

ФГБОУ ВО «Донецкий государственный университет»

На правах рукописи



ТРУШ ВЕРА ВЛАДИМИРОВНА

1.5.5 — физиология человека и животных

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВЛИЯНИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ НА
ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НЕРВНО-МЫШЕЧНОГО АППАРАТА КРЫС
И ПУТИ КОМПЕНСАЦИИ ИХ ПОВРЕЖДАЮЩИХ ЭФФЕКТОВ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Донецк – 2023

Работа выполнена на кафедре физиологии человека и животных ФГБОУ ВО «Донецкий государственный университет».

Научный консультант: **Соболев Валерий Иванович**, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры здоровья и реабилитации Гуманитарно-педагогической академии (филиал) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» в г. Ялте

Официальные оппоненты **Гришин Сергей Николаевич**, профессор кафедры медицинской и биологической физики с информатикой и медицинской аппаратурой ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор биологических наук по специальности «Биофизика», доцент

Лопатина Екатерина Валентиновна – заведующая кафедрой нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, доктор биологических наук по специальности «Физиология», доцент

Сайфутдинов Марат Саматович – ведущий научный сотрудник группы клинической нейрофизиологии научной клинко-экспериментальной лаборатории патологии осевого скелета и нейрохирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор биологических наук по специальности «Физиология»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», кафедра физиологии человека и животных

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2023 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 24.2.318.08 при ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» по адресу: 295007, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Ялтинская, 20, зал защиты диссертаций (аудитория 301).

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» по адресу: 295007, Республика Крым, г. Симферополь, проспект Академика Вернадского, 4, корпус А и на сайте университета <https://science.cfuv.ru>.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2023 года.

Ученый секретарь
диссертационного
совета 24.2.318.08,
к.б.н., доцент

Хусаинов Денис Рашидович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы и степень ее изученности. Глюкокортикоиды (ГК) и особенно гораздо более активные их фторсодержащие синтетические аналоги, несмотря на большое разнообразие побочных эффектов, по сей день остаются наиболее эффективными противовоспалительными средствами (Madamsetty et al., 2022). Вместе с тем, несмотря на полезные терапевтические эффекты, ГК в дозах, в десятки раз превышающих естественные физиологические их концентрации в организме, оказывают и негативное влияние на ряд его структур, в том числе опорно-двигательный аппарат (Swarbrick et al., 2021).

Несмотря на достаточно хорошую изученность молекулярных механизмов действия ГК, срочные и долговременные их эффекты на нервно-мышечный аппарат остаются предметом дискуссии. Так, в начале нынешнего века сформировалось представление о том, что однократно вводимые близкие к физиологическим и умеренно повышенные дозы ГК, аналогичные таковым при остром стрессе, оказывают позитивное влияние на функциональное состояние нервно-мышечных синапсов и самих скелетных мышечных волокон, в отличие от повреждающих их эффектов при естественном или ятрогенном гиперкортицизме. Выявлено положительное эрготропное действие ГК (дексаметазон, 8 мг/сутки для человека), проявляющееся в увеличении абсолютной силы сокращения латеральной мышцы бедра, после сравнительно непродолжительного (недельного) их введения в организм, несмотря на снижение возбудимости мышечных волокон (Minetto et al., 2010).

В то же время, более поздними исследованиями (Гришин и др., 2017) установлено, что высокие дозы ГК, как кратковременно, так и длительно действующие на нервно-мышечный аппарат, вызывают блокирование холинорецепторов и ослабление синаптической передачи, что, в целом, негативно сказывается на функциональном состоянии скелетных мышц. Кроме того, обнаружена способность ГК, действуя негеномным путем, вызывать апоптоз мышечных волокон (Lee et al., 2005), а в клинической практике выявлены казуистические случаи острой стероидной миопатии даже после однократного приема ГК в относительно небольших дозах (Sun et al., 2017). Известно также, что разные синтетические ГК (дексаметазон, метилпреднизолон, дефлазокорт) несколько отличаются характером влияния на скелетные мышцы, который зависит от типа мышечных волокон и доз ГК (Fappi et al., 2019).

Несмотря на некоторую противоречивость литературных данных относительно эффектов ГК на периферическое звено нервно-мышечного аппарата в случае кратковременного их применения, хорошо известно, что изменения в опорно-двигательном аппарате при длительном гиперкортицизме проявляются в виде тяжелой слабости и повышенной утомляемости мышц, возможной их дистрофии, уменьшении плотности костной ткани, и, как следствие, увеличении вероятности патологических переломов костей (Hu et al., 2022; Minetto et al., 2018). Между тем, начало стероидной миопатии обычно незаметно, и нет никаких специфических лабораторных данных, однозначно указывающих в пользу ее развития (Shimohata et al., 2006), в связи с нормальными значениями многих параметров, изменяющихся обычно при повреждении мышечной ткани другого генеза. Кроме того, отсутствуют дифференциальные анатомопатологические признаки стероидной миопатии, позволяющие выявить ее на основании данных биопсии (Perrot et al., 2012). Остаются до конца не раскрытыми и многие аспекты патогенеза стероидной миопатии, что отчасти обусловлено разнообразием внутриклеточных сигнальных путей ГК и зависимостью реализации определенных из них от типа клетки-мишени, а также от дозы и типа ГК.

Одним из главных проявлений длительного действия высоких доз ГК на нервно-мышечный аппарат, даже при субклиническом гиперкортицизме, служит снижение массы скелетных мышц, особенно нижних конечностей (Kim et al., 2018). При этом преимущественно в исследованиях *in vitro* установлено, что первичными причинами ГК-индуцируемой мышечной дистрофии могут выступать:

- снижение активности пути «инсулиноподобный фактор роста I (ИФР-I) – фосфатидилинозитид-3-киназа – протеинкиназа Akt – киназа mTOR – киназа S6 рибосомального белка p70 (p70S6k)» (Chang et al., 2020; Geng et al., 2020),

- активация транскрипционных факторов семейства FoxO, усиливающих экспрессию атрогенов (Chang et al., 2020; Kim et al., 2018),
- усиление под действием протеосомных убиквитинлигаз протеолиза мышечных белков (Sakai et al., 2019), в том числе убиквитинирование и деградация тяжелой цепи миозина (MyHC) (Noh et al., 2014), что сопровождается повреждением миофибрилл,
- запуск аутофагии, индуцированной лизосомальными ферментами (Seok et al., 2021),
- повышение экспрессии миостатина в мышечных волокнах (Qin et al., 2013), которое носит гораздо более выраженный характер в быстрых гликолитических скелетных мышцах, в сравнении с медленными окислительными (Allen et al., 2011),
- нарушение активности антиоксидантной системы в мышечных волокнах (Konno, 2005), что предопределяет развитие оксидативного стресса и усиление протеолиза и апоптоза,
- повреждение митохондрий в мышечных волокнах (Jiao et al., 2018) и внутриклеточная депривация АТФ, обуславливающая сильную активацию АМПК и, как следствие, повышение активности пути FoxO3 – атрогены (MuRF-1, Fbx32) (Liu et al., 2016).

В связи со сложностью генеза ГК-индуцированных мышечных нарушений, пути их коррекции остаются до конца не раскрытыми. Большинство из предполагаемых способов компенсации мышечных расстройств при гиперкортицизме были опробованы *in vitro* на мышечных трубках C2C12 или миобластах и проявили эффективность в плане предотвращения их дистрофии. Вместе с тем, данные, полученные на миотрубках *in vitro*, могут существенно отличаться от результатов *in vivo*, даже на животных моделях (Archer-Lahlou et al., 2018). Более того, некоторыми исследователями (Камалиев и др., 2009) показано, что в основе снижения мышечной силы при гиперкортицизме могут лежать не только длительно развивающиеся структурные и метаболические перестройки в нервно-мышечном аппарате, но и быстро реализующиеся вследствие негеномных эффектов ГК изменения синаптической передачи. В связи с этим предотвращение только лишь мышечной атрофии может не обеспечить полной компенсации мышечных расстройств, характерных для гиперкортицизма. Кроме того, установленная некоторыми специалистами (Langendorf et al., 2020; Macedo et al., 2016) динамичность процесса мышечной атрофии при развитии гиперкортицизма, обусловленная активацией разных механизмов на разных его этапах, требует оценки эффективности корректирующих средств в динамике введения ГК.

В качестве рабочей гипотезы в данной работе было высказано предположение относительно вероятной эффективности средств, оказывающих позитивные эффекты на нервно-мышечный аппарат и потенциально способных повлиять на некоторые патогенетические звенья стероидной миопатии, в компенсации функциональных нарушений в скелетной мышце при длительном введении ГК. В качестве таких средств были выбраны альфакальцидол, антиоксиданты (таурин и α -липоевая кислота), селективный β_2 -адреноагонист формотерол, а также аргинин и умеренная физическая нагрузка, применяемые по отдельности и в комплексе.

Целью работы явилось выявление закономерностей влияния ГК на функциональное состояние периферического звена нервно-мышечного аппарата и обоснование способов компенсации их повреждающих эффектов на скелетную мышцу в модельных экспериментах на животных.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи**:

- оценить срочные и долговременные эффекты гидрокортизона и дексаметазона на функциональное состояние *m. tibialis anterior*;
- выявить закономерности формирования механизмов нервно-мышечных нарушений в динамике развития дексаметазонового гиперкортицизма;
- оценить эффективность частично активированной формы витамина D₃ – альфакальцидола – в компенсации повреждающих эффектов дексаметазона на периферическое звено нервно-мышечного аппарата;
- охарактеризовать функциональные изменения в периферической части нервно-мышечного аппарата в динамике введения дексаметазона в комбинации с антиоксидантами – таурином или α -липоевой кислотой;

- оценить эффективность наномолярных доз β_2 -адреноагониста пролонгированного действия формотерола в компенсации повреждающих эффектов дексаметазона на периферическое звено нервно-мышечного аппарата;

- выявить характер функциональных изменений в периферической части нервно-мышечного аппарата в динамике введения дексаметазона в комбинации с аргинином и умеренной физической нагрузкой, применяемыми по отдельности и в комплексе;

- определить наиболее эффективные и безопасные способы компенсации повреждающих эффектов ГК на нервно-мышечный аппарат в модельных экспериментах на животных.

Научная новизна полученных результатов. Впервые проведено комплексное экспериментальное исследование по изучению характера изменений функционального состояния периферического звена нервно-мышечного аппарата под влиянием гидрокортизона и дексаметазона, в том числе в динамике развития изолированного гиперкортицизма и комбинированного с факторами, потенциально способными компенсировать повреждающие эффекты ГК.

Разработаны теоретические положения, расширяющие современные представления о срочных и долговременных эффектах ГК на периферическое звено нервно-мышечного аппарата, а также характере функциональных изменений в нем в динамике развития гиперкортицизма. В частности, выявлены особенности срочных эффектов ГК на скелетную мышцу: положительное эрготропное действие, проявляющееся в увеличении величины внешней работы и мощности сокращения, оказывал однократно вводимый гидрокортизон, тогда как однократная инъекция дексаметазона вызывала снижение ее работоспособности. Долговременные эффекты гидрокортизона и дексаметазона на периферическое звено нервно-мышечного аппарата, несмотря на схожесть, проявляющуюся в ухудшении эргометрических параметров мышцы, также характеризовались существенным отличием, заключающимся в том, что дексаметазон обуславливал снижение работоспособности мышцы и устойчивости к утомлению, тогда как гидрокортизон, напротив, приводил к улучшению способности мышцы удерживать амплитуду сокращения на максимальном и субмаксимальном уровне, более низком, чем у контроля.

Установлено, что в генезе функциональных нарушений периферического звена нервно-мышечного аппарата при гиперкортицизме определенную роль могут играть не только уменьшение массы скелетной мышцы и количества активируемых ее двигательных единиц (ДЕ), но и синаптические и нейропатические расстройства. При этом уменьшение массы мышцы, а также признаки синаптических нарушений при гиперкортицизме не всегда сопровождаются выраженными нарушениями эргометрических ее параметров, а признаки нейропатических расстройств в отсутствие компенсирующих стероидную миопатию средств могут маскироваться выраженными собственно мышечными нарушениями.

Впервые установлен фазный характер изменений в нервно-мышечном аппарате в динамике развития гиперкортицизма. В частности, показано, что на начальных этапах развития гиперкортицизма (спустя первые 10 дней введения дексаметазона), несмотря на уменьшение массы мышцы и наличие функциональных признаков сдвига ее профиля в окислительную сторону, выраженных электрофизиологических нарушений и ухудшения эргометрических ее показателей не возникает, и у части особей (30 %) наблюдаются даже признаки облегчающего эффекта дексаметазона на синаптический аппарат. Выраженные же нарушения электрофизиологических, сократительных и эргометрических параметров мышцы отмечаются спустя 30 дней введения дексаметазона с последующей тенденцией к нормализации по окончании 2-месячного периода его применения, которая была обусловлена не столько улучшением функционального состояния мышечных волокон, сколько вероятным увеличением плотности ДЕ мышцы.

Впервые на основании оценки электрофизиологических, сократительных, эргометрических и миотермических параметров мышцы изучена эффективность различных средств (селективного β_2 -адреноагониста, антиоксидантов, альфакальцидола, аргинина и умеренной физической нагрузки, применяемых по отдельности и в комплексе) в компенсации повреждающих эффектов дексаметазона в динамике развития

гиперкортицизма. В модельных экспериментах на животных установлена высокая (сравнимая с таковой β_2 -адреноагониста формотерола) эффективность аргинина, таурина и α -липоевой кислоты в компенсации дексаметазон-индуцированных нарушений сократительной функции мышцы и ослаблении выраженности синаптических расстройств.

Совокупность теоретических положений, новый подход к коррекции повреждающих эффектов ГК на нервно-мышечный аппарат, разработанный на основе экспериментальных данных об эффективности аргинина, таурина и α -липоевой кислоты, направлены на решение важной междисциплинарной научной проблемы, связанной с закономерностями действия ГК на нервно-мышечную систему и определением путей компенсации функциональных нарушений в ней.

Научно-практическая значимость работы. Выявленные особенности функциональных изменений в скелетной мышце под влиянием однократно и длительно вводимых гидрокортизона и дексаметазона, а также в динамике развития гиперкортицизма расширяют теоретические представления относительно механизмов действия ГК на периферическое звено нервно-мышечной системы, в том числе ГК-индуцированных патогенетических изменений в ней. Эти данные важны не только для понимания эффектов ГК на нервно-мышечный аппарат и механизмов развития стероидной миопатии, но и определения возможных способов ее компенсации.

