исследуемая мышца	Длительность ПДЕ, мс	Амплитуда ПДЕ, мкВ	Спонтанная активность
Четырехглавая мышца бедра справа (латеральная головка)	<b>10,3</b> (норма 11,8) -13% (норма $\pm 12\%$ )	Средняя <b>1027</b> (норма 600-700)  макс. <b>2264</b> (норма 1000-1500)	0 ПФ, 0 ПОВ, 0 ПФц (в норме не регистрируются)

Для визуальной оценки состояния скелетных мышц проведена магнитно-резонансная томография (МРТ) мышц нижних конечностей. При исследовании мышц бедер выявляются начальные проявления жировой дегенерации с небольшими участками повышения МР-сигнала на T1 импульсной последовательности в задней группе мышц. Визуально отмечается гипотрофия передней группы мышц бедра. (Рисунок №№).

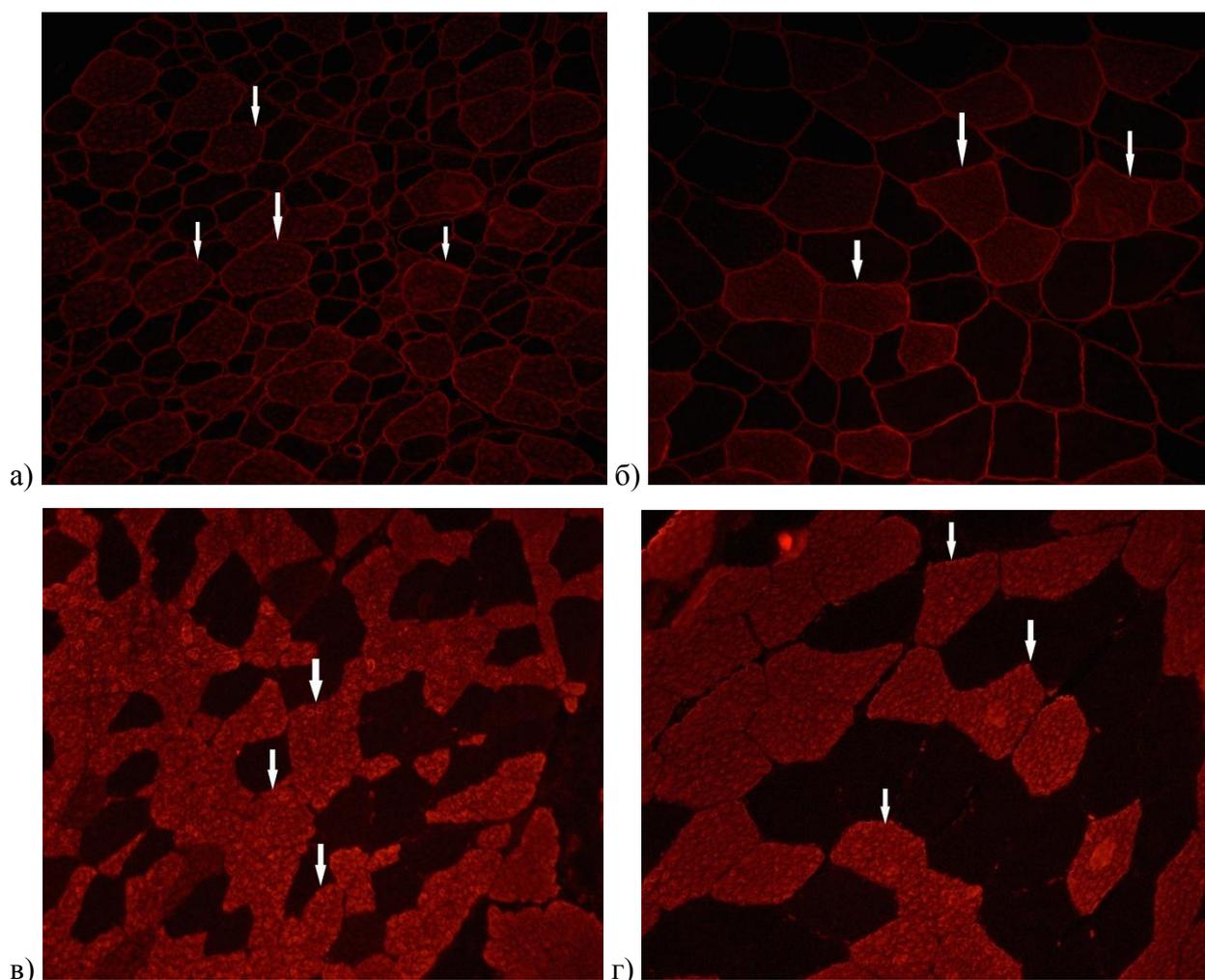
**Рисунок №12. МРТ мышц бедер в T1-импульсной последовательности.**



МРТ мышц бедра в T1-импульсной последовательности. Аксиальный срез. Выявляется визуальная гипотрофия передней группы мышц бедра (белые стрелки), а также начальные признаки жировой дегенерации задней группы мышц бедра (черные стрелки).

С целью уточнения уровня и характера поражения периферического нейромоторного аппарата проведено морфологическое и морфометрическое исследование биоптата латеральной головки четырехглавой мышцы бедра. По данным морфологического исследования не выявлено признаков некроза, воспалительной инфильтрации, а также «феномена группировки» мышечных волокон, характерного для денервации. По данным морфометрического исследования определяется уменьшение площади поперечного сечения (ППС) мышечных волокон обоих типов. ППС волокон II типа (быстрых) составила 2707 мкм<sup>2</sup> (норма > 4400 мкм<sup>2</sup>), ППС волокон I типа (медленных) - 3486 мкм<sup>2</sup> (норма > 4600 мкм<sup>2</sup>) (Рисунок №№).

**Рисунок №13. Морфометрическое исследование площади поперечного сечения мышечных волокон. Иммунофлуоресцентное мечение волокон I типа – «а» пациент, «б» контроль; II типа – «в» пациент, «г» контроль (20-кратное увеличение объектива). Стрелками указаны меченые волокна.**



Учитывая нарастание неврологической симптоматики в течение 1 – 1,5 месяцев в виде периферических двигательных и чувствительных расстройств, проводился дифференциальный диагноз с хронической воспалительной демиелинизирующей полирадикулоневропатией (ХВДП). Однако, дебют с заболеваниями с ощущения жжения в стопах, свидетельствующего о поражении тонких волокон нервов, отсутствие белково-клеточной диссоциации по результатам анализа цереброспинальной жидкости, данные ЭНМГ (отсутствие феномена дисперсии, характерного для демиелинизирующего процесса) делают диагноз ХВДП маловероятным.

Прогрессирующее нарастание двигательных нарушений в проксимальных, а затем и в дистальных отделах ног на фоне ускорения СОЭ, повышения АСТ, АЛТ, С-реактивного белка требовало исключения воспалительной миопатии (полимиозита). Отсутствие болезненности мышц, наличие чувствительных нарушений, нормальный уровень КФК в плазме крови, отсутствие признаков

отека мышечной ткани при МРТ мышц ног, отсутствие признаков некроза и воспалительной инфильтрации по данным морфологического исследования позволили исключить воспалительный характер поражения мышц.

Таким образом, у пациентки с длительным алкогольным анамнезом на фоне очередного запойного состояния развиваются двигательные нарушения в виде периферического тетрапареза, в ногах преимущественно проксимального, а также расстройства чувствительности по полиневропатическому типу. Лабораторные показатели указывают на нарушение функции печени. Результаты электрофизиологического обследования свидетельствуют о сочетанном аксональном и демиелинизирующем поражении нервов ног. По данным МРТ выявлены также признаки жировой дегенерации мышц бедер.

Подострое развитие неврологической симптоматики на фоне запойного характера употребления алкоголя в сочетании с дефицитом питания и возможной патологией желудочно-кишечного тракта (синдром мальабсорбции) позволило предположить развитие смешанной (токсической и дефицитарной) полиневропатии. Преимущественно проксимальное симметричное распределение мышечной слабости в ногах, наличие гипотрофии передней группы мышц бедра, выявленное при МРТ мышц, уменьшение ППС волокон I и II типа по данным морфометрического исследования биоптата латеральной головки четырехглавой мышцы бедра указывают на наличие у пациентки хронической алкогольной миопатии.

Клинический диагноз: Дистальная симметричная моторно-сенсорная полиневропатия дефицитарного и токсического генеза. Хроническая алкогольная миопатия.

### **Клинический пример №2.**

Пациентка М, 49 лет, поступила в клинику с жалобами на ощущение онемения в ногах до уровня коленных суставов, ощущение онемения в кистях, жгучие боли в стопах, возникающие в ночное время, судороги в мышцах голени,

трудности при вставании со стула, при подъеме по лестнице, похудание мышц рук и ног.

Из анамнеза заболевания известно, что в течение 7 лет регулярно употребляет крепкий алкоголь (водка), доза потребляемого алкоголя в неделю в среднем составляла 60 единиц (допустимая доза алкоголя для женщин в неделю по данным ВОЗ менее 14 единиц). Впервые около 1 года назад стала отмечать появление онемения в пальцах ног, которое постепенно распространилось до уровня коленных суставов, в то же время пациентка отметила онемение в кистях. Амбулаторно было проведено лечение препаратами группы В (тиамин, цианокобаламин, пиридоксин) с положительным эффектом в виде уменьшения выраженности онемения. Через 2-3 месяца жалобы на ощущение онемения возобновились, присоединились жгучие боли в стопах, возникающие в ночное время, болезненные судороги в мышцах голени, в это же время пациентка стала отмечать трудности при вставании со стула, с корточек, при подъеме по лестнице, было несколько падений из-за слабости в ногах, отмечалось также похудание мышц ног и рук. В связи с нарастанием симптоматики пациентка была госпитализирована в клинику нервных болезней им. А.Я.Кожевникова.