Полученные результаты о высокой эффективности аргинина, таурина и α -липоевой кислоты в компенсации дексаметазон-индуцированных расстройств скелетной мышцы смешанного типа с преобладанием гликолитических мышечных волокон (*m. tibialis anterior*) легли в основу научного обоснования возможности их использования для профилактики стероидной миопатии (патент «Способ коррекции стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных», № заявки 2022125635) и могут иметь практическое применение в доклинических исследованиях способов компенсации миопатий различного генеза.

Выявленные закономерности формирования функциональных изменений в периферическом звене нервно-мышечной системы в динамике развития гиперкортицизма могут быть использованы в учебном процессе в курсах патофизиологии и физиологии эндокринной системы. Полученные данные относительно эффектов однократно и длительно вводимых ГК на нервно-мышечный аппарат, а также характера функциональных изменений в нем в динамике развития ятрогенного гиперкортицизма внедрены в учебный процесс кафедры физиологии с лабораторией теоретической и прикладной нейрофизиологии им. акад. В.Н. Казакова ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького» при преподавании дисциплин «Физиология» и «Нормальная физиология» (акт внедрения от 16.09.22 г.) и кафедры физиологии человека и животных ФГБОУ ВО «Донецкий государственный университет» при преподавании дисциплин «Физиология человека и животных» и «Физиология эндокринной системы с основами патологии» (справка о внедрении №140/01-26/6-4.0 от 07.06.2023 г.). Результаты относительно эффектов ГК и длительно вводимых адреноагонистов, альфакальцидола и умеренной физической нагрузки динамического характера, применяемой изолированно и в комплексе с аргинином, на функциональное состояние периферического звена нервно-мышечной системы внедрены в учебный процесс при преподавании дисциплин «Физиология человека», «Основы нейрофизиологии» и «Адаптивная двигательная рекреация» в Гуманитарно-педагогической академии (филиал) ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» в г. Ялта (справка о внедрении №13/3-54-А от 19.10.22 г.). Данные относительно эффектов однократно и длительно вводимых ГК, альфакальцидола, адреноагонистов, аргинина и антиоксидантов (таурина и α -липоевой кислоты) на нервно-мышечный аппарат, а также эффективности аргинина, формотерола и антиоксидантов (таурина и α -липоевой кислоты) в компенсации стероидной миопатии на разных этапах ее развития внедрены в научную деятельность Центральной научно-исследовательской лаборатории ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького» (акт внедрения от 22.09.22 г.).

Методология и методы исследования. Методология диссертационного исследования основывалась на использовании комплекса методов и приемов, давших возможность решить поставленные в работе цели и задачи. Методы, используемые в работе, включали в себя моделирование экспериментальных воздействий, физиологические (стимуляционную электромиографию, миографию, эргографию, миотермию) и соматометрические (взвешивание ГК-чувствительных органов) методики, а также статистический анализ экспериментальных данных (сравнительный анализ с использованием параметрических критериев, двухвыборочный F-тест для дисперсий, U-критерий Манна-Уитни, корреляционный и регрессионный анализ) и позволили изучить эффекты ГК на нервно-мышечный аппарат и характер нервно-мышечных нарушений в динамике развития гиперкортицизма при изолированном введении дексаметазона и комплексном его применении с определенными факторами, потенциально способными компенсировать повреждающие эффекты ГК.

Протокол эксперимента, содержание животных и выведение их из опыта соответствовали этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных и одобрены этическим комитетом по биоэтике Донецкого национального университета (протокол № 2 от 24 июня 2011 г.).

Положения, выносимые на защиту:

1. Срочные эффекты гидрокортизона и дексаметазона на периферическое звено нервно-мышечного аппарата, наряду с некоторым сходством (повышение возбудимости нервно-мышечного аппарата, облегчение синаптической передачи, увеличение скорости тетанического сокращения), характеризуются и принципиальными различиями: положительным эрготропным действием на *m. tibialis anterior* обладает только гидрокортизон, тогда как дексаметазон вызывает ухудшение энергообеспечения мышечных волокон.

2. При субхроническом введении, эффекты гидрокортизона и дексаметазона на функциональное состояние *m. tibialis anterior*, наряду с определенными общими чертами (ухудшение сократительных и энергетических параметров мышцы), характеризуются и принципиальными отличиями: гидрокортизон вызывает увеличение устойчивости мышцы к утомлению на фоне уменьшения ее эргометрических параметров, тогда как под действием дексаметазона, напротив, наблюдаются признаки повышенной утомляемости мышцы, наряду с более низким уровнем выполняемой ею внешней работы.

3. Изменения функциональных показателей *m. tibialis anterior* в процессе развития гиперкортицизма носят дифференцированный и фазный характер: спустя 10 суток введения дексаметазона выраженных сдвигов электрофизиологических и эргометрических показателей не наблюдается, но нарушается способность к восстановлению ответов после утомления. К 30-ым суткам максимально выражены нарушения всех основных показателей мышцы. После 2-месячного периода введения дексаметазона выявлена тенденция к нормализации показателей.

4. При субхроническом введении ГК отсутствует полноценная адаптация нервно-мышечного аппарата к ним, но некоторая нормализация параметров сократительной функции скелетной мышцы на фоне удлинения М-ответов служит хорошим прогностическим признаком, отражающим процесс нормализации функционального состояния скелетной мышцы за счет предположительного увеличения плотности ДЕ.

5. Некоторые низкомолекулярные соединения – альфакальцидол, аргинин, таурин и α -липоевая кислота, а также физическая нагрузка аэробного характера и β_2 -адреноагонист формотерол проявили различную эффективность в компенсации дексаметазон-индуцированных нарушений мышечной функции у крыс.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов и правомерность выводов обеспечивалась методологически обоснованным планированием и проведением экспериментальных исследований, системой адекватных взаимодополняющих и воспроизводимых методов, достаточным объемом выборки проведенного экспериментального исследования (640 лабораторных животных), а также применением адекватных статистических методов анализа полученных данных.

Основные результаты диссертационного исследования докладывались и обсуждались на: IV международной научной конференции «Психофизиологические и висцеральные функции в норме и патологии» (Киев, 2008), международной научно-практической конференции «Физиологические механизмы адаптации человека» (Тюмень, 2010), XVIII съезде Украинского физиологического общества с международным участием (Одесса, 2010), III съезде физиологов СНГ (Ялта, 2011), VII международном симпозиуме «Актуальные проблемы биофизической медицины» (Киев, 2012), VI конгрессе патофизиологов Украины с международным участием «От экспериментальных исследований до клинической патофизиологии» (Симферополь-Ялта, 2012), I международной научно-практической конференции «Медицина: актуальные вопросы и тенденции развития» (Краснодар, 2013), XIX съезде Украинского физиологического общества им. П.Г. Костюка с международным участием (Киев, 2014), VI международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2014), XII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье человека в XXI веке» (Казань, 2020), III Всероссийской научно-практической конференции «Физиология человека» (Чебоксары, 2020).

Личный вклад автора. Личное участие автора заключалось в самостоятельном анализе научной литературы и соответственно определении направления научного исследования, постановке цели и задач работы, разработке методологических подходов и непосредственном проведении экспериментов, а также статистической обработке результатов и систематизации полученных данных, написании всех разделов диссертации, обосновании научных выводов и практических рекомендаций. В экспериментах на крысах разработан новый подход к патогенетической коррекции стероидной миопатии, заключающийся в сочетанном введении в комплексе с ГК относительно безвредных для животного организма средств – аргинина или таурина или α -липоевой кислоты в дозах, эквивалентных умеренным терапевтическим для человека (1 г/сутки для таурина, 600 мг/сутки для α -липоевой кислоты и 1,5 г/сутки для аргинина).

В научных статьях, написанных в соавторстве с научным консультантом, диссертантом самостоятельно выполнены библиографический поиск, экспериментальные исследования, статистическая обработка, анализ полученных результатов и сформулированы выводы.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 63 работы, в том числе 32 статьи в журналах, соответствующих критериям и перечню рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для публикации материалов диссертаций (из них 10 – в журналах, входящих в перечень международных реферативных баз данных и систем цитирования) и 31 публикация – в других журналах и сборниках научных работ, подана заявка на 1 патент на изобретение в Российской Федерации (патент «Способ коррекции стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных», № заявки 2022125635).

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 494 страницах печатного текста и выполнена по общепринятому для научных работ плану. Она включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, 7 глав с изложением результатов собственных исследований и их обсуждением, заключение, выводы, практические рекомендации, списки условных сокращений и использованной литературы. Работа иллюстрирована 136 рисунками и содержит 129 таблиц. Библиографический указатель включает 981 источник (229 кириллицей и 752 латиницей).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **первой главе** представлен обзор отечественных и зарубежных работ, в котором отражены современные данные о молекулярных механизмах действия и системных эффектах ГК на организм и нервно-мышечную систему, предполагаемых механизмах формирования стероидной миопатии и экспериментальных подходах к ее компенсации.

Во **второй главе** описаны организация исследований, методические подходы к оценке функционального состояния периферического звена нервно-мышечного аппарата и

методы исследования, экспериментальная установка, приведено обоснование доз и способов введения препаратов лабораторным животным, моделирование гиперкортицизма и характер изменения массы тела и ГК-чувствительных органов в динамике его развития в случае изолированного введения дексаметазона и комплексного его применения с компенсирующими факторами.

Все эксперименты выполнены в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» на 640 половозрелых молодых беспородных крысах-самках (виварий Республиканского лабораторного центра СЭС, г. Донецк) с исходной массой тела 195-205 г.

Оценку состояния нервно-мышечного аппарата проводили на основании изучения электрофизиологических, сократительных и эргометрических параметров *m. tibialis anterior*, относящейся, как и большинство мышц млекопитающих к смешанному типу, но с преобладанием быстрых гликолитических волокон (Gauthier, 1986), характеризующихся более высокой, в сравнении с медленными окислительными волокнами, чувствительностью к катаболическому действию ГК (Schakman et al., 2008).

Дизайн эксперимента. Для решения поставленных задач эксперименты были проведены в восемь этапов, цель и организация каждого из которых представлены на рис. 1-3. При этом физическую нагрузку у животных на восьмом этапе эксперимента моделировали путем плавания в цилиндрической емкости с гладкой поверхностью (диаметр емкости 100 см, глубина 150 см) при температуре воды $37 \pm 1^\circ\text{C}$ без дополнительного отягощения с произвольной скоростью. Плавание начинали с первого дня введения препаратов с 5 минут в день, ежедневно увеличивая его продолжительность на 5 минут до доведения физической нагрузки до 1-часового периода (к 12 дню). Постепенное увеличение продолжительности плавания и применение физической нагрузки с интервалом в 24 часа было обусловлено тем, что подобные нагрузки рассматриваются как наиболее безопасные в отношении развития оксидативного стресса и связанной с ним нестабильности ДНК (Danese et al., 2017). Физическая нагрузка выполнялась животными с произвольной скоростью и не представляла для них большой координационной сложности, а поскольку она не сопровождалась дополнительным отягощением, то являлась моделью аэробной нагрузки небольшой интенсивности (Voltarelli et al., 2008).

На различных этапах эксперимента применяли следующие лекарственные препараты: дексаметазон (водный раствор дексаметазона натрия фосфата, «KRKA», Словения), гидрокортизон (гидрокортизона ацетат, суспензия для инъекций, «Фармак», Украина), альфакальцидол («Альфа D3-Тева», «Catalent Germany Eberbach GmbH», Германия), таурин (водный раствор для инъекций, «Таурин-АКОС», «Синтез ОАО», Россия), α -липоевую кислоту («Берлитион 600», BERLIN-CHEMIE, Германия), формотерол (водный раствор формотерола fumarата дигидрата, «Форадил», «Novartis», Швейцария) и аргинин (водный раствор, «Кардиоаргинин», «Здоровье», Украина).

Обоснование доз и способов введения препаратов лабораторным животным. Определение доз всех выбранных препаратов для крыс осуществляли на основании данных клинического их применения на человеке, а также опыта использования этих препаратов в доклинических исследованиях на грызунах другими специалистами. При этом, исходя из умеренных и максимальных суточных доз каждого препарата для человека, рассчитывали эквивалентную дозу для крысы, используя тактику межвидового переноса доз с применением коэффициентов, учитывающих различия в удельной площади поверхности тела, определяющей уровень основного обмена (Хабриев, 2005). В соответствии с данными критериями были определены следующие дозы используемых лекарственных препаратов для крыс:

- дозы дексаметазона и гидрокортизона, эквивалентные максимальным суточным терапевтическим для человека, которые использовали для однократного введения животным за 1 час и 24 часа до острого опыта, составили 2 мг/кг и 50 мг/кг соответственно;

- дозы дексаметазона и гидрокортизона, эквивалентные умеренным терапевтическим для человека, которые использовали для длительного (на протяжении 1-2 месяцев) введения лабораторным животным, составили 0,25 мг/кг и 3 мг/кг соответственно;

1. Оценка срочных и долговременных эффектов естественного ГК гидрокортизона и синтетического ГК дексаметазона на функциональное состояние периферического звена нервно-мышечного аппарата крыс

Эксперименты проведены на крысах-самках (n=140), масса тела – 200-205 г, возраст – 18 недель

в 3 этапа

I этап – Изучение эффектов **однократных доз** естественного ГК – *гидрокортизона (Г)* – и синтетического аналога – *дексаметазона (ДМ)* – на периферическое звено нервно-мышечной системы

Эксперименты выполнены на **5 группах** животных (n=10 в каждой):

- **контроль** (интактная группа);
- **ДМ-группа, 1h** (получали дексаметазон, 2 мг/кг, в/б, за **1 час** до острого опыта);
- **ДМ-группа, 24h** (получали дексаметазон, 2 мг/кг, в/б, за **24 часа** до острого опыта);
- **Г-группа, 1h** (получали гидрокортизон, 50 мг/кг, в/б, за **1 час** до острого опыта);
- **Г-группа, 24h** (получали гидрокортизон, 50 мг/кг, в/б, за **24 часа** до острого опыта)

в условиях *острого опыта* на *наркотизированных животных* определяли

- **хронаксию** мышцы в условиях непрямой ее электрической стимуляции, на основании чего судили о **возбудимости** нервно-мышечного аппарата;
- **параметры М-ответа** мышцы при раздражении малоберцового нерва с низкой частотой (0,2 имп/с);
- **степень облегчения и депрессии синаптической передачи** при *оптимальной частоте стимуляции* малоберцового нерва (30 имп/с);
- **энергетические параметры** мышцы на основании эрго- и термограммы 6-секундного тетанического сокращения мышцы с внешней нагрузкой 80 г;
- **параметры тетанического сокращения** при выполнении мышцей утомляющей работы (в режиме высокочастотного тетануса – 70 имп/с) с внешней нагрузкой 80 г

II этап – Изучение эффектов **длительно вводимого гидрокортизона (Г)** на функциональное состояние периферического звена нервно-мышечной системы

Эксперименты выполнены на **2 группах** животных (n=10 в каждой):

- **контроль** (интактная группа);
- **30Г-группа** (получали гидрокортизон, 3 мг/кг, в/б, на протяжении **30 дней**)

в условиях *острого опыта* на *наркотизированных животных* определяли

- **хронаксию** мышцы в условиях непрямой ее электрической стимуляции, на основании чего судили о **возбудимости** нервно-мышечного аппарата;
- **параметры М-ответа** мышцы при раздражении малоберцового нерва с низкой частотой (0,2 имп/с);
- **устойчивость генерации М-ответов** мышцей при *низкочастотной стимуляции малоберцового нерва* (4 имп/с), на основании чего судили о **надежности нервно-мышечной передачи**;
- **амплитудно-частотную зависимость М-ответа** при непрямой стимуляции мышцы в течение 6 с серией импульсов с плавно нарастающей частотой от 4 до 72 имп/с;
- **параметры одиночного сокращения** мышцы (с внешней нагрузкой 20 г),
- **энергетические показатели** (при выполнении 6-секундных тетанусов с внешней нагрузкой 80 г);
- **параметры тетанического сокращения** при выполнении мышцей утомляющей работы (в режиме высокочастотного тетануса – 70 имп/с) с внешней нагрузкой 70 г

III этап – Исследование влияния синтетического ГК – *дексаметазона (ДМ)* – на энергетические параметры *m. tibialis anterior* в **динамике 2-месячного периода** введения в организм

Эксперименты выполнены на **7 группах** животных (n=10 в каждой):

- **контроль** (интактная группа);
- **ДМ-группы** (получали дексаметазон, 0,25 мг/кг, в/б, 1 раз в 2 суток, на протяжении **от 10 до 60 дней**)

в зависимости от количества дней введения ДМ были разделены

на **6 групп** (n=10 в каждой):

в условиях *острого опыта* на *наркотизированных животных* определяли

- **энергетические параметры** мышцы *до, в динамике и после выполнения утомляющей работы*, которую моделировали путем 3-кратных 6-секундных гладких тетанусов (60 имп/с) с нагрузкой 80 г

Рисунок 1 – Дизайн эксперимента: этапы I-III

2. Исследование характера функциональных изменений в периферическом звене нервно-мышечного аппарата крыс в динамике развития дексаметазонового гиперкортицизма (этап IV)

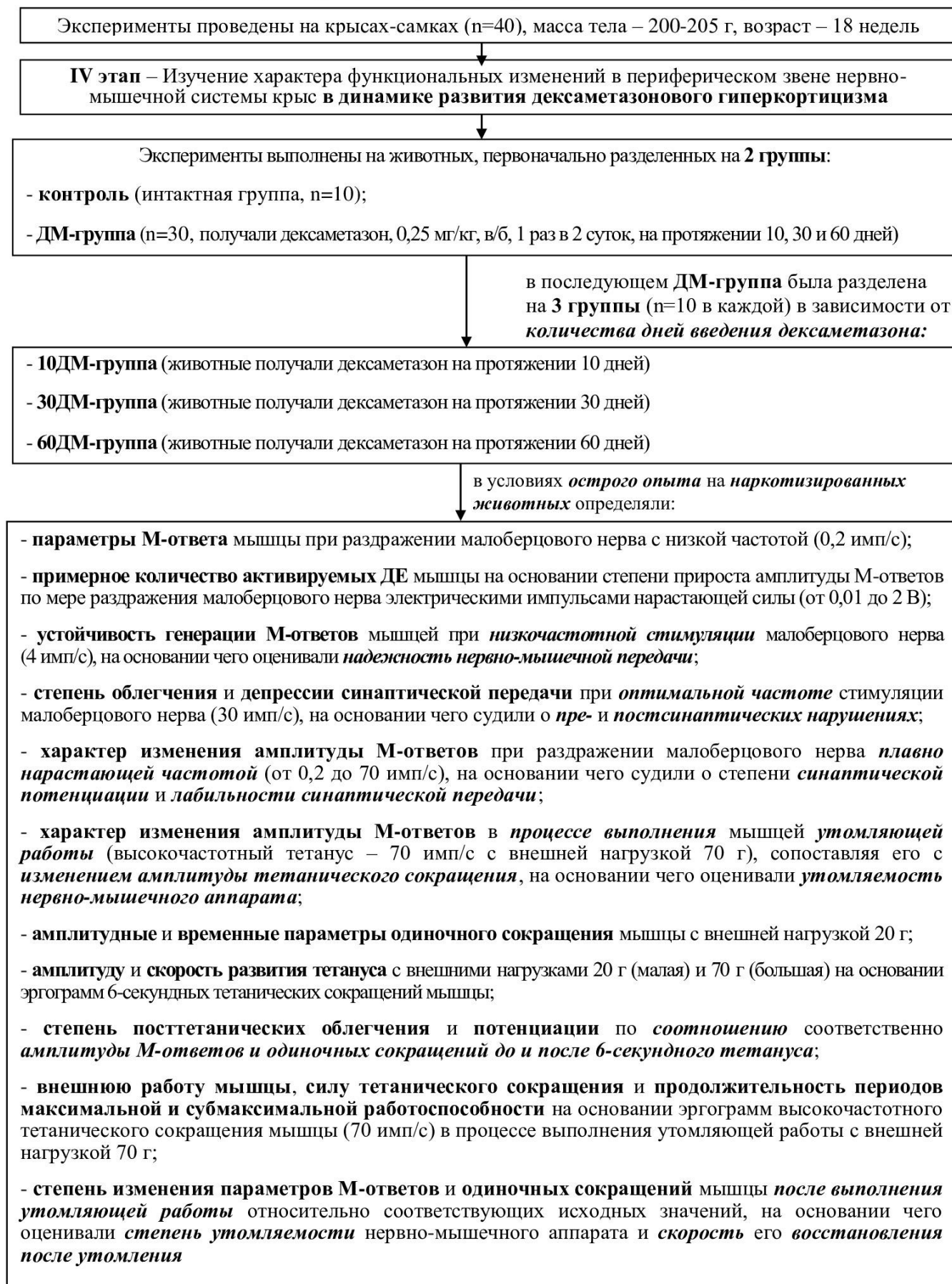


Рисунок 2 – Дизайн эксперимента: этап IV (исследование функционального состояния периферического звена нервно-мышечного аппарата в динамике развития гиперкортицизма)

3. Оценка эффективности различных средств в компенсации повреждающих эффектов ГК на нервно-мышечный аппарат крыс в динамике развития дексаметазонового гиперкортицизма (этапы V – VIII)



Рисунок 3 – Дизайн эксперимента: этапы V – VIII

гидрокортизон вводили ежедневно, а дексаметазон в связи с гораздо большей продолжительностью его биологической «полужизни» – 1 раз в 2-е суток;

- дозы альфакальцидола, таурина, α -липоевой кислоты, формотерола и аргинина, эквивалентные умеренным терапевтическим для человека, составили для крыс соответственно 0,06 мкг/кг/сутки, 60 мг/кг/сутки, 35 мг/кг/сутки, 1,5 мкг/кг/сутки и 100 мг/кг/сутки.

При этом для индукции системных эффектов были выбраны парентеральные формы ГК в связи с более высокой их биодоступностью для организма, в сравнении с пероральными формами, высокой точностью дозирования и нивелированием индивидуальных особенностей всасывания в желудочно-кишечном тракте (Katzung, 2018).

Альфакальцидол животным АЛФ- и ДМ+АЛФ-групп вводили ежедневно, в растворе рафинированного подсолнечного масла, перорально, поскольку использование парентеральных форм не оправдало себя из-за низкой биодоступности (Kulie et al., 2009). Таурин, α -липоевую кислоту, формотерол и аргинин животным соответствующих опытных групп вводили ежедневно подкожно в связи с более высокой биодоступностью парентеральных форм этих препаратов, в сравнении с пероральными (Katzung, 2018).

Методы исследования. В ходе острого опыта на наркотизированных животных (тиопентал натрия, 100 мг/кг) с помощью метода стимуляционной электромиографии, эргографии и миотермии изучали ряд электрофизиологических, эргометрических и сократительных параметров *m. tibialis anterior*. Для этого в области бедра препаровали малоберцовый нерв и на расстоянии 1 см проксимальнее коленного сустава подводили под него раздражающие электроды, стопу задней лапки животного крепили зажимом, после чего на уровне большого пальца затягивали лигатуру, соединенную с потенциометрическим датчиком (датчик перемещения). Затем в среднюю часть *m. tibialis anterior* вводили отводящие биполярные игольчатые стальные электроды с межэлектродным расстоянием 1 мм. В опытах, предполагавших регистрацию термограммы мышцы, среднюю ее часть прошивали медь-константановой термопарой, выполненной из тонкой проволоки диаметром 50 мкм.

Для регистрации исследуемых показателей мышечного сокращения использовалась экспериментальная установка, состоящая из 4-х каналов: канала электростимулятора, электромиографического, эргометрического и термометрического.

Канал электростимулятора представлен собственно электростимулятором, построенным на основе функционального генератора ICL8038CCDP, оптронной гальванической развязкой (ГП), перестраиваемым генератором стабильного тока (ПГСТ) и биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным расстоянием 1 мм, которые подводились в области бедра под малоберцовый нерв. Данный канал служил для нанесения на нерв электрических стимулов определенной силы, частоты, длительности импульсов и продолжительности раздражения, что обеспечивалось соответствующим переключением режимов генерации и подключением дополнительных схем генерации плавно нарастающей частоты импульсов или их амплитуды.

Электромиографический канал представлен отводящими биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным расстоянием 1 мм, электромиографическим биоусилителем (на основе измерительного усилителя INA118, $k_{\text{усил.}} = 200$), гиратором-режектором (ослабление помехи частотой 50 Гц) и гальванической развязкой (ГР) собственно электростимулятора от биоэлектрического сигнала. Этот канал предназначался для регистрации вызванных электрических ответов мышцы при раздражении электрическими стимулами малоберцового нерва – М-ответов.

Эргометрический канал включал датчик перемещения (потенциометрический датчик ПТП-1), включенный в измерительный мост Уинстона, и усилитель тока ($k_{\text{усил.}} = 10$). Описанный канал после соответствующей процедуры калибровки служил для измерения высоты, на которую поднимается груз во время сокращения мышцы с грузом, с возможностью последующего вычисления объема внешней работы, выполненной мышцей (мДж), и других миографических параметров.

Термометрический канал представлен медь-константановой термопарой (50 мкм), предварительным усилителем, гальванической развязкой и фотокомпенсационным

усилителем Ф-116, разрешающая его способность устанавливалась на уровне $0,01^{\circ}\text{C}$. Данный канал позволял определять прирост температуры мышцы (ΔT , $^{\circ}\text{C}$) после сокращения.

Все каналы были связаны с регистрирующими устройствами – запоминающими цифровыми осциллографами Siglent (SDS1062CM) и Tektronix (TDS2004C). Записи электромиограмм, миограмм, эргограмм и термограмм были представлены как в TIFF-BMP-JPEG-форматах, так и в виде CSV-файлов с последующим анализом средствами пакета Excel-2010.

В процессе острого опыта на разных этапах эксперимента проводили регистрацию определенных электрофизиологических, сократительных и эргометрических параметров сокращения *m. tibialis anterior* при разных режимах ее непрямо́й электрической стимуляции с применением следующих методических подходов.

Определение хронаксии мышцы. Раздражая малоберцовый нерв прямоугольными одиночными электрическими импульсами (длительность 150 мкс), определяли пороговое напряжение тока (реобазу), достаточное для генерации *m. tibialis anterior* минимально значимой величины М-ответа, о котором судили по отклонению кривой М-ответа от изолинии на величину разрешения канала усиления цифрового осциллографа. Затем определяли хронаксию мышцы путем раздражения малоберцового нерва прямоугольными электрическими стимулами напряжением в 2 реобазы, постепенно увеличивая их длительность от нуля до пороговой.

Регистрация одиночных М-ответов мышцы. М-ответ – регистрируемый внеклеточно с помощью биполярных электродов электрический сигнал мышцы, обусловленный суммацией внеклеточных токов, возникающих в группе мышечных волокон при их возбуждении в ответ на поступающий по двигательным нервным волокнам нервный импульс – индуцировали путем раздражения малоберцового нерва одиночными сверхпороговыми электрическими импульсами длительностью 150 мкс каждый с частотой 0,2 имп/с и силой тока 500 мкА (образцы записей М-ответа представлены на рис. 4). На основании записей одиночных М-ответов мышцы определяли:

- латентный период (мс) – интервал времени между прохождением импульса раздражающего тока и началом отклонения луча осциллографа от изолинии,
- амплитуду волн (мВ) – расстояние между самой низкой точкой пика негативной фазы и самой высокой точкой пика позитивной фазы,
- длительность (мс) – интервал времени между началом отклонения луча осциллографа от изолинии и окончательным возвращением к ней,
- а также оценивали форму М-ответов: двух-, трехфазные, поли- (количество фаз 5 и более) и псевдополифазные (в позитивных или негативных фазах имеются дополнительные колебания потенциала, не достигающие изолинии и не пересекающие ее).

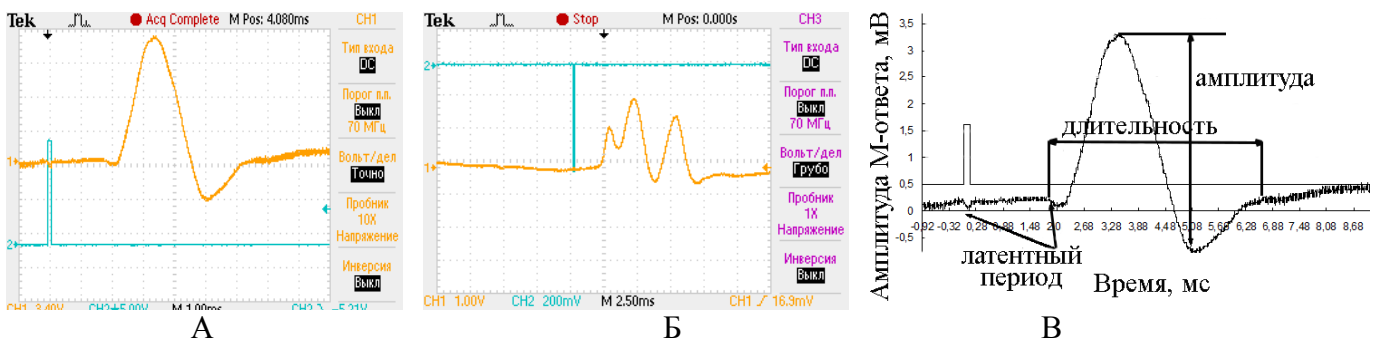


Рисунок 4 – Образец записи М-ответа *m. tibialis anterior* крысы контрольной (А) и 30ДМ-группы (Б)
 Примечания – по каналу CH1 показан М-ответ мышцы, по каналу CH2 – момент прохождения импульса раздражающего тока; на В приведен пример определения параметров М-ответа в программе Excel; кривая построена на основании 2500 точек оцифрованного сигнала с квантованием 4 мкс, импортированного в программу Excel

Определение количества активируемых ДЕ мышцы. Малоберцовый нерв раздражали в течение 4 с электрическими импульсами постепенно увеличивающегося напряжения (от 0,01 до 2 В) с частотой 10 имп/с. На основании записей М-ответов рассчитывали процентное изменение амплитуды максимального М-ответа относительно

амплитуды минимального, по которому судили о приблизительном количестве активируемых ДЕ мышцы (методика Galea V. (Galea et al., 1991)).