Из анамнеза жизни, известно, что имеет высшее образование. Работает библиотекарем. Живет с мужем, детей нет. Аллергологический анамнез не отягощен. Перенесенные и хронические заболевания: отрицает. Вредные привычки: курит 10 сигарет в сутки, злоупотребляет алкогольными напитками (водка) в течение последних 7 лет. Максимальная суточная доза алкоголя может достигать до 0,5л водки (15,8 единиц алкоголя).

При поступлении состояние относительно удовлетворительное. Нормостенического телосложения. Повышенного питания. ИМТ = 26 кг/м<sup>2</sup>. Кожные покровы обычной окраски, сухие, высыпаний нет. АД 120/80, пульс удовлетворительного наполнения, 72 удара в минуту. Тоны сердца ритмичные, приглушены. Дыхание везикулярное, проводится во все отделы, хрипов нет.

Живот мягкий, при поверхностной пальпации безболезненный, округлой формы, увеличен в объеме. Печень выступает из-под реберной дуги на 3см. Дизурии нет.

В неврологическом статусе. Сознание ясное. Менингеальных симптомов нет. Рефлексы орального автоматизма: хоботковый, ладонно-подбородочный. Объем активных движений в конечностях полный. В руках сила достаточная – 5 баллов. В ногах: проксимально в передней и задней группе мышц бедер – 4 балла, в стопах - 5 баллов. Гипотрофия мышц бедер. Нарушение болевой и температурной чувствительности по полиневропатическому типу в ногах с уровня голеностопных суставов. Мышечно-суставное чувство снижено в пальцах стоп. Вибрационная чувствительность с уровня стоп и лодыжек - 3 балла, с уровня коленной чашки - 5 баллов. Глубокие рефлексы с рук живые симметричные, с ног – коленные симметрично снижены; ахилловы не вызываются с 2х сторон. Патологических кистевых и стопных рефлексов нет. Координаторные пробы в руках выполняет удовлетворительно. Пяточно-коленную выполняет с мимопопаданием. Проба Ромберга положительная. Тазовые функции контролирует.

При обследовании, в общем клиническом анализе крови, общем клиническом анализе мочи – патологии не выявлено. Маркеры вирусных гепатитов В и С, ВИЧ, сифилис – отрицательны. В биохимическом анализе крови выявлено повышение уровня печеночных ферментов: АСТ 163 ед/л (норма <40), АЛТ 79 ед/л (норма < 40), Г-ГТ 845 ед/л (норма 5-61). Уровень КФК оставался в пределах референсных значений и был равен 82 ед/л (норма < 167). Выявлено снижение содержания инсулиноподобного фактора роста – 1 (IGF-I) 82нг/мл (норма 109-284).

Для оценки состояния толстых миелинизированных волокон нервов верхних и нижних конечностей выполнена электронейромиография (ЭНМГ). Выявлено поражение двигательных и чувствительных волокон нервов ног по типу миелинопатии и аксонопатии, с более грубым вовлечением чувствительных волокон (S-ответ не получен). Также выявлено поражение дистальных отделов

двигательных и чувствительных волокон срединного нерва по типу миелинопатии, чувствительных по типу – аксонопатии (таблица №№).

**Таблица №26. Результаты ЭНМГ.**

Исследуемые нервы	Двигательные волокна				Чувствительные волокна	
	амплитуда, мВ	Скорость распространения возбуждения (СРВ), м/с	Резидуальная латенция (РЛ), мс	F-волна, средняя скорость, м/с	амплитуда, мкВ	СРВ, м/с
Срединный	7,2 (норма $\geq 3,5$ ).	<b>49,0</b> (норма $\geq 50$ ).	<b>2,1</b> (норма $\leq 2,5$ ).	57,1 (норма $\geq 50$ ) 15% выпаден ий (норма до 20%)	3,4 (норма $\geq 7,0$ )	50,0 (норма $\geq 50$ ).
Локтевой	8,3 (норма $\geq 4,5$ )	50,0 (норма $\geq 50$ )	1,5 (норма $\leq 2,5$ )		8,2 (норма $\geq 5,0$ ).	52,0 (норма $\geq 50$ )
Бедренный	7,4 (норма $\geq 3,5$ )		<b>5,3м</b> (норма до 4,2)			
Малоберцовый	3,7 (норма $\geq 3,0$ )	<b>39,0</b> (норма $\geq 40$ )	2,6 (норма $\leq 3,5$ )		Ответ не получе н (норма $\geq 5,0$ ).	
Большеберцовый	<b>1,9</b> (норма $\geq 3,5$ ).	<b>33,0</b> (норма $\geq 40$ )	3,3 (норма $\leq 3,5$ )	<b>35</b> (норма $\geq 40$ ) <b>40%</b>		

				выпаден ий (норма до 30%)	
Икроножны й					Ответ не получе н (норма ≥4,2)

Методом игольчатой электромиографии (ЭМГ) исследованы латеральная головка четырехглавой мышцы бедра. Выявленные изменения параметров потенциалов двигательных единиц (ПДЕ) в виде увеличения амплитуды ПДЕ при снижении показателей средней длительности не позволяют дифференцировать невральный и мышечный уровень поражения. Отсутствие ПФ и ПОВ в исследуемой мышце свидетельствует об отсутствии в ней текущего денервационного процесса (Таблица №№).

**Таблица №27. Данные игольчатой ЭМГ.**

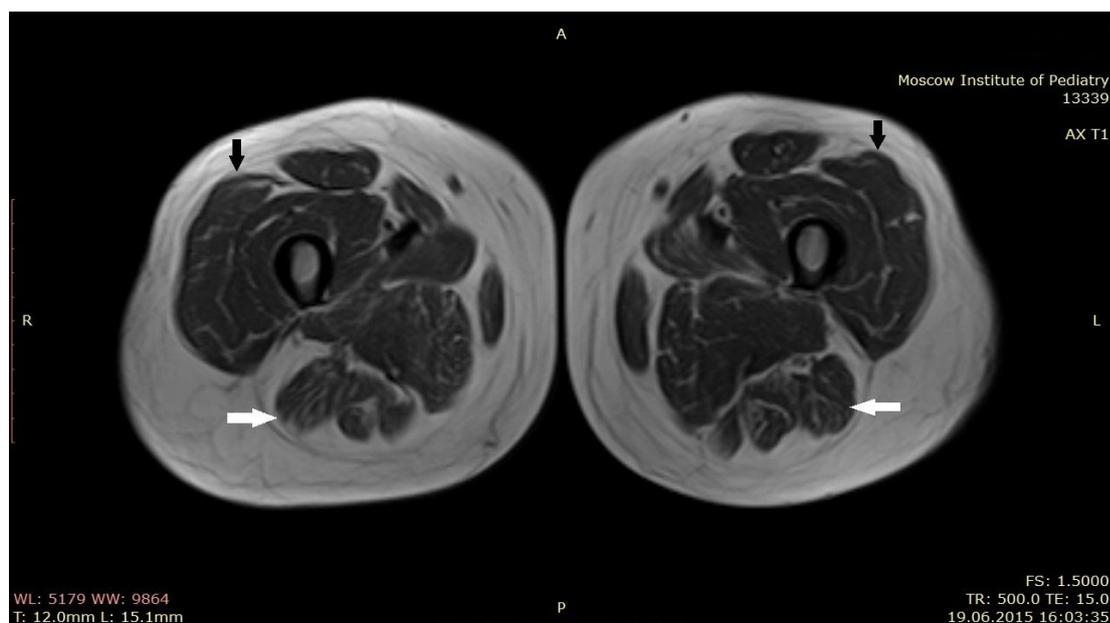
Исследуемая мышца	Длительность ПДЕ, мс	Амплитуда ПДЕ, мкВ	Спонтанная активность
Четырехглавая мышца бедра справа (латеральная головка)	9,4 (норма 11,8) -23% (норма ±12%)	Средняя <b>1149</b> (норма 600-700)  макс. <b>3646</b> (норма 1000-1500)	0 ПФ, 0 ПОВ, 0 ПФц (в норме не регистрируются)

### **Результаты МРТ мышц бедер.**

По результатам МРТ не выявлено признаков отека мышц бедра. МР-сигнал на T1 импульсной последовательности и в режиме STIR диффузно изменен от всех мышц бедра. Степень жировой дегенерации варьировала от начальных проявлений (по шкале E.Mercury – 1балл) до поздних (2а балла), с

многочисленными участками повышения МР-сигнала, являющихся признаком жировой дегенерации, и вовлечением до 30% объема конкретной мышцы (рисунок №№).

**Рисунок №14. МРТ мышц бедра, аксиальный срез. T1-взвешенное изображение.**



Черными стрелками указаны изменения в передней группе мышц (*m. quadriceps femoris v. lateralis* – 1 балл по Mercuri), белыми стрелками указаны изменения в задней группе мышц бедра (*m. biceps femoris 2a* балла по Mercuri).