Оценка надежности нервно-мышечной передачи. Для оценки надежности нервно-мышечной передачи использовали методику Гехта Б.М. (Гехт, 1990), предполагающую раздражение нервно-мышечного аппарата с низкой частотой (4 имп/с) и последующее определение декремента амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го. При этом малоберцовый нерв раздражали сверхпороговыми электрическими импульсами длительностью 150 мкс каждый и силой тока 500 мкА. Согласно Гехту Б.М. (Гехт, 1990), декремент амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го, превышающий 10 % при таком режиме стимуляции, указывает на сниженную надежность нервно-мышечной передачи.

Оценка степени облегчения и депрессии синаптической передачи. Для оценки степени облегчения и депрессии синаптической передачи в течение 5 с регистрировали серию М-ответов мышцы при оптимальной частоте раздражения малоберцового нерва – 30 имп/с. При этом длительность и сила электрических импульсов были такими же, как и при оценке надежности синаптической передачи – 150 мкс и 500 мкА соответственно. На основании записи серии М-ответов мышцы определяли изменение их амплитуды относительно 1-го. При этом увеличение амплитуды М-ответов более чем на 30 % относительно амплитуды 1-го при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с) указывает в пользу выраженного облегчения синаптической передачи, тогда как ее уменьшение более чем на 25 % – в пользу патологически значимой ее депрессии (MacIntosh et al., 2006; Гехт, 1990).

Регистрация одиночных сокращений мышцы. Для индукции одиночных сокращений мышцы на малоберцовый нерв наносили сверхпороговые электрические стимулы с частотой 4 имп/с (длительность 150 мкс каждый и сила тока 500 мкА). При сокращениях мышца поднимала груз массой 20 г. На основании полученных записей определяли параметры одиночного сокращения мышцы: амплитуду, латентный период, скорость укорочения и расслабления.

Регистрация 6-секундных тетанических сокращений мышцы, оценка лабильности синапсов, степени посттетанических потенциации и облегчения, а также амплитудных и временных параметров тетанического сокращения. С целью оценки некоторых параметров синаптической передачи и тетанического сокращения мышцы на малоберцовый нерв в течение 6 с наносили серию импульсов с плавно нарастающей частотой от 4 до 70 имп/с (длительность импульса составляла 100 мкс, сила тока 1000 мкА). М-ответы и сокращения мышцы при этом записывались дважды: с внешней нагрузкой 20 г и 70 г.

На основании полученных записей определяли максимально достижимую амплитуду тетануса и скорость его развития, а также время полурасслабления мышцы после тетануса. Кроме того, оценивали амплитуды 1-го М-ответа в серии и М-ответа при частоте 70 имп/с (высокая частота), по процентному соотношению между которыми судили о лабильности синаптической передачи. Наконец, по амплитуде М-ответов и одиночных сокращений мышцы до и после развития 6-секундного тетануса оценивали соответственно *степень посттетанических облегчения и потенциации*.

Определение температурного эффекта мышечного сокращения и температурной стоимости мышечной работы (ТСМР). При исследовании срочных эффектов дексаметазона и гидрокортизона на нервно-мышечный аппарат, а также изучении эффектов длительно вводимых доз дексаметазона на энергетику мышечного сокращения одновременно с эргограммой 6-секундного тетанического сокращения мышцы (частота стимуляции – 70 имп/с, длительность импульсов – 0,5 мс, сила тока – 1000 мкА, внешняя нагрузка 80 г) регистрировалась термограмма. По эргограмме определяли внешнюю работу мышцы, а на основании термограммы – величину прироста температуры мышцы при ее сокращении (температурный эффект мышечного сокращения – ΔT^0). По отношению температурного эффекта мышечного сокращения к величине выполненной мышцей внешней работы определяли «температурную стоимость мышечной работы – ТСМР ($^0/мДж$)».

Моделирование утомляющей работы мышцы, определение ее эргометрических параметров. Для решения поставленных задач на разных этапах исследований

применялись разные режимы утомляющей работы. Так, при изучении эффектов однократно вводимых дексаметазона и гидрокортизона и субхронического введения гидрокортизона на периферическое звено нервно-мышечного аппарата, а также при определении функциональных изменений в *m. tibialis anterior* в динамике развития дексаметазонового гиперкортицизма и эффективности различных средств в их компенсации утомляющую работу моделировали путем сокращения мышцы в режиме высокочастотного тетануса (70 имп/с, длительность импульсов 0,5 мс и сила тока 1000 мкА) с большой внешней нагрузкой (70-80 г) до почти полного расслабления мышцы на фоне продолжающейся стимуляции нервно-мышечного аппарата. Работа мышцы до полного утомления продолжалась на протяжении 50-80 с.

На основании полученных записей определяли максимально достижимую амплитуду тетануса и время ее достижения, а также продолжительность удержания амплитуды сокращения на максимально возможном уровне (период максимальной работоспособности) и до момента ее снижения на 50 % относительно максимальной на фоне продолжающейся электрической стимуляции малоберцового нерва (период субмаксимальной работоспособности). На основании амплитуды тетануса и величины внешней нагрузки рассчитывали внешнюю работу мышцы, а, учитывая максимальную амплитуду тетануса и время ее достижения – скорость сокращения. На основании скорости сокращения мышцы и величины внешней нагрузки определяли абсолютную силу сокращения.

При исследовании долговременных эффектов дексаметазона на энергетику мышечного сокращения утомляющую работу моделировали путем выполнения мышцей серий 6-секундных тетанических сокращений с внешней нагрузкой 80 г. При этом эрго- и термограммы мышцы при выполнении ею 6-секундных тетанических сокращений регистрировали 4 раза по следующему алгоритму: 1-й тетанус (период «До работы», исходные значения), 2-й тетанус (после предварительных трех 6-секундных тетанических сокращений), 3-й тетанус (после следующих трех 6-секундных сокращений) и 4-й тетанус (после последних трех 6-секундных сокращений – период «После работы»).

В среднем продолжительность острого опыта составляла до 25-30 минут, после чего в условиях глубокого наркоза проводили эвтаназию животных (тиопентал натрия, 300 мг/кг, внутривенно) и в брюшном положении измеряли окружность живота в самой большой зоне брюшной полости с использованием пластиковой нерастягивающейся измерительной ленты (Rollfix, Hoeschstmass®, Германия) с точностью 0,1 см, после чего препарировали и взвешивали на аналитических весах *m. tibialis anterior* и некоторые внутренние органы (сердце, печень, почки, надпочечники, щитовидную железу).

Статистическая обработка экспериментальных данных. Полученные экспериментальные данные обрабатывали с помощью стандартных методов вариационной статистики, представленных в пакетах анализа Excel-2010 и SPSS Statistics 7.0 и 17.0. Численное значение исследуемых параметров выражали в виде «среднее ± стандартная ошибка». Статистическую значимость различий между двумя средними арифметическими величинами определяли с помощью двухвыборочного t-теста Стьюдента для выборок с различными дисперсиями при заданном уровне значимости $p < 0,05$, предварительно убедившись в том, что распределение значений в исследуемых вариационных рядах близко к нормальному (W-тест Шапиро-Уилка, Statistica 7.0). При оценке различий между двумя множествами применяли также двухвыборочный F-тест для дисперсий, а для выявления статистически значимых различий между сравниваемыми группами в степени процентного изменения амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии при разных частотах стимуляции нервно-мышечного аппарата или параметров М-ответа или одиночного сокращения после утомляющей работы относительно исходных значений использовали U-критерий Манна-Уитни.

При исследовании амплитудно-частотной зависимости М-ответа использовали метод сравнительного анализа динамики амплитуды всех М-ответов (280 измерений в каждом опыте), при котором за 100 % принималась амплитуда 1-го М-ответа. При этом характер зависимости между амплитудой М-ответа и частотой стимуляции нерва определялся на основании анализа результатов итоговой статистики, а также уравнений регрессии, регрессионных коэффициентов и коэффициента корреляции Пирсона. Для

вычленения отдельных независимых множеств в целостных вариационных рядах использовался двухвыборочный F-тест для дисперсий и регрессионный анализ. Кроме того, регрессионный анализ применяли на третьем этапе исследований, при оценке характера зависимости между продолжительностью периодов введения дексаметазона и величиной показателей энергетики мышечного сокращения.

Для оценки эффективности компенсирующих средств в ослаблении степени функциональных нарушений в периферическом звене нервно-мышечного аппарата, вызванных введением дексаметазона, для некоторых параметров определяли коэффициент эффективности (КЭ) по формуле: $KЭ = (DM+X - DM)/DM$, где DM – значения показателей, зарегистрированных у животных, получавших дексаметазон изолированно, а DM+X – значения показателей, зарегистрированных у крыс при введении дексаметазона в комбинации с определенным компенсирующим фактором.

Третья глава содержит результаты собственных исследований и их обсуждение и включает 7 подразделов.

Срочные эффекты ГК на периферическое звено нервно-мышечного аппарата.

Эффекты однократно вводимых гидрокортизона (50 мг/кг) и дексаметазона (2 мг/кг) на *m. tibialis anterior*, наряду с некоторым сходством, характеризовались и определенными отличиями. Так, естественный и синтетический ГК вызывали однонаправленные изменения электрофизиологических параметров мышцы ($p < 0,05$ относительно контроля): укорочение хронаксии (на 20-21 %) спустя 1 час после введения и латентного периода М-ответа, которое отмечалось уже спустя 1 час после введения препаратов (на 25-33 %) с сохранностью спустя сутки (на 14-20 %) после их введения. Эти изменения свидетельствуют в пользу повышения возбудимости нервно-мышечного аппарата и улучшения степени синхронизации возбуждения мышечных волокон под влиянием ГК. Кроме того, как спустя 1 час, так и спустя 1 сутки после введения гидрокортизона и дексаметазона наблюдалось увеличение ($p < 0,05$ относительно контроля) скорости тетанического сокращения (на 25-63 %), и у большей части животных (70-80 % особей через 1 час после введения ГК и 50 % особей через сутки после введения препаратов) отмечалось выраженное облегчение синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с). Все эти срочные эффекты ГК должны способствовать улучшению функциональных параметров скелетной мышцы.

Вместе с тем, увеличение ($p < 0,05$ относительно контроля) внешней работы (на 51 %) и мощности тетанического сокращения (на 59 %) мышцы наблюдалось только под влиянием гидрокортизона и только спустя 1 час после его введения, тогда как дексаметазон не оказывал положительный эрготропный эффект.

В то же время, и гидрокортизон, и дексаметазон через 1 час после введения обуславливали увеличение ($p < 0,05$ относительно контроля) температурного эффекта мышечного сокращения (на 68-95 %) и соответственно ТСМР (на 36-51 %), отражающее снижение КПД мышцы. При этом спустя сутки после введения гидрокортизона ТСМР нормализовалась, тогда как в ДМ-группе оставалась увеличенной (на 29 %, $p < 0,05$ относительно контроля).

И дексаметазон, и гидрокортизон предопределили первоначальное укорочение ($p < 0,05$ относительно контроля) периода максимальной работоспособности мышцы (на 24-43 %), которое в Г-группе было выражено в меньшей степени, чем в ДМ-группе ($p < 0,05$), и сочеталось с увеличением внешней работы мышцы (на 51 %, $p < 0,05$ относительно контроля), т.е. могло быть обусловлено положительным эрготропным действием гидрокортизона. При этом субмаксимальная работоспособность мышцы через 1 час после введения гидрокортизона существенно не изменялась, тогда как в ДМ-группе возрастала (на 38 %, $p < 0,05$ относительно контроля). Вместе с тем, спустя сутки после введения ГК эффекты дексаметазона и гидрокортизона на устойчивость мышцы к утомлению существенно отличались: если в Г-группе период максимальной работоспособности нормализовался, а субмаксимальной – даже удлинялся (на 45 %, $p < 0,05$ относительно контроля), то в ДМ-группе наблюдалось укорочение обоих этих периодов (на 31-40 %, $p < 0,05$ относительно контроля).

$p < 0,05$ относительно контроля), которое на фоне относительно нормальной внешней работы мышцы, но при этом повышенной ТСМР (на 29 %, $p < 0,05$ относительно контроля), свидетельствует в пользу нарушения энергообеспечения в мышечных волокнах.

Таким образом, несмотря на некоторое сходство срочных эффектов гидрокортизона и дексаметазона на возбудимость нервно-мышечного аппарата и скорость тетанического сокращения мышцы, они характеризовались и принципиальными отличиями. В частности, значимый положительный эрготропный эффект отмечался только под влиянием гидрокортизона и только через 1 час после его введения, что было сопряжено с первоначальным укорочением периода максимальной работоспособности мышцы, но при этом спустя сутки после однократной дозы гидрокортизона на фоне нормализации эргометрических параметров и ТСМР наблюдалось повышение устойчивости мышцы к утомлению. В отличие от эффекта гидрокортизона, дексаметазон не оказывал первоначального позитивного эрготропного действия, но обуславливал повышение ТСМР, которое сохранялось и через сутки после его введения на фоне укорочения периодов максимальной и субмаксимальной работоспособности мышцы, что указывает в пользу ухудшения энергообеспечения мышечных волокон.