При количественной оценке МРТ мышц бедер выявлено уменьшение объема мышц передней и задней групп. Объем латеральной головки четырехглавой мышцы бедра справа составил  $348 \text{ см}^3$ , (контроль  $419,2 \pm 44,4 \text{ см}^3$ ) слева  $346,8 \text{ см}^3$ , (контроль  $416,8 \pm 45,2 \text{ см}^3$ ), объем двуглавой мышцы бедра справа составил  $103,3 \text{ см}^3$ , (контроль  $167,8 \pm 38,9 \text{ см}^3$ ) слева –  $97,5 \text{ см}^3$  (контроль  $162,7 \pm 35,2 \text{ см}^3$ ).

С целью уточнения характера и уровня поражения периферического нейромоторного аппарата была проведена открытая биопсия латеральной головки четырехглавой мышцы бедра с последующим морфологическим и морфометрическим исследованием. По результатам морфологического исследования не выявлено признаков некроза, воспалительной инфильтрации, а

также «феномена группировки» мышечных волокон, характерного для денервации.

По данным морфометрического исследования определяется уменьшение площади поперечного сечения (ППС) мышечных волокон обоих типов. ППС волокон I типа (медленных) составила  $3791 \text{ мкм}^2$  (норма  $> 4600 \text{ мкм}^2$ ), ППС волокон II типа (быстрых)  $3591 \text{ мкм}^2$  (норма  $> 4400 \text{ мкм}^2$ ). Заключение. Атрофия мышечных волокон обоих типов.

С целью оценки состояния белков саркомерного цитоскелета у пациентов с хронической алкогольной интоксикацией проведено исследование содержания и уровня фосфорилирования интактного титина (T1), продуктов его деградации (T2) и небулина. Содержание титина и небулина оценивалось по отношению к содержанию тяжелых цепей миозина (ТЦМ). Контрольное значение было принято за 100%. По результатам исследования получены следующие данные: содержание интактного титина (T1) не было изменено по сравнению с контрольным значением и составило  $100,6\% \pm 21,3$ . Содержание продуктов деградации титина (T2) было повышенным и равнялось  $160,7\% \pm 8,0$ , содержание небулина имело тенденцию к снижению и составило  $86,0\% \pm 10,6$ . Уровень фосфорилирования T1 не был изменен и был равен  $101,3\% \pm 3,8$ , уровень фосфорилирования T2 был несколько повышен и равнялся  $112,2\% \pm 14,8$ , уровень фосфорилирования небулина был снижен и составил  $69,7\% \pm 0,78$ . Выявленное повышение уровня продуктов деградации титина (T2) на фоне его гиперфосфорилирования, снижение содержания небулина на фоне снижения фосфорилирования, при электрофорезе латеральной головки четырехглавой мышцы бедра могут свидетельствовать о вовлечении структурных белков саркомера в развитие хронической алкогольной миопатии.

Постепенное развитие чувствительных нарушений по полиневропатическому типу, отсутствие ахилловых рефлексов, результаты ЭНМГ позволяют предположить наличие у пациентки полиневропатического синдрома. Временный положительный эффект на фоне лечения витаминами группы B могут свидетельствовать о дефицитарном характере полиневропатического синдрома.

Развитие симптомов на фоне длительного анамнеза злоупотребления алкоголем, отсутствие иных соматических причин развития полиневропатии позволяют предположить токсический генез полиневропатии. Учитывая наличие симметричной проксимальной слабости в ногах, гипотрофии мышц бедер, развившихся на фоне длительного потребления алкоголя, снижение уровня IGF-I в сыворотке крови, изменений по данным МРТ мышц бедер в виде жировой дегенерации и уменьшения объема мышц, атрофии мышечных волокон как I, так и II типов по данным морфометрического исследования биоптата латеральной головки четырехглавой мышцы бедра, следует предполагать наличие у пациентки хронической алкогольной миопатии.

Клинический диагноз: Дистальная симметричная сенсорно-моторная полиневропатия дефицитарного и токсического генеза. Хроническая алкогольная миопатия.

## ГЛАВА 9. ОБСУЖДЕНИЕ

Поражение скелетных мышц относится к частым проявлениям алкогольной болезни, характеризуется полиморфизмом клинических проявлений и патогенетической неоднородностью. В настоящее время используется обобщающий термин - алкоголь-индуцированное поражение мышц (АИПМ), включающий все формы алкогольной миопатии, развивающиеся на фоне острой или хронической алкогольной интоксикации. Наиболее распространенной формой АИПМ является хроническая алкогольная миопатия (ХрАМ), которая встречается у 40-60% лиц, злоупотребляющих алкоголем. Трудности диагностики ХрАМ связаны с неинформативностью результатов исследования уровня КФК, а также отсутствием типичного миопатического паттерна при проведении игольчатой электромиографии. В настоящее время в качестве «золотого стандарта» диагностики ХрАМ рассматривается морфологическое и морфометрическое исследование биоптата проксимальной мышцы (четырёхглавой или дельтовидной). Установлено, что морфологической основой ХрАМ является атрофия мышечных волокон II (быстрого) типа, а по мере прогрессирования заболевания в патологический процесс могут вовлекаться и мышечные волокна I (медленного) типа.

Цель настоящего исследования - оптимизация диагностики хронической алкогольной миопатии с помощью нейровизуализационного, морфологического и морфометрического обследования.

Пациенты с острой алкогольной миопатией не вошли в исследование в связи с острым развитием миопатического синдрома в сочетании с сопутствующей почечной недостаточностью, требующей экстренной госпитализации пациентов в многопрофильный терапевтический стационар. Таким образом, предметом изучения в ходе данного исследования стала хроническая алкогольная миопатия.

В соответствии с поставленными задачами проведено комплексное обследование 27 пациентов, злоупотребляющих спиртными напитками в течение трех лет и более. В контрольную группу вошли 10 здоровых добровольцев сопоставимых по полу и возрасту.

При сборе данных анамнеза установлено, что все пациенты потребляли высокие дозы алкоголя. Среднее количество алкоголя, употребляемого в неделю, превышало допустимые нормы, одобренные ВОЗ, как для мужчин, так и для женщин, и составляло  $56,9 \pm 5,2$  единиц алкоголя. Таким образом, все обследованные пациенты имели высокие риски развития осложнений на фоне длительного употребления алкогольных напитков. Длительность употребления алкоголя варьировала от 3 до 15 лет, средняя длительность составила  $10,0 \pm 1,5$  лет.

При изучении жалоб установлено, что 12 пациентов (44,5%) отмечали слабость в ногах и трудности при ходьбе, из них 3 мужчин и 9 женщин. При этом жалобы на затруднения при подъеме по лестнице и из положения глубокого приседания предъявляли 8 (29,6%) пациентов: 2 мужчин и 6 женщин. Двое больных (7,4%) из-за выраженности пареза использовали средства дополнительной опоры при ходьбе. В двух случаях (7,4%) отмечалась также слабость в мышцах плечевого пояса, проявляющаяся в затруднениях при поднимании рук. Жалобы на нарушение чувствительности в стопах предъявлял 21 пациент (77,8%): 11 мужчин и 10 женщин.

При клиническом неврологическом обследовании проявления ХрАМ в виде проксимальной мышечной слабости в нижних конечностях обнаружены у 8 пациентов (29,6%): у 2 мужчин и 6 женщин. Проксимальный парез во всех случаях сопровождался гипотрофией и гипотонией мышц. У всех пациентов с симптомами ХрАМ отмечались клинические признаки полиневропатического синдрома в виде: слабости в дистальных отделах ног (6 пациентов), отсутствия ахилловых рефлексов (6 пациентов) и нарушений чувствительности в виде «носков» и «перчаток» (8 пациентов). Обращает внимание, что 5 из 8 пациентов,

имевших клинические проявления ХрАМ в виде симметричного проксимального парапареза, относились к подгруппе пациентов с остро-подострым развитием симптомов. При этом все пациенты этой подгруппы отрицали факт наличия болей в мышцах и потемнения мочи, что делает маловероятным диагноз острой алкогольной миопатии.

В целом клинические проявления миопатического синдрома выявлялись в 8 (29,6%) случаях. Установлено, что во всех случаях симптомы алкогольной миопатии отмечались в сочетании с признаками алкогольной полиневропатии.

Результаты лабораторного обследования пациентов выявили повышение уровня АСТ и Г-ГТ, что указывает на нарушение функции печени вследствие длительного воздействия алкоголя и продуктов его метаболизма. При исследовании уровня IGF-I установлено его снижение у пациентов, длительно потребляющих алкоголь. Полученные данные могут свидетельствовать о поражении печеночной ткани и снижении ее белковосинтетической функции на фоне длительного потребления алкоголя.

При исследовании уровня КФК не выявлено различий у пациентов с длительным потреблением алкоголя и контрольной группой. Во всех случаях показатели КФК не превышали верхней границы нормальных значений, что указывало на отсутствие признаков распада скелетных мышц на фоне длительного потребления алкоголя.

В целом анализ результатов лабораторного исследования свидетельствует о негативном влиянии алкоголя и продуктов его метаболизма на функцию печени.

С целью объективизации уровня и характера поражения периферического нейромоторного аппарата всем пациентам проведена стимуляционная электромиография по двигательным и чувствительным волокнам и игольчатая электромиография проксимальных мышц ног. Результаты стимуляционной электромиографии нервов нижних конечностей выявили аксонально-демиелинизирующее поражение дистальных отделов двигательных волокон, а

также аксональное поражение дистальных отделов чувствительных волокон, что подтверждает наличие сопутствующей полиневропатии и объясняет наличие слабости в дистальных отделах ног. Данные игольчатой электромиографии латеральной головки четырехглавой и двуглавой мышцы бедра пациентов выявляют уменьшение средней длительности ПДЕ в сочетании с увеличением амплитуды ПДЕ, что может быть проявлением как мышечного, так и невралного уровня поражения.

Таким образом, электрофизиологическое обследование пациентов с хронической алкогольной интоксикацией выявляет наличие сопутствующей полиневропатии, однако не позволяет достоверно установить причину проксимальной слабости нижних конечностей и определить уровень поражения нейромоторного аппарата. Игольчатая электромиография у данной группы пациентов ни в одном случае не выявляла типичного миопатического паттерна, характеризующегося уменьшением амплитуды и средней длительности ПДДЕ в сочетании с увеличением числа полифазных ПДДЕ, и не позволяет диагностировать ХрАМ. Полученные результаты согласуются с данными других авторов [13, 25] и требуют поиска дополнительных методов диагностики поражения мышц.

В соответствии с поставленными задачами проведено МРТ мышц бедер с целью оценки состояния скелетных мышц у пациентов, злоупотребляющих алкоголем. По результатам МР-исследования дегенеративные изменения мышц бедер обнаружены у 13 (48,1%) пациентов, что значительно чаще, чем признаки миопатического синдрома, выявляемого по результатам клинического неврологического обследования у 8 (29,6%) пациентов. Качественный анализ данных МРТ показал, что в большей степени дегенеративным изменениям подвергаются задние антигравитационные мышцы бедра, испытывающие максимальную нагрузку в вертикальном положении. Степень жировой дегенерации во всех случаях была умеренной и варьировала от 1 до 2а стадии по классификации E. Mercuri, то есть жировое замещение не превышало 30% объема

исследованных мышц. Подобное распределение дегенеративных изменений отмечалось и при анализе МРТ скелетных мышц пациентов с наследственными миодистрофиями [78].

Количественная обработка данных МРТ выявила преобладание атрофических изменений в передней группе мышц бедра. Обращает внимание симметричность дегенеративных и атрофических изменений мышц бедра, что более характерно для мышечного характера поражения [73]. Отсутствие признаков отека мышечной ткани позволяет исключить воспалительный генез мышечной патологии. Наличие алкогольного анамнеза, клинических проявлений в виде симметричной слабости проксимальных групп мышц ног и результатов лабораторных исследований, указывающих на нарушение функции печени, снижение уровня IGF-I - внеклеточного регулятора белкового синтеза, указывают на наиболее вероятный токсический генез миопатии.

Таким образом, обнаружено более выраженные признаки жировой дегенерации задней группы мышц бедер. Количественная обработка данных МРТ мышц позволяет объективизировать наличие атрофического процесса в передней и задней группах мышц бедер. В целом у 5 пациентов выявлялись изменения по данным МРТ мышц бедер при отсутствии клинических проявлений ХрАМ. Следовательно, метод МРТ является информативным для диагностики поражения мышечной ткани при хронической алкогольной интоксикации, в том числе на доклинической стадии.

Результаты ранее проведенных исследований свидетельствуют, что морфологической основой ранних проявлений ХрАМ является атрофия мышечных волокон II типа. Установлено, что атрофические изменения не сопровождаются признаками некроза и воспалительной инфильтрации. В ходе прогрессирования заболевания атрофии подвергаются и мышечные волокна I типа. Морфологическое исследование биоптатов латеральной головки четырехглавой мышцы бедра в ходе настоящего исследования не выявило признаков некроза и воспалительной инфильтрации. Также не было отмечено

«феномена группировки» мышечных волокон, характерного для процесса денервации.

Морфометрическое исследование выявило атрофию мышечных волокон обоих типов у всех обследованных пациентов, что можно объяснить тяжелым стационарным контингентом пациентов, высокими дозами и большой продолжительностью потребления спиртных напитков.

В литературе приводятся данные о половом диморфизме в развитии ХрАМ. На основании этого все пациенты были разделены на 2 группы по гендерному признаку: 14 мужчин и 13 женщин. Статистически значимых различий между группами по длительности и дозе потребляемого алкоголя получено не было. Пациенты женского пола чаще предъявляли жалобы на слабость в ногах, которая была объективизирована при клиническом неврологическом обследовании в виде симметричного проксимального парепареза, который, в ряде случаев, сочетался с нижним дистальным парепарезом. Анализ данных лабораторного обследования у мужчин выявил изменения аналогичные группе в целом, при этом у женщин отмечалось повышение уровня всех трех печеночных ферментов (АСТ, АЛТ, Г-ГТ), а также достоверное снижение IGF-I в плазме крови. Таким образом, у пациентов женского пола отмечалось более значительное токсическое поражение печени, в том числе ее белоксинтезирующей функции. У мужчин обнаружено повышение уровня КФК в сравнении с контролем, однако, у всех пациентов показатели не превышали верхней границы нормальных значений. Более низкие значения КФК у женщин по сравнению с мужчинами обусловлены влиянием эстрогенов [30]. Результаты стимуляционной и игольчатой ЭМГ не отличались у пациентов мужского и женского пола. При оценке данных МР-исследования установлено, что признаки жировой дегенерации передней и задней группы мышц бедер чаще выявлялись в группе женщин. Учитывая наличие морфометрических различий (рост, вес и объем мышечной массы) мужчин и женщин при количественной обработке результатов визуализации проведено разделение по гендерному признаку не только группы пациентов, но и контрольной группы.

Количественный анализ показателей объема латеральной головки четырехглавой мышцы бедра и двуглавой мышцы бедра у мужчин и женщин выявил уменьшение объема мышц, как передней, так и задней группы. Таким образом, результаты клинического, лабораторного и МР-исследования мышц бедер показали, что при сопоставимой длительности и дозе потребляемого алкоголя проявления ХрАМ чаще выявлялись у женщин, что свидетельствует о большей чувствительности к этанолу и продуктам его метаболизма лиц женского пола. Морфологическое и морфометрическое исследование биоптатов мышечной ткани с анализом площади поперечного сечения мышечных волокон у мужчин и женщин проводилось в сравнении с группами контроля, также разделенными по гендерному признаку. Установлено, что у пациентов как мужского, так и женского пола отмечается атрофия мышечных волокон I и II типов.

Ранее выполненные работы выявляли зависимость выраженности атрофического процесса от длительности [13] или от дозы [25] потребляемого алкоголя. При этом в работе Щегловой Н.С., проведенной только на женском контингенте пациентов, во всех случаях выявлялась атрофия мышечных волокон обоих типов. Установленная зависимость атрофического процесса от дозы потребляемого алкоголя касалась лишь выраженности атрофии мышечных волокон I типа. В исследовании Ю.В.Казанцевой, в которое были включены пациенты мужского и женского пола, была выявлена зависимость развития атрофического процесса от длительности злоупотребления алкоголем. При этом следует отметить, что контрольную группу в исследовании составили пациенты только мужского пола. Экспериментальные данные указывают на наличие гендерных различий в синтезе и дегенерации белков скелетных мышц при хроническом потреблении алкоголя и необходимости деления пациентов по половому признаку [76]. Таким образом, в настоящем исследовании не выявлено гендерных различий распространенности и выраженности атрофического процесса в мышцах.

На основании анамнестических данных была выделена подгруппа с остро-подострым развитием двигательных нарушений в виде проксимальных и дистальных парезов, в которую вошли 6 пациентов: 1 мужчина и 5 женщин. Учитывая наличие сопутствующих чувствительных нарушений, данная подгруппа пациентов требовала проведения дифференциальной диагностики с дизиммунной (острой или хронической) воспалительной демиелинизирующей полирадикулоневропатией, острой алкогольной полиневропатией, острой алкогольной миопатией, воспалительной миопатией.

Клинические проявления мышечной слабости в данной подгруппе пациентов были более распространенными и выраженными по сравнению с группой в целом. Во всех случаях отмечалась симметричная проксимальная слабость мышц нижних конечностей, в одном случае - слабость в проксимальных отделах рук и мышцах плечевого пояса. Всем пациентам данной подгруппы была проведена люмбальная пункция. Нормальный состав цереброспинальной жидкости, отсутствие феноменов хроно- и тахеодисперсии при ЭНМГ, исключали наличие у пациентов дизиммунной полиневропатии. Отсутствие в анамнезе факта потемнения мочи, болей в мышцах, свидетельствующих о рабдомиолизе, нормальный уровень КФК, отсутствие денервационной спонтанной активности в исследованных мышцах по данным игольчатой ЭМГ делают маловероятным диагноз острой алкогольной или воспалительной миопатии. Последующий анализ данных лабораторного обследования выявлял повышение уровня АЛТ и Г-ГТ в сравнении с контролем, что свидетельствовало о длительном токсическом воздействии алкоголя на функцию печени. Уровень IGF-I в обследованной подгруппе пациентов не отличался от контроля.