Долговременные эффекты гидрокортизона и дексаметазона на функциональное состояние *m. tibialis anterior*. В отличие от однократных, длительно вводимые более низкие дозы гидрокортизона (3 мг/кг) и дексаметазона (0,25 мг/кг) оказывали негативное влияние на нервно-мышечный аппарат. В частности, под действием гидрокортизона наблюдались снижение возбудимости периферического звена нервно-мышечного аппарата, в пользу которого свидетельствует удлинение хронаксии (на 69 %, $p < 0,05$ относительно контроля), признаки сниженной надежности синаптической передачи, исходной заблокированности синапсов и сниженной их лабильности. Кроме того, для мышцы животных, получивших 30 инъекций гидрокортизона, было характерно ($p < 0,05$ относительно контроля) ухудшение параметров М-ответа – удлинение его латентного периода (на 30 %) и уменьшение амплитуды (на 29 %), которые на фоне уменьшения массы мышцы (на 14 %) и количества активируемых ДЕ (на 42 %), косвенно указывают в пользу не только возможного ухудшения синхронизации возбуждения в мышце, но и дистрофических изменений мышечных волокон (Гехт, 1990). Субхроническое введение гидрокортизона (3 мг/кг/сутки), в отличие от однократной более высокой дозы (50 мг/кг), не оказывало эрготропного действия и, напротив, приводило к ухудшению ($p < 0,05$ относительно контроля) амплитудных и временных параметров одиночного и тетанических сокращений мышцы: уменьшению амплитуды одиночного сокращения (на 32 %), замедлению его фаз (на 19-29 %), снижению внешней работы мышцы при тетаническом сокращении (на 41 %) и ее силы (на 42 %). При этом ТСМР существенно возрастала (на 60 %, $p < 0,05$ относительно контроля), что указывает в пользу ухудшения энергетического обеспечения сократительного акта и активации механизмов диссипации энергии в мышечных волокнах.

Вместе с тем, продолжительность периодов максимальной и субмаксимальной работоспособности мышцы при выполнении высокочастотной утомляющей работы после длительного введения гидрокортизона значимо удлинялась относительно контроля (на 41 % и 48 % соответственно, $p < 0,05$). В то же время, поскольку такое удлинение периодов работоспособности мышцы у животных 30Г-группы имело место на фоне уменьшения ее массы и количества активируемых ДЕ, а также ухудшения амплитудных и временных параметров одиночного сокращения, силы мышцы и величины внешней работы, но при этом увеличения ТСМР, наиболее вероятной его причиной являлось не улучшение энергообеспечения мышечных волокон, как спустя сутки после однократной дозы гидрокортизона, а увеличение удельной доли медленных окислительных мышечных волокон, задействованных в сокращении, в связи с частичной дистрофией быстрых гликолитических мышечных волокон.

Длительно вводимый дексаметазон (0,25 мг/кг, 1 раз в 2 суток, на протяжении 10-60 дней), подобно гидрокортизону, обуславливал ухудшение параметров энергетики мышечного сокращения ($p < 0,05$ относительно контроля): уменьшение объема внешней

работы мышцы (на 45-41 % спустя 20-50 дней введения) и повышение энергетической ее стоимости (на 26-82 % спустя 10-40 дней применения). В то же время к окончанию 2-месячного периода применения дексаметазона наблюдалась нормализация внешней работы мышцы и температурной ее стоимости, что указывает в пользу возможного развития адаптации нервно-мышечного аппарата к длительному введению ГК в фиксированной дозе. Между тем, на протяжении всего 2-месячного периода введения дексаметазона сохранялись более выраженные, в сравнении с контролем ($p < 0,05$), снижение объема внешней работы мышцы (на 70-79 % против снижения в 56 % у контроля) и повышение ТСМР (на 104-230 % против повышения в 28 % у контроля) в процессе выполнения утомляющих тетанусов (рис. 5), отражающие высокую патофизиологическую активность синтетического ГК в отношении работоспособности скелетной мышцы.

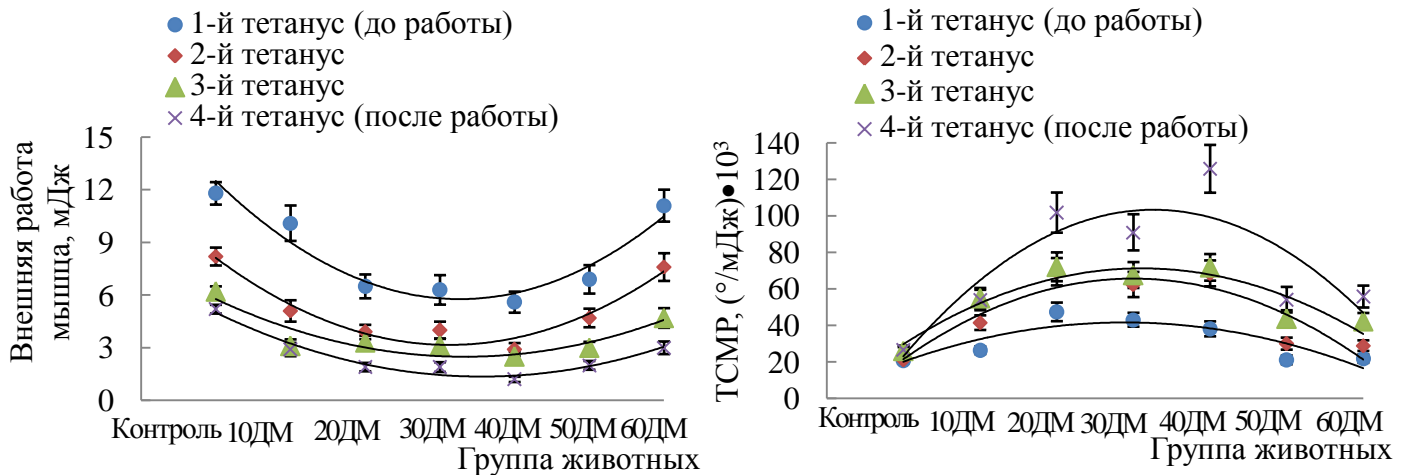


Рисунок 5 – Характер изменения некоторых энергетических параметров *m. tibialis anterior* при выполнении утомляющей работы в динамике развития дексаметазонового гиперкортицизма
Примечания: на А представлен объем выполненной внешней работы, мДж; на Б – температурная стоимость мышечной работы, ТСМР [$(^{\circ}\text{C}/\text{мДж}) \cdot 10^3$]

Таким образом, субхроническое введение как гидрокортизона, так и дексаметазона приводило к ухудшению энергетических параметров мышцы, но при этом ее способность удерживать более низкую, чем в контроле, амплитуду тетануса на максимальном и субмаксимальном уровне у животных 30Г-группы значимо возрастала, в сравнении с контролем, тогда как под влиянием дексаметазона наблюдалось существенное ухудшение работоспособности мышцы, признаки которого отмечались и спустя сутки после однократной его дозы. Данные факты указывают в пользу более выраженного негативного влияния дексаметазона, в сравнении с гидрокортизоном, на процессы энергетического обеспечения сократительного акта.

Характер функциональных изменений в *m. tibialis anterior* в динамике развития гиперкортицизма. Изменение электрофизиологических, сократительных и эргометрических параметров *m. tibialis anterior* в процессе развития гиперкортицизма носило фазный характер: наиболее выраженное их ухудшение отмечалось спустя 30 дней введения дексаметазона с последующей тенденцией к нормализации по окончании 2-месячного периода его применения.

Характер изменения массы мышцы, количества активируемых ее ДЕ и параметров М-ответа в динамике дексаметазонового гиперкортицизма. Уже спустя первые 10 дней введения дексаметазона наблюдалось уменьшение ($p < 0,05$ относительно контроля) массы мышцы (на 9 %), а после 30 дней применения – и количества активируемых ДЕ (на 43 %), которые сохранялись вплоть до окончания 2-месячного периода введения синтетического ГК.

Дексаметазоновый гиперкортицизм обуславливал определенные изменения параметров М-ответа мышцы, характер которых зависел от длительности введения препарата. Так, спустя первые 10 дней введения дексаметазона наблюдалось некоторое укорочение латентного периода М-ответа (на 12 %, $p < 0,05$ относительно контроля) на фоне нормальных его

амплитуды и длительности, что, по всей видимости, было связано с первоначальным облегчающим эффектом дексаметазона на синаптическую передачу. Спустя 30 дней введения дексаметазона наблюдалось ухудшение параметров М-ответа ($p < 0,05$ относительно контроля): удлинение латентного его периода (на 19 %) и уменьшение амплитуды (на 37 %) на фоне неизменной длительности, у 40 % особей регистрировались полифазные потенциалы сниженной амплитуды. Электрофизиологические проявления стероидной миопатии в виде увеличения частоты полифазных потенциалов, уменьшения амплитуды и длительности потенциалов действия ДЕ мышц наблюдали и другие исследователи (Гехт, 1990; Агафонов и др., 1980), рассматривающие их как проявление первичного поражения мышечной ткани, а именно, дистрофических изменений мышечных волокон.

По окончании 2-месячного периода введения дексаметазона латентный период и амплитуда М-ответов нормализовывались, тогда как их длительность существенно увеличивалась (на 52 %, $p < 0,05$ относительно контроля), и у 40 % особей регистрировались полифазные М-ответы нормальной или уменьшенной амплитуды. Данные факты на фоне уменьшенных относительно контроля ($p < 0,05$) массы мышцы (на 8 %) и количества активируемых ДЕ (на 40 %) у животных 60ДМ-группы свидетельствуют в пользу возможного увеличения площади ДЕ мышцы, в том числе вследствие расщепления мышечных волокон и компенсаторной иннервации разных участков одного и того же мышечного волокна, разделенного некротическим очагом (Гехт, 1990). В то же время, отсутствие увеличения амплитуды М-ответов на фоне их удлинения свидетельствует в пользу низкой амплитуды потенциала действия дегенеративно измененных мышечных волокон (MacIntosh et al., 2006).

Состояние синаптической передачи в динамике дексаметазонового гиперкортицизма. Для животных ДМ-групп были характерны определенные синаптические расстройства, проявляющиеся в снижении надежности синаптической передачи и повышенной утомляемости синапсов, исходной их заблокированности и сниженной лабильности (образцы записей серии М-ответов мышцы животных ДМ-группы при разных режимах стимуляции нервно-мышечного аппарата приведены на рис. 6).

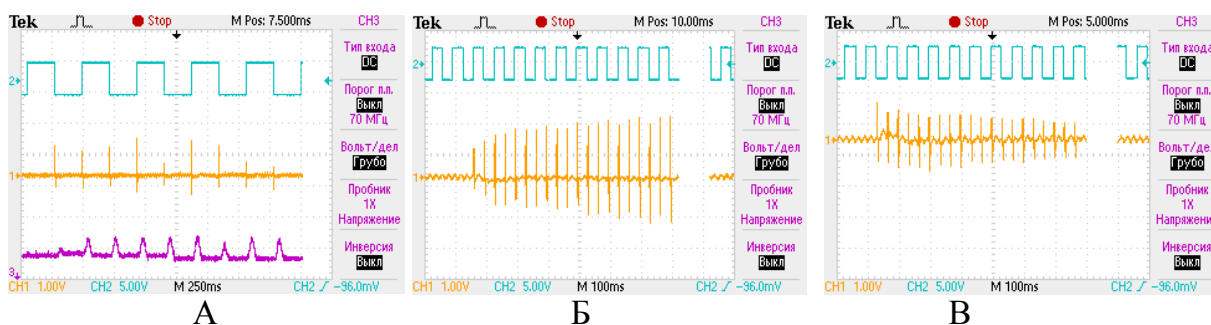


Рисунок 6 – Образцы записей серии М-ответов *m. tibialis anterior* животных 30ДМ-группы при разных режимах стимуляции нервно-мышечного аппарата

Примечания: на А представлена запись М-ответов и одиночных сокращений мышцы при частоте стимуляции малоберцового нерва 4 имп/с (прослеживается выраженный декремент амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го), на Б и В представлены записи серии М-ответов мышцы при частоте стимуляции малоберцового нерва 30 имп/с, отражающие выраженное облегчение (Б) и депрессию (В) синаптической передачи. По каналу 1 (CH1) показана серия М-ответов мышцы, а по каналу 2 (CH2) – момент прохождения импульсов раздражающего тока, по каналу 3 (CH3) на рис. А – одиночные сокращения мышцы

Так, у части животных ДМ-групп наблюдался патологически значимый декремент амплитуды М-ответов при низкочастотной стимуляции малоберцового нерва (4 имп/с), свидетельствующий в пользу снижения надежности синаптической передачи. Наиболее высокая частота регистрации этого декремента была характерна для животных 30ДМ-группы (70 %), тогда как к окончанию 2-месячного периода введения дексаметазона она снижалась (до 40 %). Кроме того, у всех ДМ-групп отмечалось не типичное для контроля удлинение латентного периода М-ответа мышцы после выполнения утомляющей работы (на 33-38 %

относительно исходного значения, $p < 0,05$), свидетельствующее в пользу большей утомляемости синапсов и, возможно, сниженной надежности синаптической передачи.

У части животных ДМ-групп наблюдалось патологически значимое облегчение синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с), наибольшая частота которого (регистрировалось у 50 % особей до и 70 % особей после утомляющей работы) на фоне сниженной амплитуды 1-го М-ответа в серии (на 36 %, $p < 0,05$ относительно контроля) была характерна для 30ДМ-группы. Кроме того, для 30ДМ- и 60ДМ-групп было типично увеличение степени посттетанического облегчения мышцы (в 7,7-5,3 раза, $p < 0,05$ относительно контроля) на фоне сниженной относительно контроля (на 39-65 %, $p < 0,05$) амплитуды исходного М-ответа (до тетануса). Данный факт вместе с патологически значимым облегчением синаптической передачи при оптимальной частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с), типичным для части животных 30ДМ- и 60ДМ-групп, свидетельствует в пользу частичной исходной заблокированности синапсов, отражающей наличие пресинаптических расстройств (MacIntosh et al., 2006).

Вместе с тем, спустя первые 10 дней введения дексаметазона выраженное облегчение синаптической передачи при оптимальной частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата (встречалось у 30 % особей) имело место на фоне нормальных амплитуды 1-го М-ответа в серии и степени посттетанического облегчения, а также значимого относительно контроля ($p < 0,05$) укорочения латентного периода М-ответов (на 12 %). Данные факты указывают в пользу того, что возможной причиной такого облегчения могло служить первоначальное облегчающее действие дексаметазона на экзоцитоз медиатора. Признаки облегчения синаптической передачи на начальных этапах развития гиперкортицизма или под влиянием сравнительно невысоких доз ГК (5-10 мг/кг гидрокортизона) в исследованиях *in vivo* и *in vitro* наблюдали и другие специалисты (Ziganshin et al., 2009; Giniatullin et al., 2000; Bouzat et al., 1997).