Результаты электрофизиологического обследования указывали на более выраженное поражение двигательных и чувствительных волокон нижних конечностей. По сравнению с группой в целом, помимо снижения СРВ по двигательным волокнам большеберцового нерва, выявлено снижение амплитуды М-ответа, а также достоверное снижение СРВ по чувствительным волокнам

нервов ног в отличие от группы в целом. Полученные данные могут свидетельствовать о развитии у данной подгруппы пациентов остро-подострой алкогольной полиневропатии смешанного дефицитарного и токсического генеза. Учитывая преимущественно проксимальное распределение мышечной слабости у 5 пациентов, требовалось уточнить наличие миопатического синдрома в данной подгруппе пациентов. По результатам игольчатой ЭМГ было выявлено снижение средней длительности в сочетании с увеличением средней амплитуды ПДДЕ, что может быть признаком как невральное, так и мышечного уровня поражения. Спонтанная денервационная активность, зарегистрированная в проксимальных мышцах бедра в виде ПФ и ПОВ, выявлялась лишь у 3 пациентов данной подгруппы, что может свидетельствовать о текущем денервационном процессе. Данные МРТ мышц бедер чаще, чем в группе в целом, выявляли признаки жировой дегенерации мышц, что может свидетельствовать о первично мышечном уровне поражения. Дегенеративный процесс в большей степени затрагивал мышцы задней группы бедра. Количественный анализ выявил достоверное уменьшение объема мышц передней и задней групп бедра. Ясность вносит морфологическое обследование биоптатов латеральной головки четырехглавой мышцы бедра, при котором не выявлялось признаков лейкоцитарной инфильтрации, некроза, а также «феномена группировки» мышечных волокон, характерного для процесса денервации. Результаты морфометрического исследования выявили уменьшение площади поперечного сечения волокон I и II типов в сравнении с контролем, что подтверждает наличие хронической алкогольной миопатии. Таким образом, остро-подострое развитие двигательных и чувствительных нарушений у наблюдаемых пациентов нами расценено, как подострая алкогольная полиневропатия на фоне уже имеющейся хронической алкогольной миопатии. Подобные изменения обнаружены и в работе Н.С.Щегловой [25].

Наличие экспериментальных данных, свидетельствующих об изменении содержания и фосфорилирования структурных матричных белков, таких как

титин и небулин на фоне хронической алкогольной интоксикации, могут указывать на участие этих белков в патогенезе ХрАМ. Результаты исследований на модели лабораторных животных позволяют предположить, что белковый обмен в мышечных клетках инициируется протеолизом титина, небулина и других саркомерных белков с последующей деградацией их фрагментов до аминокислотных остатков [10]. Снижение содержания титина и небулина вследствие их повышенного протеолиза, наблюдаемое при развитии мышечной атрофии [6], может приводить к нарушению высокоупорядоченной саркомерной структуры, ухудшению эластических свойств и сократительной способности мышц.

Анализ результатов электрофоретического исследования содержания титина и небулина выявляет тенденцию к снижению содержания интактного титина (Т1) и небулина и повышение содержания продуктов деградации титина (Т2), что может быть признаком активации процессов протеолиза. Полученные нами данные согласуются с результатами других авторов и подтверждают участие этих белков в развитии атрофического процесса скелетных мышц [10].

Повышенная протеолитическая деградация титина и небулина может быть следствием изменения уровня фосфорилирования этих белков и увеличения их чувствительности к протеолизу. Данное предположение не лишено оснований. Известна способность титина и небулина к фосфорилированию *in vivo* [110]. К настоящему времени установлено, что титин фосфорилируют следующие протеинкиназы: PKA, PKG, PKC, ERK1/2-киназа, а также Ca<sup>2+</sup>/кальмодулин-зависимая киназа [51, 60, 61, 70, 71]. Киназы, фосфорилирующие небулин, неизвестны. Прямых экспериментальных подтверждений, свидетельствующих об изменении чувствительности титина или небулина к протеолизу вследствие изменения его уровня фосфорилирования, в изученной научной литературе не обнаружено. Однако имеются косвенные данные, указывающие на то, что увеличение степени фосфорилирования титина сопровождается повышенной протеолитической деградацией этого белка. В частности, на экспериментальной

модели было показано, что атрофические изменения в *m. gastrocnemius* мышей в условиях микрогравитации сопровождались не только снижением содержания титина, но и увеличением (в 1,3 и 3,3 раза,  $p \leq 0.01$ ) степени фосфорилирования T1 и T2, соответственно [115]. Аналогичные изменения уровня фосфорилирования T1 и T2, сопровождающиеся повышенным протеолизом интактного титина, были обнаружены при развитии алкоголь-индуцируемой атрофии в *m. gastrocnemius* и *m. soleus* лабораторных крыс [57]. Высказано предположение, что гиперфосфорилирование титина, в основном T2-части его молекулы, способствует увеличению чувствительности этого белка к протеолизу [57]. Принимая во внимание это предположение, а также результаты, свидетельствующие о снижении содержания титина и небулина в четырехглавой мышце бедра пациентов, предполагалось обнаружить гиперфосфорилирование титина и небулина. Полученные результаты выявляют лишь тенденцию к увеличению уровня фосфорилирования T2 и небулина, однако достоверно значимых различий в этом параметре в мышце пациентов зарегистрировано не было.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об участии титина и небулина в патогенезе развития атрофического процесса скелетных мышц при хронической алкогольной интоксикации и могут приводить нарушению сократительной функции поперечнополосатой мускулатуры.

## ВЫВОДЫ

- 1) По результатам клинического обследования частота ХрАМ в группе пациентов с хронической алкогольной интоксикацией составила 29,6%, по результатам МРТ мышц бедер – 48,1%, а по данным морфологического исследования – 100% пациентов. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости комплексного клинко-инструментального подхода к диагностике ХрАМ.
- 2) При сопоставимой длительности и дозе потребляемого алкоголя проявления ХрАМ выявлялись чаще и были более выражены у женщин по сравнению с мужчинами, что свидетельствует о большей чувствительности к этанолу и продуктам его метаболизма лиц женского пола.
- 3) У пациентов с хронической алкогольной интоксикацией выявлено снижение уровня IGF-I, относящегося к системным регуляторам белкового синтеза, в том числе, синтеза белков цитоскелета мышечной ткани, что подтверждает участие данного белка в патогенезе развития ХрАМ.
- 4) МРТ мышц бедер - информативный неинвазивный метод диагностики ХрАМ на доклинической стадии. МРТ позволяет выявить наиболее пораженные группы мышц и объективизировать развитие мышечной атрофии. Выявленные при МРТ признаки жировой дегенерации чаще отмечались в задней группе мышц бедер, что свидетельствует о более раннем поражении антигравитационных групп мышц при ХрАМ.
- 5) Морфологической основой ХрАМ у мужчин и женщин является атрофия мышечных волокон и I и II типов. Зависимости выраженности атрофического процесса в мышцах от дозы и длительности потребления спиртных напитков не выявлено.

- б) В биоптате мышечной ткани обнаружено снижение содержания интактного титина и тенденция к повышению уровня продуктов его деградации, а также снижение содержания небулина, что может приводить к нарушению сократительной функции скелетных мышц при ХрАМ.

### **Практические рекомендации.**

1. Для диагностики ХрАМ при проведении клинического неврологического осмотра пациентов рекомендуется оценка силы в проксимальных отделах конечностей с обязательным исследованием силы в задней группе мышц бедра.
2. В качестве скринингового лабораторного метода верификации атрофии скелетных мышц при ХрАМ следует определять уровень IGF-I в сыворотке крови.
3. С целью ранней диагностики ХрАМ целесообразно проведение МРТ мышц бедер с оценкой степени жировой дегенерации по E.Mercury.
4. При проведении морфометрического исследования биоптата скелетной мышцы у пациентов с ХрАМ необходимо учитывать гендерный фактор.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИПМ – алкоголь-индуцированное поражение мышц

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АСТ - аспартатаминотрансфераза

Г-ГТ - гамма-глутамилтрансфераза

ДСН - додецилсульфат

КФК – креатинфосфокиназа

мРНК – митохондриальная рибонуклеиновая кислота

МРТ – магнитно-резонансная томография

ПДДЕ – потенциал действия двигательной единицы

ПОВ – потенциалы острых волн

ППС - площадь поперечного сечения

ПФ – потенциалы фибрилляций

ПФЦ – потенциалы фасцикуляций

СРВ – скорость распространения возбуждения

Т1ВИ – Т1-взвешенное изображение

Т2ВИ – Т2-взвешенное изображение

ТЦМ – тяжелые цепи миозина

ХрАМ - хроническая алкогольная миопатия

ЭМГ – электромиография

IGF-I - инсулиноподобный фактор роста I

IRS-1 - Insulin receptor substrate 1

mTOR - mammalian target of rapamycin

МҮН – myosin heavy chains

N-WASP – neural Wiskott-Aldrich syndrome protein (нейронный белок синдрома Вискотта-Олдрича)

STIR- Short TI Inversion Recovery

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1) Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия/ М.: Медицина; 1990. – С. 59-65.
- 2) Ангельчева О.И. Характеристика болевого синдрома при алкогольной полиневропатии, оценка эффективности лечения. Дисс. канд мед.наук. Москва, 2005.
- 3) Ангельчева О.И., Зиновьева О.Е., Яхно Н.Н. Нервно-мышечные нарушения при хроническом алкоголизме. Учебное пособие / МЕДпресс-Информ: Москва, 2009. – С. 70.
- 4) Беляева Т.К., Пухова А.Г. Социальные причины и последствия алкоголизма у сельского населения России // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. - №6 – С. 322-325.
- 5) Болезни нервной системы (руководство для врачей). Под ред. Н.Н.Яхно. – М.:Медицина.- 2005.
- 6) Вихлянцев И.М., Подлубная З.А. Изоформный состав тайтина в мышцах при патологических процессах. // Биофизика. - 2008. - Том 53. - С. 1058—1065
- 7) Вихлянцев И.М., Подлубная З.А. Новые изоформы тайтина (коннектина) и их функциональная роль в поперечно-полосатых мышцах млекопитающих: факты и предположения.// Успехи биологической химии. – 2012. – Том 52. – С. 239-280.
- 8) Владовец Д.В., Казаков Д.О. Диагностические возможности магнитно-резонансной томографии мышц при нервно-мышечных заболеваниях.// Неврологический журнал – 2014. – 3 – С. 4-12.
- 9) Грицына Ю.В., Салмов Н.Н., А.Г.Бобылёв, И.С.Фадеева, Н.И.Фесенко, Д.Г.Садикова, Подлубная З.А., Вихлянцев И.М. Хроническая алкогольная интоксикация не сопровождается увеличением протеолитической активности кальпаинов в сердечной мышце крыс.// Биохимия. – 2017. – Том 82. – вып.2. – С. 280-289.

- 10) Грицына Ю.В., Салмов Н.Н., Вихлянцев И.М., Уланова А.Д., Шарапов М.Г., Теплова В.В., Подлубная З.А. Изменение экспрессии гена и содержания тайтина (коннектина) в поперечнополосатых мышцах хронически алкоголизированных крыс. // Молекулярная биология. – 2013. – Том 47. - №6. – С. 996-1003
- 11) Дамулин И.В., Шмидт Т.Е. Неврологические расстройства при алкоголизме // Неврологический журнал.- 2004 - №2 - С. 4-10.
- 12) Зиновьева О.Е., Шенкман Б.С. Алкогольная миопатия// Неврологический журнал.- 2007. -№5. – С. 4-8
- 13) Казанцева Ю.В. Патогенетические механизмы хронической алкогольной миопатии: Дис. канд. мед. наук. Москва, 2011.
- 14) Ливзан М.А., Лялюкова Е.А. Алкогольная болезнь печени // Медицинский совет. – 2014. - №13. – С. 49-53.
- 15) Мак-Комас А.Дж. Скелетные мышцы. – Киев.: Олимпийская литература .- 2001 – С. 406.
- 16) Пауков В. С., Беяева Н. Ю., Воронина Т. М. Алкоголизм и алкогольная болезнь // Терапевтический архив.- 2001 - 73 (2) – С. 65—67
- 17) Пахомов А. ВОЗ: Уровень потребления алкоголя в России сократился на 3,5 литра. [Электронный ресурс]. / Пахомов А. Журнал Vademecum. – 2017 – Режим доступа: <https://vademec.ru/news/2017/06/01/voz-uroven-potrebleniya-alkogolya-v-rossii-sokratilsya-na-3-5-litra/>
- 18) Пахомов А. Роспотребнадзор: От алкоголя в России ежегодно умирают около полумиллиона человек. [Электронный ресурс]. / Пахомов А. Журнал Vademecum. – 2016 – Режим доступа: [https://vademec.ru/news/2016/01/19/rospotrebnadzor\\_ot\\_alkogolya\\_v\\_rossii\\_ezhegodn\\_o\\_umirayut\\_okolo\\_polumilliona\\_chelovek/](https://vademec.ru/news/2016/01/19/rospotrebnadzor_ot_alkogolya_v_rossii_ezhegodn_o_umirayut_okolo_polumilliona_chelovek/)
- 19) Портнов А.А., Пятницкая И.Н. Клиника алкоголизма. - Ленинградское отделение: Медицина. - 1971. – С. 392.

20) Серия технических докладов ВОЗ. 944. Комитет экспертов ВОЗ по проблемам, связанным с потреблением алкоголя. Второй доклад. - 2006. -Женева, Швейцария.

21) Скворцов Н.Л. Электронный учебник «Психиатрия и наркология». Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им.акад. И.П.Павлова.

22) Феллер В. Введение в теорию вероятностей и ее приложения. В 2-х томах: пер. с англ. М.: Мир, 1984 - т.2. – С. 738.

23) Шенкман Б.С., Ломоносова Ю.Н., Лысенко Е.А., Казанцева Ю.В., Зиновьева О.Е. Протеолитический сигналинг в скелетной мышце человека при алкогольной миопатии// Физиология человека. - 2013. - Т.39. - № 5. - С. 112–118.

24) Шеффе Г. Дисперсионный анализ: пер. с англ. - М.: Физматгиз. - 1963. – С. 626.

25) Щеглова Н.С. Нервно-мышечные нарушения при хронической алкогольной интоксикации у женщин. Дис. канд.мед.наук. Москва, 2015.

26) Щеглова Н.С., Алтаева Э.Г., Зиновьева О.Е., Шенкман Б.С., Казанцева Ю.В. Особенности поражения периферических нервов и скелетных мышц у женщин на фоне хронической алкогольной интоксикации// Медицинский совет. – 2013. - №4. - С. 64-68.

27) Aberle N.S., Ren J. Experimental assessment of the role of acetaldehyde in alcoholic cardiomyopathy // Biol Proced Online. – 2003 – Vol.5 – P. 1-12.

28) Adachi J., Asano M., Ueno Y., Marway J.S. et al. Acute effect of ethanol on 7-hydroperoxycholesterol in muscle and liver // Lipids. – 2001 – Vol.3. – P. 267-271.

29) Adler A. J., Phillipone E.J., Berlyne G.M. Effect of chronic alcohol intake on muscle composition and metabolic balance of calcium and phosphate in rats // Am J Physiol Endocrinol Metab.- 1985. - – Vol. 249 – P. 584-588.

30) Amelink GJ, Koot RW, Erich WB, Van Gijn J, Bar PR. Sex-linked variation in creatine kinase release, and its dependence on oestradiol, can be

demonstrated in an in-vitro rat skeletal muscle preparation. *Acta Physiol Scand* – 1990. - Vol.138. P. 115-124.

31) Ansari, R.W., Shukla, R.K., Yadav, R.S. et al. Cholinergic dysfunctions and enhanced oxidative stress in the neurobehavioral toxicity of lambda-cyhalothrin in developing rats // *Neurotox. Res.* – 2012. - Vol.22. - No.4- P.292–309.

32) Anthony J.C., Yoshizawa F., Anthony T.G. et al. Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway // *J Nutr.* – 2000. - Vol.130.- No.10 - P. 2413–2419

33) Bamman M.M., Clarke M.S., Talmadge R.J., Feeback D.L. Enhanced protein electrophoresis technique for separating human skeletal muscle myosin heavy chain isoforms // *Electrophoresis.*– 1999 - Vol.20 – P. 466-468

34) Bigliocchi M., Lo Mele L., Stasolla A, Kharrub Z., Riley E.P., Ceccanti M., Attila M.L., Giacomelli S., Masciangelo R., Marini M. MRI and muscle signal intensities in alcoholics compared with control subjects. // *Alcoholism: Clinical and experimental research.* - 2004. – Vol.28.(12) – P. 1857-1880

35) Burrton R, Sheron N. No level of alcohol consumption improves health// *J The Lancet* – 2018. Vol. 392. – P. 987-988.

36) Butler A.A., LeRoith D. Control of growth by somatotropic axis growth hormone and insulin-like growth factors have related and independent roles // *Ann Rev Physiol.*- 2001. – Vol. 63. – P. 141-164.

37) Carlier P.G., Marty B., Scheidegger O., De Sousa P.L., Baudin P-Y., Snezhko E., Vladovets D. Skeletal muscle quantitative nuclear magnetic resonance imaging and spectroscopy as an outcome measure for clinical trails // *Journal of neuromuscular diseases.* – 2016. – 3. – P. 1-28

38) Carlier R. МРТ мышц/МРТ всего тела в диагностике и динамическом наблюдении пациентов с нервно-мышечными заболеваниями. Перевод Ковальчук М.О. // *Нервно-мышечные болезни.* – 2014 (2) – С. 16-25

39) Ceylan-Isik A.F., McBride Sh.M., Ren J. Sex difference in alcoholics: who is at a greater risk for development of alcoholic complication? // *NIH Public access.* – 2010. – Vol.87. – P.1-13.