Длительное введение дексаметазона обуславливало развитие постсинаптических расстройств в нервно-мышечном аппарате. Так, у части особей ДМ-групп отмечалась патологически значимая депрессия синаптической передачи при оптимальной частоте стимуляции малоберцового нерва (30 имп/с), которая встречалась в целом реже патологически значимого облегчения и с одинаковой частотой спустя 30 и 60 дней введения ГК (у 30 % особей). Кроме того, для животных 30ДМ- и 60ДМ-групп было характерно гораздо более существенное, чем у контроля ($p < 0,05$), уменьшение амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии при высокой частоте стимуляции нерва (70 имп/с), что указывает в пользу сниженной лабильности синапсов. Наблюдаемые нами признаки постсинаптических нарушений при длительном введении ГК согласуются с результатами исследований других специалистов (Гиниатуллин и др., 2001; Dodt et al., 2000).

Характер изменения сократительных и эргометрических параметров скелетной мышцы в динамике дексаметазонового гиперкортицизма. Гиперкортицизм сопровождался расстройствами сократительной функции мышцы, особенно выраженными спустя 30 дней применения дексаметазона. Так, уже спустя первые 10 дней введения дексаметазона наблюдалось ухудшение параметров одиночного сокращения мышцы ($p < 0,05$ относительно контроля): уменьшение амплитуды (на 24 %), скорости укорочения (на 49 %) и расслабления (на 33 %). Эти изменения были типичны и для 30ДМ-группы, а спустя 2-месячный период введения дексаметазона, несмотря на то, что амплитуда одиночных сокращений нормализовалась, скорость укорочения и расслабления оставались сниженными (на 30 % и 29 %, $p < 0,05$ относительно контроля). Ухудшение параметров тетанического сокращения мышцы было отмечено только спустя 30 дней введения дексаметазона и только при работе мышцы с большой нагрузкой (70 г). У животных 30ДМ-группы отмечалось уменьшение ($p < 0,05$ относительно контроля) амплитуды (на 32 %) и скорости развития (на 39 %) тетануса, внешней работы мышцы (на 34 %) и абсолютной силы тетанического ее сокращения (на 64 %). По окончании 2-месячного периода применения дексаметазона амплитуда и скорость тетанического сокращения нормализовывались, тогда как абсолютная сила тетанического сокращения оставалась сниженной (на 32 %, $p < 0,05$ относительно контроля).

Таким образом, несмотря на нормализацию спустя 60 дней введения дексаметазона параметров М-ответа, амплитуды одиночного и амплитуды и скорости тетанического сокращений мышцы, скорость укорочения и расслабления при одиночном сокращении, а также абсолютная сила тетанического сокращения при работе мышцы с большой внешней нагрузкой (70 г) оставались сниженными.

Влияние дексаметазонового гиперкортицизма на функциональные параметры, характеризующие профиль скелетной мышцы. Для мышцы животных всех ДМ-групп были характерны функциональные признаки сдвига ее профиля в окислительную сторону: уменьшение ($p < 0,05$ в сравнении с контролем) скорости расслабления при одиночном сокращении (на 29-56 %), удлинение периода полурасслабления после тетануса (на 40-67 %), уменьшение степени посттетанического потенцирования (на 38-55 %) на фоне увеличения соотношения между амплитудой тетануса и одиночного сокращения (до соотношения 4,8:1 против 3,6:1 у контроля). В связи с тем, что признаки сдвига профиля мышцы в окислительную сторону у животных ДМ-групп сочетались с уменьшением ($p < 0,05$ относительно контроля) ее массы (у крыс всех ДМ-групп), количества активируемых ДЕ (у животных 30ДМ- и 60ДМ-групп), ухудшением параметров М-ответа, одиночного и тетанического сокращений, особенно выраженных в 30ДМ-группе, наиболее вероятной их причиной служили дистрофические изменения быстрых гликолитических мышечных волокон под действием синтетического ГК.

Влияние дексаметазонового гиперкортицизма на утомляемость мышцы и скорость ее восстановления после утомления. Длительное применение дексаметазона обуславливало большую утомляемость и меньшую, в сравнении с контролем, способность мышцы к восстановлению после утомляющей работы. В пользу этого свидетельствуют следующие факты. Во-первых, укорочение ($p < 0,05$ относительно контроля) периода максимальной работоспособности мышцы (на 29-31 %) при выполнении ею утомляющей работы, типичное для 30ДМ- и 60ДМ-групп. Во-вторых, отмеченные во всех ДМ-группах более выраженные, в сравнении с контролем ($p < 0,05$), ухудшение параметров М-ответов и одиночных сокращений и уменьшение количества активируемых ДЕ мышцы после выполнения утомляющей работы.

Степень адаптации периферического звена нервно-мышечного аппарата к длительному введению дексаметазона. По окончании 2-месячного периода введения дексаметазона наблюдалась нормализация ряда электрофизиологических, сократительных и эргометрических параметров мышцы: амплитуды М-ответа, одиночного и тетанического сокращений, внешней работы мышцы при тетаническом сокращении и его скорости. Такая нормализация отчасти может быть связана с адаптацией организма в целом и нервно-мышечного аппарата в частности к длительному введению ГК в постоянной дозе, но она не была обусловлена нормализацией состояния гликолитических мышечных волокон, в пользу чего указывают следующие факты. Во-первых, в 60ДМ-группе сохранялись уменьшенными ($p < 0,05$ относительно контроля) масса мышцы (на 9 %) и количество активируемых ДЕ (на 43 %), а также отмечались функциональные признаки сдвига профиля мышцы в окислительную сторону – уменьшение скорости укорочения (на 30 %) и расслабления (на 29 %) при одиночном сокращении, удлинение времени полурасслабления после тетануса (на 43 %), уменьшение степени посттетанического потенцирования на фоне увеличения соотношения между амплитудой тетануса и одиночного сокращения (до соотношения 4,8:1 против 3,6:1 у контроля).

Во-вторых, у животных 60ДМ-группы сохранялось снижение абсолютной силы тетанического сокращения (на 32 %, $p < 0,05$ относительно контроля), отмечались признаки сниженной лабильности синапсов, повышенной утомляемости мышцы, а у части животных наблюдались сниженная надежность синаптической передачи (у 40 % особей), патологически значимое ее облегчение (у 20 % особей) и депрессия (у 30 % особей) при оптимальном режиме стимуляции малоберцового нерва (30 имп/с).

Все эти патологические проявления свидетельствуют в пользу того, что нормализация сократительных параметров мышцы у животных 60ДМ-группы была обусловлена не нормализацией функционального состояния гликолитических мышечных волокон, а

расширением ДЕ, в пользу которого указывает удлинение М-ответов мышцы (на 52 %, $p < 0,05$ относительно контроля) на фоне сниженных ($p < 0,05$ относительно контроля) ее массы (на 9 %) и количества активируемых ДЕ (на 43 %). В связи с тем, что такое удлинение М-ответов не сопровождалось увеличением их амплитуды, можно заключить, что амплитуда потенциалов действия, генерируемых отдельными мышечными волокнами, была снижена (MacIntosh B.R. et al., 2006), что еще раз доказывает сохранность дистрофических их изменений.

Эффективность выбранных средств в компенсации повреждающих эффектов дексаметазона на периферическое звено нервно-мышечного аппарата. Эффективность в компенсации нарушений параметров М-ответа, массы мышцы и количества активируемых ДЕ. Применение в комплексе с дексаметазоном антиоксидантов (таурина или α -липоевой кислоты), альфакальцидола, аргинина, умеренной физической нагрузки или комбинации «плавание + аргинин» предотвратило уменьшение массы мышцы и количества активируемых ДЕ, типичное для ДМ-групп (рис. 7, 8).

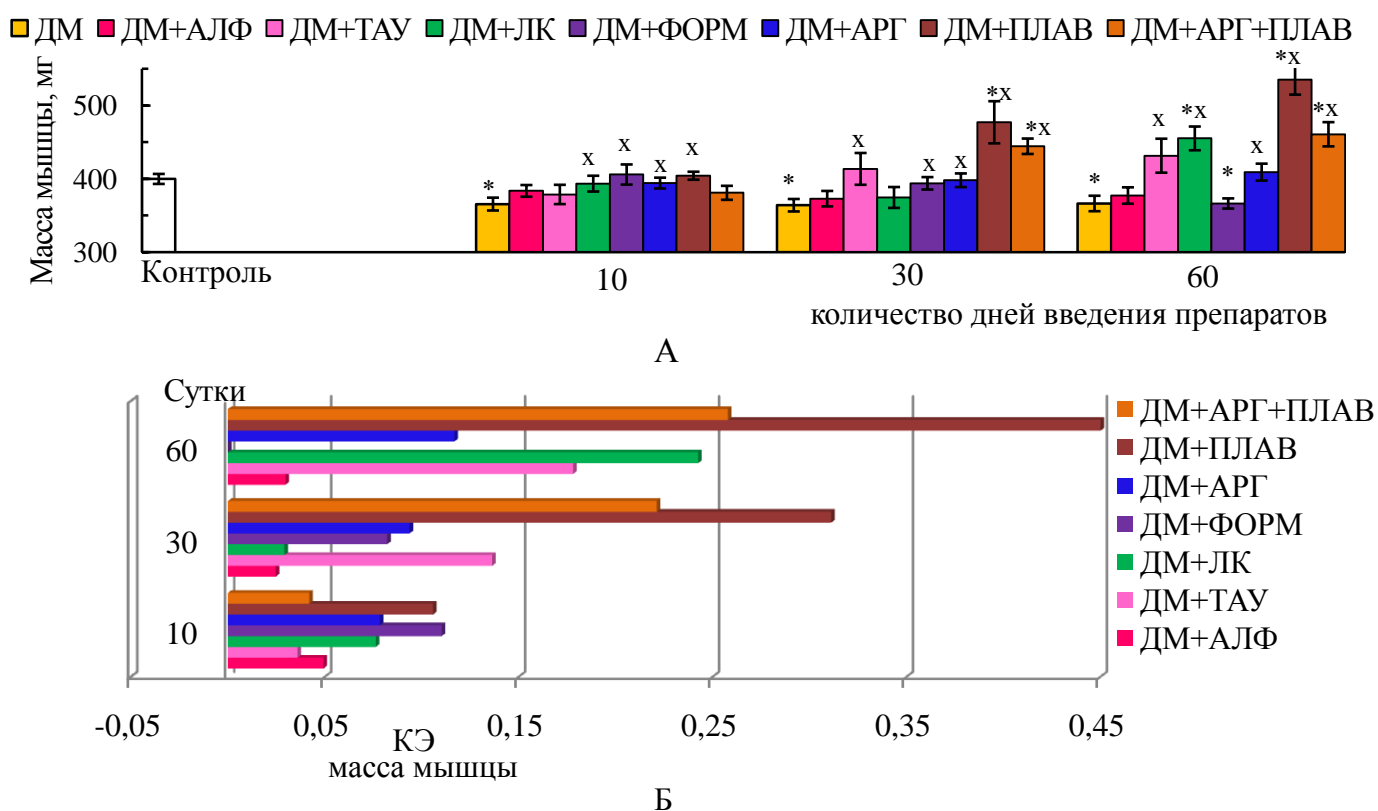


Рисунок 7 – Средние значения массы *m. tibialis anterior* у животных, получавших дексаметазон изолированно и в комплексе с компенсирующими средствами (А) и коэффициент эффективности компенсирующих средств, вводимых в комплексе с дексаметазоном, в предотвращении уменьшения массы мышцы, в сравнении с изолированным применением дексаметазона (Б)

Примечания: * – различия статистически значимы ($p < 0,05$) относительно значения соответствующего показателя контрольной группы; ^x – различия статистически значимы ($p < 0,05$) относительно значения соответствующего показателя ДМ-группы

Более того, при комплексном применении дексаметазона с α -липоевой кислотой наблюдалось даже увеличение, в сравнении с контролем ($p < 0,05$), массы мышцы (на 14 % у животных 60ДМ+ α -ЛК-группы), тогда как применение плавания или комбинации «плавание + аргинин» в комплексе с дексаметазоном обуславливало увеличение ($p < 0,05$ относительно контроля) спустя 30 и 60 дней экспериментальных воздействий не только массы мышцы (на 19-34 % в ДМ+ПЛАВ-группе и 11-15 % в ДМ+ПЛАВ+АРГ-группе), но и количества активируемых ДЕ (на 41-60 % в ДМ+ПЛАВ-группе и 38-45 % в ДМ+ПЛАВ+АРГ-группе), что, вероятнее всего, связано с гипертрофией мышечных волокон и генерацией ими более высокоамплитудных потенциалов действия.

Применение формотерола в комплексе с дексаметазоном замедлило снижение мышечной массы, но не предотвратило его полностью: значимое относительно контроля

($p < 0,05$) снижение массы мышцы (на 8 %) отмечалось спустя 60 дней введения пары препаратов. Вместе с тем, количество активируемых ДЕ мышцы у животных ДМ+ФОРМ-групп значимо не уменьшалось относительно контроля.