- 40) Chaudhuri A., Behan P.O., Alcoholic myopathy // Proc R Coll Physicians Edinb. – 1999. – Vol.29. P. 236-242.
- 41) Cheng J. Mechanisms of alcohol-induced endoplasmic reticulum stress and organ injuries // Biochemistry research international. 2012. – Vol.2012. – P. 1-12.
- 42) Chu M., Gregorio C.C. Pappas C.T. Nebulin, a multi-functional giant // Journal of Experimental Biology – 2016 - №219 - P.246-152
- 43) Fernandez-Sola J., Fatjo F., Sacanella E., Estruch R. et al. Evidence of apoptosis in alcoholic cardiomyopathy// Hum. Pathol. – 2006. – Vol.37, N.8. – P. 1100-11010
- 44) Fernández-Solà J., García G., Elena M. et al. Muscle antioxidant status in chronic alcoholism // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2002. – Vol.26. – P. 1858-1862.
- 45) [Fernández-Solà J.](#), [Junyent J.M.](#), [Urbano-Márquez A.](#) Alcoholic myopathies // [Curr Opin Neurol.](#) - 1996. – Vol. 9(5) – P. 400-405.
- 46) Fernandez-Sola J., Nicolas J.M., Sacanella E. et al. Low-dose ethanol consumption allows streigth recovery in chronic alcoholic myopathy// Q J Med. – 2000. - Vol.93 – P. 35 – 40
- 47) Ferraz M.L., Gabbai A.A., Oliveira A.S. et al. Histochemical study of the skeletal muscle in chronic alcoholism // Arq. Neuropsiquiatr. - 1989. - Vol. 47 - P. 139-149.
- 48) Firth S.M., Baxter R.C. Cellular actions of the insulin-like growth factor bindings proteins // Endocrine rev.- 2002 – Vol. 23 – P. 824-854
- 49) Frost R.A., Lang C.H. Regulation of insulin-like growth factor-I in skeletal muscle and muscle cells// Minerva Endocrinologica.- 2002. - Vol.28 – P. 53-73
- 50) Fulham M.A., Mandrecar P. Sexual Dimorphism in Alcohol Induced Adipose Inflammation Relates to Liver Injury// PLOS One. – 2016. – Vol.11 (10). – P. 1-15.
- 51) Gautel M., Goulding D., Bullard B., Weber K., Fürst D.O. The central Z-disk region of titin is assembled from a novel repeat in variable copy numbers// J. Cell Sci. - 1996. – Vol. 109 (Pt 11). – P. 2747–2754.

- 52) Glenn S.W. Sex differences in alcohol-induced brain damage// NIAAA Res Monogr. 1993. Vol.22. – P. 195-212.
- 53) Goll, D.E., Neti, G., Mares, S.W., and Thompson, V.F. Myofibrillar protein turnover: the proteasome and the calpains// J. Anim. Sci. – 2008. – Vol. 86. - P. 19–35.
- 54) Gorlach A., Klappa P., and Kietzmann T. The endoplasmic reticulum: folding, calcium homeostasis, signaling, and redox control// Antioxidants and Redox Signaling. - 2006.- Vol. 8, No.9-10. – P. 1391–1418.
- 55) Granzier H.L., Wang K. Gel electrophoresis of giant proteins: solubilization and silver-staining of titin and nebulin from single muscle fiber segments// Electrophoresis. – 1993. - Vol. 14 (1–2). P. 56–64.
- 56) Gregorio, C.C., Granzier, H., Sori-machi, H., Labeit, S. Muscle assembly: a titanic achievement? // Curr. Opin. Cell Biol. – 1999. – Vol.11. - P. 18-25
- 57) Gritsyna Yu.V., Salmov N.N., Bobylev A.G., Ulanova A.D., Kukushkin N.I., Podlubnaya Z.A., Vikhlyantsev I.M. Increased Autolysis of  $\mu$ -Calpain in Skeletal Muscles of Chronic Alcohol-Fed Rats. // Alcoholism: Clinical and experimental research. – 2017 - №10. P 1686-1694.
- 58) Haizlip K.M., Harrison B.C., Leinwand L.A. Sex-based differences in skeletal muscle kinetics and fiber-type composition// J.Physiology – 2015. – Vol.30. – P. 30-39
- 59) Hed R., Lundmark C., Fahlgren H., Orell S. Acute muscular syndrome in chronic alcoholism // Acta Med Scand.– 1962. – Vol.171. – P.585.
- 60) Hidalgo C., Hudson B., Bogomolovas J., Zhu Y., Anderson B., Greaser M., Labeit S., Granzier H. PKC phosphorylation of titin's PEVK element: a novel and conserved pathway for modulating myocardial stiffness// Circ. Res. - 2009. Vol. 105. – P. 631–638.
- 61) Hidalgo C.G., Chung C.S., Saripalli C., Methawasin M., Hutchinson K.R., Tsaprailis G., Labeit S., Mattiazzi A., Granzier H.L. The multifunctional Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II delta (CaMKII $\delta$ ) phosphorylates cardiac titin's spring elements/ J. Mol. Cell. Cardiol. - 2013. Vol.54. P. 90–97.

- 62) Hunter R.J., Neagoe C., Jarvelainen H.A., Martin C.R. et al. Alcohol affects the skeletal muscle proteins, titin and nebulin in male and female rats. // *J.Nutr.* – 2003. – Vol.133. – P.1154-1157.
- 63) Huxley, A.F., Niedergerke, R. Structural changes in muscle during contraction; interference microscopy of living muscle fibres // *Nature.* – 1954. – Vol.173. P. 971-973.
- 64) Huxley, H.E., Hanson, J. Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation // *Nature.* – 1954. – Vol.173. – P. 973-976.
- 65) Jackson J. On a peculiar disease resulting from the use of ardent spirits // *New Eng J Med Surg.* – 1882 – P. 351-353.
- 66) Kennedy RH, Stewart C, Light KE, Wyeth RP. Effects of gender on the cardiac toxicity elicited by chronic ethanol intake in rats// *Toxicol App Pharm.* - 2002. – Vol.179. P. 111-118.
- 67) Koike H., Iijima M., Sugiura M. et al Alcoholic neuropathy is clinicopathologically distinct from thiamine-deficiency neuropathy// *Ann Neurol.* – 2003. – Vol.54 (1). – P. 19-29.
- 68) Koll M., Ahmed S., Mantle D. et al. Effect of acute and chronic alcohol treatment and their superimposition on lysosomal, cytoplasmic, and proteosomal protease activities in rat skeletal muscle in vivo// *Metabolism.* - 2002. – Vol.51. - No.1. - P. 97-104.
- 69) Koll M., Beeso J.A., Kelly F.J., Simanowski U.A.. Chronic alphatocopherol supplementation in rats does not ameliorate either chronic or acute alcohol-induced changes in muscle protein metabolism// *Clin Science (Colch).* – 2003. - Vol.104. –P. 287–294.
- 70) Kötter S., Gout L., Von Frieling-Salewsky M., Müller A.E., Helling S., Marcus K., Dos Remedios C., Linke W.A., Krüger M. Differential changes in titin domain phosphorylation increase myofilament stiffness in failing human hearts// *Cardiovasc. Res.* - 2013. Vol. 99. – P. 648–656.

- 71) Krüger M., Linke W.A. Protein kinase-A phosphorylates titin in human heart muscle and reduces myofibrillar passive tension// *J. Muscle Res. Cell Motil.* - 2006. – Vol. 27. P. 435–444.
- 72) Labeit S., Kolmerer B. Titins: giant proteins in charge of muscle ultrastructure and elasticity// *Science.* – 1995. Vol.270. P. 293-296.
- 73) Lamminen A.E. Magnetic resonance imaging of primary skeletal muscle diseases: patterns of distribution and severity of involvement// *Br J Radiol.* – 1990. – Vol.63. – P. 946-50.
- 74) 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. – Vol.285(6) – P. 1205-1215.
- 75) Lang C.H., Pruznak A.M., Nystrom G.J and Vary T.C. Alcohol-induced decrease in muscle protein synthesis associated with increased binding of mTOR and raptor: Comparable effects in young and mature rats // *Nutrition & Metabolism.*- 2009 – Vol. 6 – P. 4.
- 76) Lang C.H., Frost R.A., Vary T.C. Skeletal muscle protein synthesis and degradation exhibit sexual dimorphism after chronic alcohol consumption but not acute intoxication// *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2007. - Vol.292. – P. 1497-1506.
- 77) LeBlanc A., Chen L., Shackelford L., Sinitsyn V., Evans H., Belichenko O., Shenkman B., Kozlovskaya I., Oganov V., Bakulin A., Hedrick Th., Feedback D. Muscle volume, MRI relaxation times (T2), composition after spaceflight// *J.Appl.Physiol.*- 2000. – Vol.89. – P.2158-2164.
- 78) Lovitt S., Marden F.A., Gundogdu B. et al. MRI in myopathy// *Neurol Clin.* - 2004. Vol.22(3). – P. 509—38.
- 79) Mantle D., Falkous G., Peters T.J., Preedy V.R. Effect of ethanol and acetaldehyde on intracellular protease activities in human liver, brain and muscle tissues in vitro // *Clin Chim Acta.*– 1999 – Vol.281 – P. 101-108.
- 80) Martin F., Ward K., Slavin G., Levi J., Peters T.J. Alcoholic skeletal myopathy, a clinical and pathological study// *Q J Med.* – 1985. – Vol.55. – P. 233-251.

- 81) Maruyama, K., Natori, R., Nomomura, Y. New elastic protein from muscle// *Nature*. 1976. – Vol.262. – P. 58-60.
- 82) Mendelson JH, Ellingboe J, Mello NK, Kuehnle J. Effects of alcohol on plasma testosterone and luteinizing hormone levels// *Alcohol Clin Exp Res*. - 1978. Vol.2. P. 255-258.
- 83) Mercuri E., Pichiecchio A., Counsell S. et al. A short protocol for muscle MRI in children with muscular dystrophies// *Eur J Paediatr Neurol*. - 2002 Vol. 6(6).- P. 305—307.
- 84) Mills K.R., Ward K., Martin F., Peters T.J. Peripheral neuropathy and myopathy in chronic alcoholism. // *Alcohol. Alcohol*. – 1986. – Vol.21. – P.357-362.
- 85) Nguyen V.A., Tran L., Ming T. et al. Insulin/IGF Signaling in Experimental Alcohol-Related Myopathy// *Nutrients* – 2012. – Vol.4.- P.1058-1075.
- 86) Ohlendieck K., Harmon S., Koll M., Paice A.G. et al. Ca<sup>2+</sup>-regulatory muscle proteins in the alcohol-fed rat // *Metabolism*.-2003 – Vol.52 (9) – P. 1102-1112.
- 87) Orfanidis N.T. Alcoholic Liver Disease. [Электронный ресурс] /2013 - Orfanidis N.T. MSD – 2013. <https://www.msmanuals.com/ru>.
- 88) Osna N.A., Donohue T.M., Kharbanda K.K. Alcoholic liver disease: pathogenesis and current management// *Alcohol research: current reviews*. - 2017. – Vol.38 - №2. – P.147-161.
- 89) Pacy P.J., Preedy V.R., Peters T.J., Read M. et al. The effect of chronic alcohol ingestion on whole body and muscle protein synthesis – a stable isotope study// *Alcohol*.– 1991. – Vol.26 – P.505-513.
- 90) Pena L.R., Hill D.B., McClain C.J. Treatment with glutathione precursor decreases cytokine activity// *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. – 1996. –Vol.23. - P1–6.
- 91) Polak P., Hall M.N. mTOR and the control of whole body metabolism// *Current Opinion in Cell Biology* 2009.- Vol. 21 – P. 209 – 218.
- 92) Powers T. mTOR signaling and S6 kinase 1: Yeast catches up// *Cell Metab*.- 2007 - Vol.6(1). - P. 1-2.

- 93) Preedy V.R., Adachi J., Ueno Y., Ahmed S. et al. Alcoholic skeletal muscle myopathy: definitions, features, contribution of neuropathy, impact and diagnosis // *European Journal of Neurology*.– 2001 – Vol.8 – P. 677-687.
- 94) Preedy V.R., Ohlendieck K., Adachi J., Koll M. et al. The importance of alcohol-induced muscle disease // *J Muscle Res Cell Motil.*– 2003 – Vol. 24(1) – P. 55-63.
- 95) Prefferbaum A., Rosenbloom M., Deshmukh A., Sullivan E., Sex differences in the effects of alcohol on brain structure// 2001. – Vol. 158(2) – P. 188-197.
- 96) Rajaram S., Baylink D.J., Mohan S. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: Regulation and functions// *Endocrine reviews*.- 1997. – Vol.18. – P.801-831.
- 97) Rivas-Grajales A.M., Markis N. Sexually dimorphic structural abnormalities in major connections of the medial forebrain bundle in alcoholism // *NeuroImage: Clinical*. – 2018. – Vol.19. – P. 98-105.
- 98) Roos-Mattjus P, Sistonen L. The ubiquitin-proteasome pathway// *Ann Med*. - 2004. Vol.36. – P. 285-295.
- 99) Rossetti M.L., Steiner J.L., Gordon B.S. Androgen-mediated regulation of skeletal muscle protein balance// *Molecular and Cellular Endocrinology*. - 2017. – Vol.447. – P.35-44.
- 100) Sancak Y, Peterson TR, Shaul YD, Lindquist RA, et al. The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1 // *Science*.- 2008 – Vol. 320 – P. 1496-1501.
- 101) Schedel H., Reimers C.D., Nagele M. et al. Imaging techniques in myotonic dystrophy. A comparative study of ultrasound, computed tomography and magnetic resonance imaging of skeletal muscles// *Eur J Radiol*. - 1992. – Vol.15(3). – P. 230-238.
- 102) Schiaffino S, Reggiani C. Fiber types in mammalian skeletal muscles.// *Physiol Rev* -2011 – Vol.91. - P.1447-1531.

- 103) Schiaffino S., Gorza L., Ausoni S., Bottinelli R. et al. The dynamic state of muscle fibers// Berlin: Walter de Gruyter. 1990. – P.329-341.
- 104) Schultz E., McCormick K.M. Skeletal muscle satellite cells// Rev Physiol Biochem Pharmacol.- 1994. - Vol.123. – P.213 – 257.
- 105) Sestoft L., Iversen P., Nordgaard I., Amris S. et al. Working capacity and expression of myosin heavy chain isoforms in skeletal muscle of chronic alcoholic men without liver disease after 1 day and 4 weeks of alcohol abstinence // Clin Sci (Colch).– 1994 – Vol.86 – P. 433-440.
- 106) Showalter C.J., Engel A.G. Acute quadriplegic myopathy: analysis of myosin isoforms and evidence for calpain-mediated proteolysis // Muscle Nerve.– 1997 – Vol.20 – P. 316-322.
- 107) [Singh S.](#), [Sharma A.](#), [Sharma S.](#) et al. Acute alcoholic myopathy, rhabdomyolysis and acute renal failure// [Neurol India.](#)- 2000. – Vol. 48(1) – P. 84-85.
- 108) Slavin G., Martin F., Ward P., Levi J. et al. Chronic alcohol excess is associated with selective but reversible injury to type 2B muscle fibers. //J. Clin. Pathol. – 1983. – Vol.36. – P.772-777.
- 109) Soliman G.A., Acosta-Jaquez H.A., Dunlop E.A. et al. mTOR Ser-2481 autophosphorylation monitors mTORC-specific catalytic activity and clarifies rapamycin mechanism of action//J Biol Chem.- 2010. – Vol. 285. – P.7866-7879.
- 110) Somerville L.L., Wang K. Sarcomere matrix of striated muscle: in vivo phosphorylation of titin and nebulin in mouse diaphragm muscle // Arch. Biochem. Biophys. – 1988. - Vol. 262 (1). P. 118–129.
- 111) Takamatsu N., Mori A., Nodera H. Sonographic evaluation of myopathy// Brain Nerve. - 2014. Vol.66(3). – P. 247-57.
- 112) Tatsumi R., Hattori A. Detection of giant myofibrillar proteins connectin and nebulin by electrophoresis in 2% polyacrylamide slab gels strengthened with agarose // Analytical Biochemistry. 1995. - Vol. 224. - №.1,P. 28–31.
- 113) Tofts P.S. Quantitative MRI of the brain: Measuring changes caused by disease// John Wiley, 2003.

114) Trounce I., Byrne E., Dennett X., Santamaria J. et al. Chronic alcoholic proximal wasting: physiological and biochemical studies in skeletal muscle// *Aust N Z J Med.*– 1987. – Vol.17 – P. 413-419.

115) Ulanova A., Gritsyna Y., Vikhlyantsev I., Salmov N., Bobylev A., Abdusalamova Z., Rogachevsky V., Shenkman B., Podlubnaya Z. Isoform composition and gene expression of thick and thin filament proteins in striated muscles of mice after 30-day space flight// *Biomed. Res. Int.* - 2015, 2015:104735. doi: 10.1155/2015/104735.

116) Urbano-Marquez A, Estruch R, Fernandez-Sola J, Nicolas JM, Pare JC, Rubin E. The greater risk of alcoholic cardiomyopathy and myopathy in women compared with men// *JAMA.* – 1995. - Vol.274. – P. 149-154.

117) Vary T., Frost R., and Lang C. Acute alcohol intoxication increases atrogen-1 and MuRF1 mRNA without increasing proteolysis in skeletal muscle // *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol.*- 2008 – Vol. 294 – P. 1777-1789.

118) Vary TC, Kimball SR, Sumner A. Sex differences regulating protein synthesis following long-term alcohol consumption in rat hearts// *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* - 2007. Vol.292. P. R778 -R787.

119) Vikhlyantsev I.M., Podlubnaya Z.A. New titin (connectin) isoforms and their functional role in striated muscles of mammals: facts and suppositions// *Biochemistry (Mosc).* 2012. – Vol. 77(13). - P. 1515–1535.

120) Vikhlyantsev I.M., Podlubnaya Z.A. Nuances of electrophoresis study of titin/connectin.// *Biophys Rev.* – 2017. 9(3). P. 189-199. doi: 10.1007/s12551-017-0266-6.

121) Walsh R.J., Amato A.A. Toxic myopathies // *Neurol. Clin.*– 2005 – Vol.23 (2) – P. 397-428.

122) Wang K., McClure J., Tu A. Titin: major myofibrillar components of striated muscle// *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1979. – Vol.76. P. 3698-3702.

123) Ward R.J., Peters T.J. The antioxidant status of patients with either alcohol-induced liver damage or myopathy // *Alcohol Alcohol.*– 1992 – Vol.27 – P. 359-365.

124) Wassif W.S., Preedy V.R., Summers B., Duane P. et al. The relationship between muscle fiber atrophy factor, plasma carnosinase activities and muscle RNA and protein composition in chronic alcoholic myopathy. //Alcohol. – 1993. – Vol28. – P.325-331.

125) Welle S, Tawil R, Thornton CA. Sex-related differences in gene expression in human skeletal muscle// Plos One. – 2008. – Vol.3. - P. 1385.

126) World Health Organization' s Global Information System on Alcohol and Health (GISAH) [Электронный ресурс]. - 2017. - Geneva Режим доступа: <http://www.who.int/gho/alcohol/en>.

127) World health organization. Alcohol. . [Электронный ресурс]. -2018 – Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs349/ru/>.