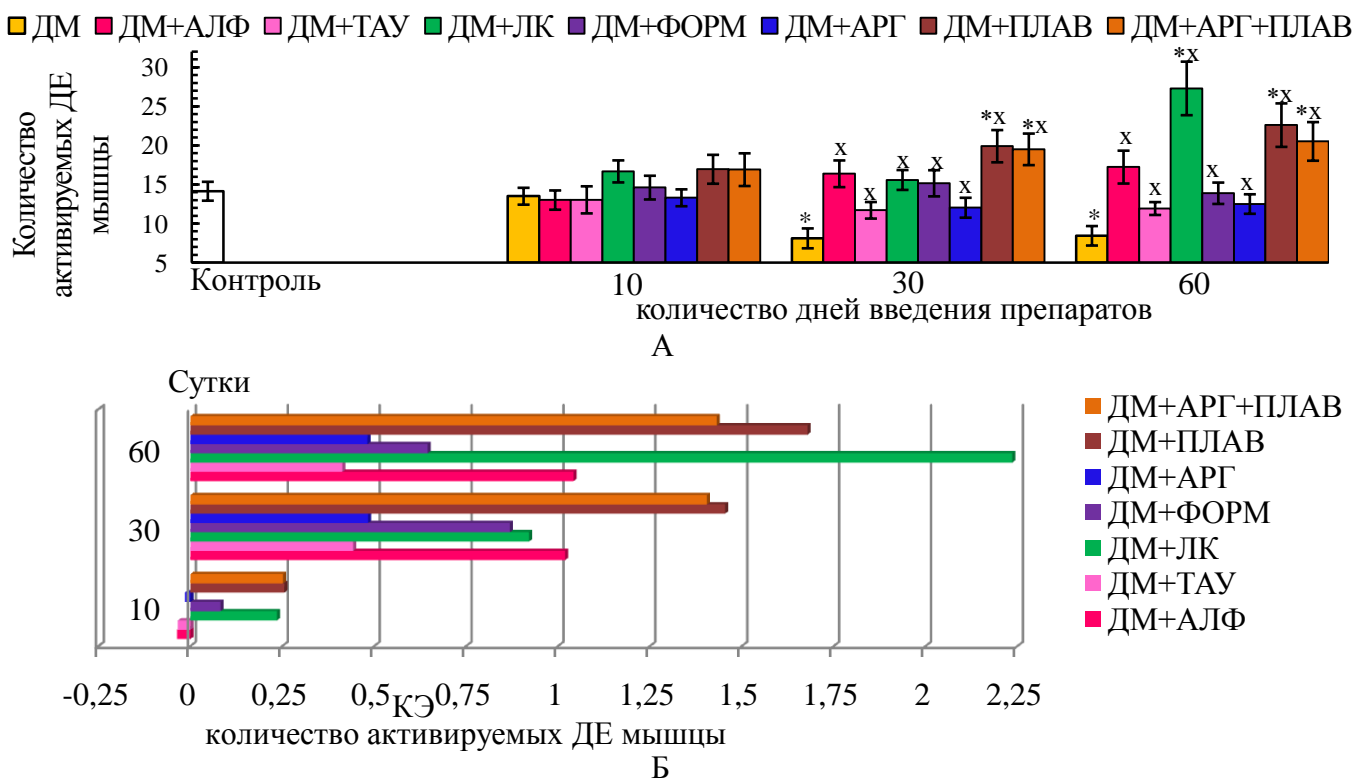


Рисунок 8 – Средние значения количества активируемых двигательных единиц *m. tibialis anterior* у животных, получавших дексаметазон изолированно и в комплексе с компенсирующими средствами (А) и коэффициент эффективности используемых средств предотвращения уменьшения данного параметра, в сравнении с изолированным введением дексаметазона (Б)

Примечания – те же, что к рисунку 7

Данные факты указывают в пользу отсутствия выраженных дистрофических изменений мышечных волокон в случае применения дексаметазона с любым из используемых компенсирующих средств.

Все используемые средства предотвратили типичное для 30ДМ-группы уменьшение амплитуды и удлинение латентного периода М-ответов (рис. 9). Вместе с тем, отсутствие типичного для 60ДМ-группы увеличения длительности М-ответов отмечалось только в случае комплексного применения дексаметазона с антиоксидантами (таурином или α -липоевой кислотой) или плаванием или комбинацией «плавание + аргинин».

В случае же применения дексаметазона в комплексе с аргинином или альфакальцидолом или формотеролом сохранялось типичное для 60ДМ-группы удлинение М-ответа ($p < 0,05$ относительно контроля). Причем это удлинение М-ответов в ДМ+АРГ-группах отмечалось спустя 30-60 дней введения препаратов (на 38-35 % соответственно, $p < 0,05$ относительно контроля) на фоне нормальной их амплитуды. В ДМ+ФОРМ-группах увеличение длительности М-волны (на 38 %, $p < 0,05$ относительно контроля) имело место спустя 60 дней экспериментальных воздействий на фоне повышенной ее амплитуды (на 66 %, $p < 0,05$ относительно контроля). В ДМ+АЛФ-группе значимое относительно контроля ($p < 0,05$) удлинение М-ответа отмечалось спустя 30 дней введения пары препаратов (на 60 %) с сохранностью тенденции к удлинению М-волны по окончании 2-месячного периода экспериментальных воздействий на фоне повышенной ее амплитуды (на 85-60 % в 30ДМ+АЛФ- и 60ДМ+АЛФ-группах соответственно, $p < 0,05$ относительно контроля).

Увеличение и амплитуды, и длительности М-волны, типичное для некоторых ДМ+ФОРМ- и ДМ+АЛФ-групп, вероятнее всего, обусловлено увеличением площади ДЕ вследствие нейропатических изменений (Гехт, 1990). Увеличение длительности М-ответа на фоне нормальных его амплитуды, массы мышцы и количества активируемых ДЕ в

30ДМ+АРГ- и 60ДМ+АРГ-группах, также косвенно указывает в пользу нейропатических изменений (в частности, возможного изменения скорости проведения возбуждения по патологически измененным нервным волокнам), которые в ДМ-группах, по всей видимости, маскировались выраженными миопатическими нарушениями.

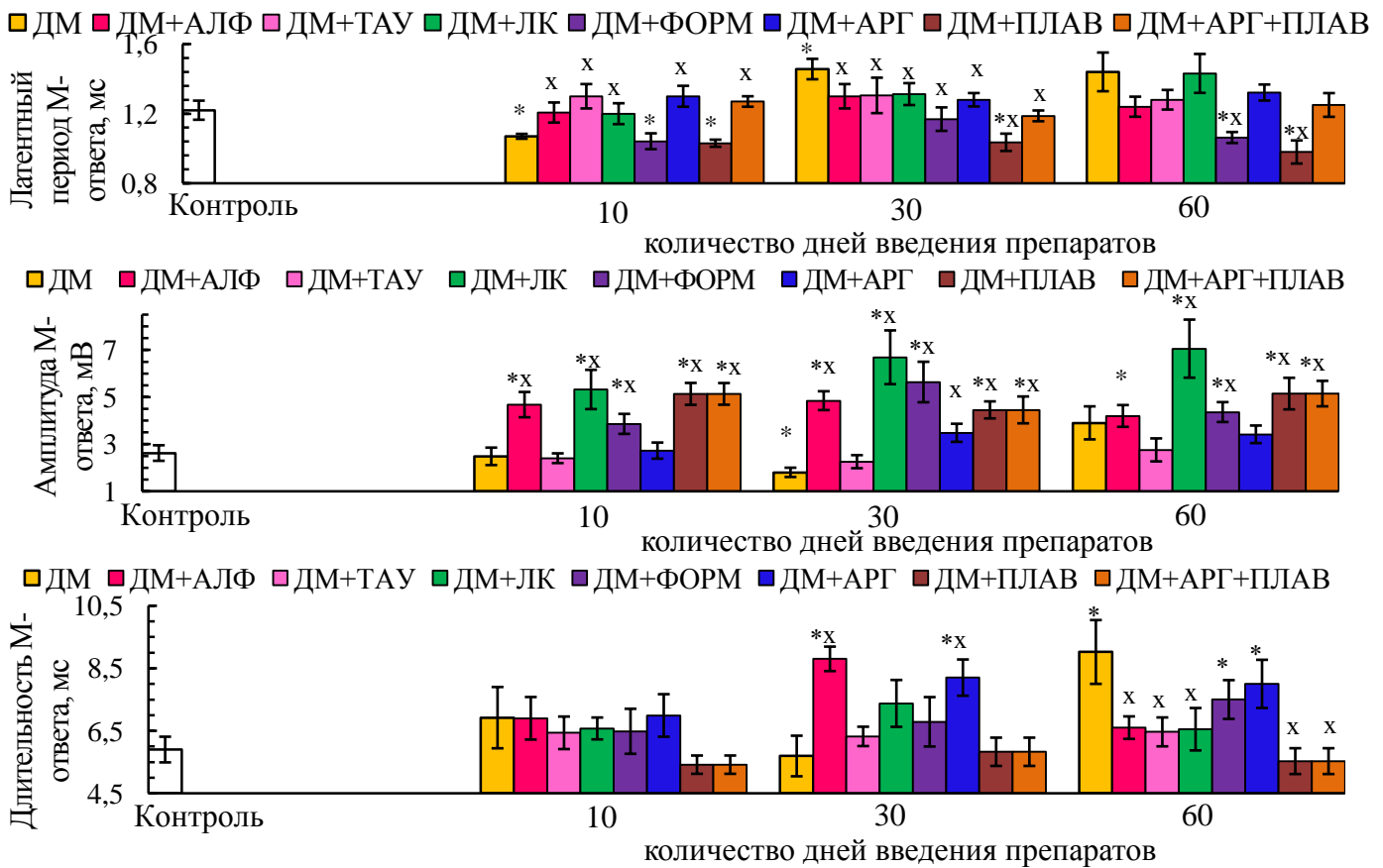


Рисунок 9 – Средние значения параметров М-ответа *m. tibialis anterior* у животных, получавших дексаметазон изолированно и в комплексе с компенсирующими средствами

Примечания – те же, что и к рисунку 7

Применение в комплексе с дексаметазоном таурина, физической нагрузки или ее комбинации с аргинином существенно снизило частоту полифазных М-ответов, в сравнении с ДМ-группами. Так, в ДМ+ТАУ-группах полифазные М-ответы встречались всего у 10 % особей и характеризовались нормальной амплитудой и длительностью, что не является признаком патологии. В ДМ+ПЛАВ-группе, несмотря на то, что частота полифазных М-ответов спустя первые 10-30 дней экспериментальных воздействий (регистрировались у 10-50 % особей) была сопоставима с таковой 30ДМ-группы (отмечались у 40 % особей), по окончании 2-месячного периода применения комбинации дексаметазона с плаванием полифазия М-ответов не обнаруживалась вообще. В случае применения дексаметазона с комбинацией «плавание + аргинин» полифазные М-ответы встречались гораздо реже (у 0-30 % особей), чем в ДМ- и некоторых ДМ+АРГ- и ДМ+ПЛАВ-группах.

Частота полифазных М-ответов в ДМ+АРГ-, ДМ+АЛФ-, ДМ+ФОРМ- и ДМ+α-ЛК-группах (20-50 %) была сопоставима с таковой ДМ-групп (20-40 %). Но при этом полифазные М-ответы мышцы крыс, получавших дексаметазон в комплексе аргинином или альфакальцидолом или α-липоевой кислотой или формотеролом, отличались нормальной (в ДМ+АРГ-группах) или повышенной (в ДМ+АЛФ-, ДМ+α-ЛК- и ДМ+ФОРМ-группах, $p < 0,05$ относительно контроля) амплитудой (рис. 9) и регистрировались на фоне относительно нормального количества активизируемых ДЕ (рис. 8), тогда как в 30ДМ-группе они имели место на фоне сниженной амплитуды М-волны (на 37 %) и уменьшенной массы мышцы (на 9 %) и количества активизируемых ДЕ (на 43 %, $p < 0,05$ относительно контроля). Эти факты указывают в пользу разных причин полифазии М-ответов у животных, получавших дексаметазон изолированно или в комбинации с каким-то компенсирующим

средством. Основной причиной полифазии М-ответов у животных ДМ-групп являлась недостаточность нормальных мышечных волокон в зоне основного их распределения в составе ДЕ для формирования полноценного М-ответа вследствие выраженных миопатических изменений, на что указывает снижение у животных 30ДМ-группы амплитуды М-ответов на фоне отсутствия их удлинения (Гехт, 1990). В группах же, получавших дексаметазон в комплексе с каким-то компенсирующим фактором, основной причиной полифазных М-ответов увеличенной длительности на фоне нормальной или повышенной их амплитуды являлись нейропатические изменения, в том числе изменение скорости проведения возбуждения по патологически измененным нервным волокнам. Вместе с тем, степень нейропатических изменений у животных ДМ+ПЛАВ-, ДМ+АРГ+ПЛАВ- и ДМ+ α -ЛК-групп была меньшей, в сравнении с группами, в которых дексаметазон применялся с другими компенсирующими факторами (аргинином, альфакальцидолом или формотеролом), в пользу чего свидетельствует отсутствие удлинения у них М-ответов.

По всей видимости, выраженность миопатических изменений, маскирующих нейропатические, в мышце животных, получавших дексаметазон с каким-то из компенсирующих факторов, была меньшей, чем при изолированном применении дексаметазона, и расстройства нейрогенного генеза, вызванные длительным введением синтетического ГК, могли проявиться. Мнения специалистов относительно вовлеченности периферического звена нервной системы в комплекс функциональных нарушений при избытке ГК противоречивы. Так, еще во второй половине прошлого века сформировалась точка зрения относительно первично мышечных поражений при гиперкортицизме (Гехт, 1990; Jerusalem, 1981), но при этом некоторые исследователи указывали в пользу повреждения собственно мотонейронов, в том числе их аксонов при избытке ГК (Ильина, 1983; Неретин и др., 1983), предопределяющего не только миогенный, но и нейрогенный характер поражения нервно-мышечной системы при гиперкортицизме. Результаты наших исследований подтверждают наличие нейропатических изменений при длительном введении дексаметазона. Однако нейропатические изменения четко проявляются в случае применения дексаметазона с определенными компенсирующими факторами (аргинином или формотеролом или альфакальцидолом), ослабляющими выраженность миопатических проявлений, тогда как при изолированном введении дексаметазона на первый план выступают электромиографические проявления миопатического характера – уменьшение амплитуды М-ответов на фоне их полифазии и неизменной длительности.

Эффективность в компенсации нарушений синаптической передачи. Все используемые средства отчасти уменьшили частоту встречаемости признаков сниженной надежности синаптической передачи, типичных для ДМ-групп (коэффициенты эффективности выбранных средств в уменьшении частоты встречаемости патологически значимого декремента амплитуды М-ответов при низкочастотной стимуляции нервно-мышечного аппарата (4 имп/с), в сравнении с ДМ-группой, приведены на рис. 10).

При этом наиболее эффективной в этом плане оказалась умеренная физическая нагрузка, применяемая в комплексе с дексаметазоном самостоятельно или в комбинации с аргинином. Так, спустя первые 10 дней применения дексаметазона с плаванием или комбинацией «плавание + аргинин» у животных сохранялось значимое относительно исходного уровня ($p < 0,05$) удлинение латентного периода М-ответов после утомляющей работы (на 27-28 %), и у 10 % особей встречался патологически значимый декремент амплитуды М-ответов при низкочастотной стимуляции нервно-мышечного аппарата (4 имп/с), что было характерно и для 10ДМ-группы. Вместе с тем, спустя 30-60 дней комплексного применения дексаметазона с плаванием или его комбинацией с аргинином признаки сниженной надежности синаптической передачи не проявлялись вообще.

При этом сама по себе умеренная физическая нагрузка оказалась достаточной для предотвращения индуцированного дексаметазоном нарушения надежности синаптической передачи, тогда как сам по себе аргинин, применяемый в комплексе с дексаметазоном, такого эффекта не оказывал. В частности, в случае применения дексаметазона с аргинином частота встречаемости патологически значимого декремента амплитуды М-ответов при

низкочастотной стимуляции нервно-мышечного аппарата снижалась, в сравнении с ДМ-группами (до 40 % в 30ДМ+АРГ-группе против 70 % в 30ДМ-группе). В то же время, для всех ДМ+АРГ-групп, подобно ДМ-группам, было характерно не типичное для контроля удлинение латентного периода М-ответа после утомляющей работы относительно исходного уровня (на 23-28 %, $p < 0,05$).

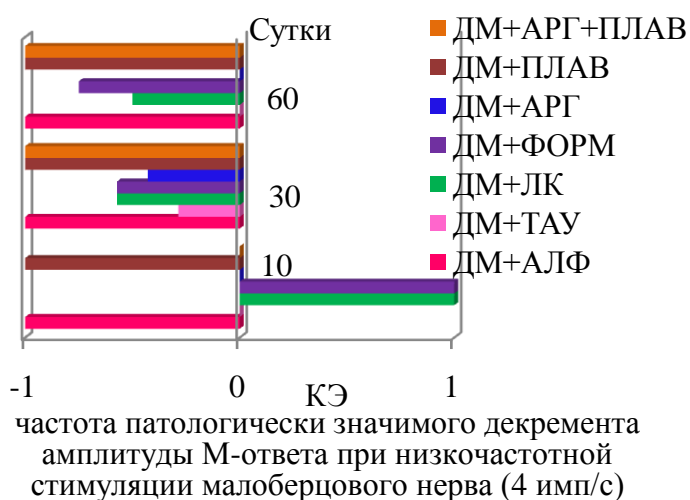


Рисунок 10 – Коэффициент эффективности компенсирующих средств, вводимых в комплексе с дексаметазоном, в уменьшении частоты встречаемости патологически значимого декремента амплитуды М-ответа *m. tibialis anterior* при низкочастотной стимуляции нервно-мышечного аппарата (4 имп/с), в сравнении с изолированным применением дексаметазона

При комплексном применении дексаметазона с формотеролом частота случаев патологически значимого декремента амплитуды М-ответов при низкочастотной стимуляции

малоберцового нерва (4 имп/с) была существенно ниже (10-30 %), чем в ДМ-группах (10-70 %). Вместе с тем, в ДМ+ФОРМ-группах сохранялось типичное для ДМ-групп удлинение латентного периода М-ответа после утомляющей работы относительно исходного значения. Однако степень этого удлинения в 10ДМ+ФОРМ- и 60ДМ+ФОРМ-группах (на 17-16 %) была значимо ниже ($p < 0,05$) таковой соответствующих ДМ-групп (на 34-38 %), тогда как в 30ДМ+ФОРМ-группе она существенно не отличалась от таковой 30ДМ-группы.

Антиоксиданты – таурин и α -липоевая кислота, вводимые в комплексе с дексаметазоном, не предотвратили удлинения латентного периода М-ответов после утомляющей работы относительно исходного уровня (на 28-38 %, $p < 0,05$) на протяжении всего периода введения пар препаратов (от 10 до 60 дней). При этом патологически значимый декремент амплитуды М-ответов при низкочастотной стимуляции нервно-мышечного аппарата (4 имп/с) у крыс ДМ+ТАУ-групп встречался примерно с такой же частотой (у 10-50 % особей), как и в ДМ-группах (у 10-70 % особей), тогда как при комплексном применении дексаметазона с α -липоевой кислотой на протяжении 30-60 дней – в 2 раза реже, чем в соответствующих ДМ-группах.

Несмотря на то, что при комплексном применении дексаметазона с альфакальцидолом патологически значимый декремент амплитуды М-ответов при низкочастотной стимуляции нерва (4 имп/с) до утомляющей работы не встречался вообще, у них он обнаруживался после утомляющей работы (у 30 % особей 30ДМ+АЛФ-группы), и наблюдалось удлинение латентного периода М-ответа мышцы после выполнения утомляющей работы (на 34-47 %, $p < 0,05$ относительно исходного).

Все эти факты указывают в пользу сохранности признаков сниженной надежности синаптической передачи у животных, получавших дексаметазон в комплексе с каким-либо из компенсирующих средств. Но при этом наиболее эффективными в плане нивелирования негативных эффектов дексаметазона на надежность синаптической передачи оказались умеренная физическая нагрузка и ее комбинация с аргинином, а также формотерол.

Комплексное введение дексаметазона с альфакальцидолом полностью предотвратило появление случаев патологически значимого облегчения синаптической передачи при оптимальной частоте стимуляции нерва (30 имп/с) и повышение степени посттетанического облегчения, типичное для ДМ-групп (коэффициенты эффективности используемых средств в компенсации признаков пресинаптических нарушений, в сравнении с ДМ-группой, приведены на рис. 11).

В случае же применения в комплексе с дексаметазоном других компенсирующих факторов – таурина, α -липоевой кислоты, аргинина, динамической физической нагрузки или

комбинации «плавание + аргинин» – спустя 30 дней введения препаратов частота случаев выраженного облегчения синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с) примерно в 2 раза снижалась, в сравнении с ДМ-группами. Причем относительно немногочисленные случаи выраженного облегчения синаптической передачи у животных этих групп имели место на фоне нормальной (в ДМ+АРГ- и ДМ+ТАУ-группах) или даже повышенной относительно контроля (в ДМ+ α -ЛК-, ДМ+ПЛАВ-, ДМ+ПЛАВ+АРГ-группах) амплитуды исходных М-ответов в серии и нормальной степени посттетанического облегчения после 6-секундного тетануса.

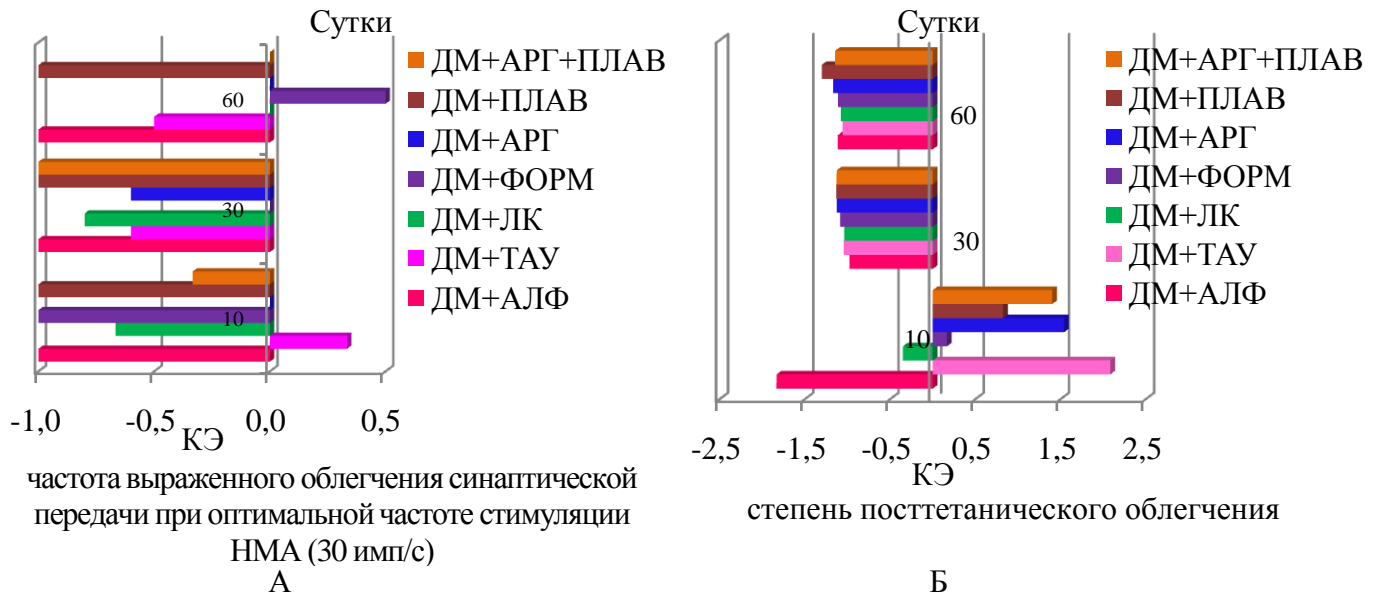


Рисунок 11 – Коэффициент эффективности компенсирующих средств, вводимых в комплексе с дексаметазоном, в уменьшении частоты встречаемости выраженного облегчения синаптической передачи в *m. tibialis anterior* при оптимальной частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с, А) и ослаблении степени посттетанического облегчения (Б) в сравнении с изолированным применением дексаметазона

В ДМ+ФОРМ-группах выраженное облегчение синаптической передачи при оптимальной частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с) встречалось примерно с такой же частотой (у 30-50 % особей), как в ДМ-группах (у 20-70 % особей), но оно регистрировалось и у части особей ФОРМ-групп (у 10-30 %) и имело место в ДМ+ФОРМ-группах на фоне повышенной амплитуды 1-го М-ответа в серии и относительно нормальной степени посттетанического облегчения. В основе выраженного облегчения синаптической передачи у животных ДМ+ФОРМ-групп, типичного также и для части особей ФОРМ-групп (10-20 %), может лежать способность адrenoагонистов через посредство β -адренорецепторов потенцировать кальцийзависимый экзоцитоз медиатора в синаптическую щель вследствие цАМФзависимой активации электровозбудимых кальциевых каналов в пресинаптической мембране (Grishin et al., 2015).

В целом, нормальная степень посттетанического облегчения у животных, получавших дексаметазон с любым компенсирующим фактором, а также нормальная или даже повышенная амплитуда 1-го М-ответа в серии при раздражении нервно-мышечного аппарата с оптимальной частотой (30 имп/с) позволяют исключить заблокированность синапсов, как основную причину выраженного облегчения синаптической передачи, встречавшегося у некоторых особей этих групп. Наиболее же вероятной причиной этого облегчения у части животных, получавших дексаметазон с каким-то компенсирующим фактором, является облегчающее действие самого дексаметазона (и возможно β_2 -адреноагониста формотерола в ДМ+ФОРМ-группах) на синаптическую передачу, которое, очевидно проявлялось на начальных этапах изолированного введения дексаметазона (в 10ДМ-группе) и не только на начальных, но и более поздних этапах его введения с каким-то из компенсирующих факторов, в условиях отсутствия выраженных дистрофических изменений мышечных волокон.

Наиболее эффективной в предотвращении развития постсинаптических расстройств, вызванных введением ГК, оказалась физическая нагрузка (коэффициенты эффективности используемых средств в компенсации признаков постсинаптических нарушений, в сравнении с ДМ-группой, приведены на рис. 12). В частности, при комплексном применении дексаметазона с плаванием случаев патологически значимой депрессии синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с) не обнаруживалось вообще, также как и не наблюдалось снижения амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии в диапазоне высоких частот стимуляции малоберцового нерва (70 имп/с). Аналогично, применение физической нагрузки в комплексе с дексаметазоном и аргинином уменьшало, в сравнении с ДМ-группами, частоту встречаемости патологически значимой депрессии синаптической передачи при оптимальной частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата (до 10 % против 30 % в 30ДМ-группе) и предотвращало снижение амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии в диапазоне высокочастотной стимуляции малоберцового нерва (70 имп/с).

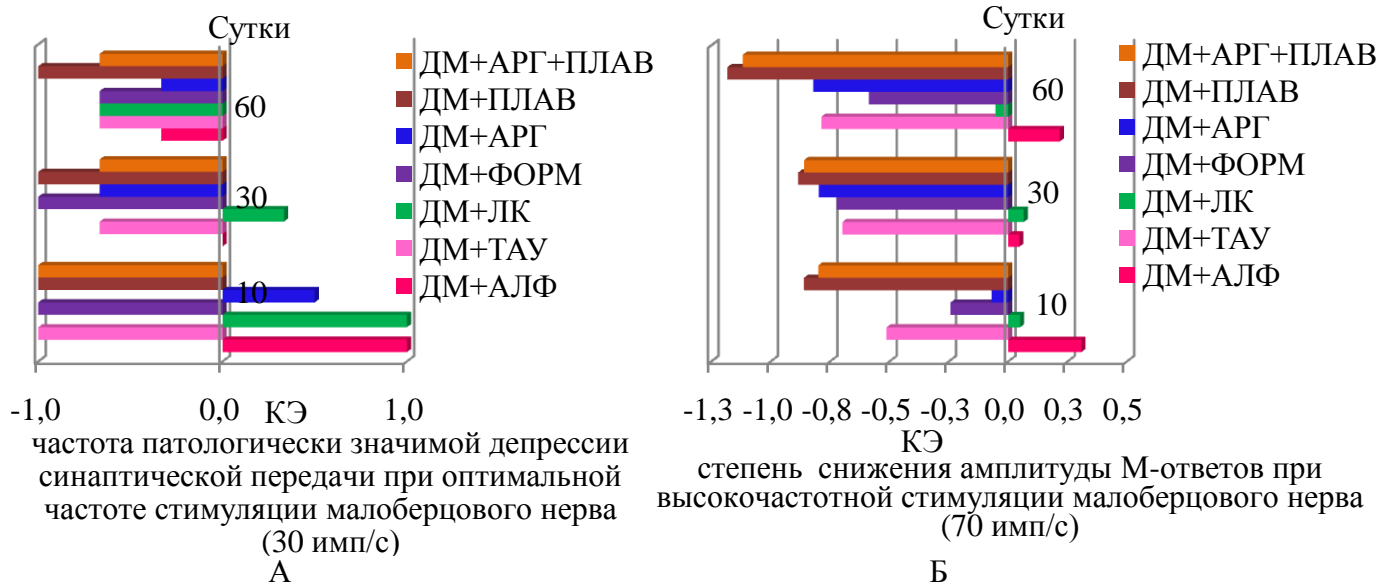


Рисунок 12 – Коэффициент эффективности компенсирующих средств, вводимых в комплексе с дексаметазоном, в уменьшении частоты встречаемости патологически значимой депрессии синаптической передачи в *m. tibialis anterior* при оптимальной частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с, А) и ослаблении степени снижения амплитуды М-ответов при высокочастотной стимуляции малоберцового нерва (70 имп/с) (Б), в сравнении с изолированным применением дексаметазона

В случае применения дексаметазона с аргинином спустя первые 10 дней введения пары препаратов частота случаев патологически значимой депрессии синаптической передачи (30 %) при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с) была сопоставима с таковой 10ДМ-группы (20 %), и наблюдалось типичное для ДМ-групп снижение амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии при высокочастотной стимуляции нервно-мышечного аппарата (70 имп/с). По мере дальнейшего применения дексаметазона в комплексе с аргинином, спустя 30-60 дней, частота патологически значимой депрессии синаптической передачи снижалась примерно в 2 раза, по сравнению с соответствующими ДМ-группами (до 20 % против 50 % в 30ДМ-группе), и не наблюдалось снижения амплитуды М-ответов при высокой частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата (70 имп/с). Данные факты указывают в пользу того, что при длительном введении дексаметазона с аргинином аргинин предотвратил развитие постсинаптических расстройств.

Достаточно эффективным в предотвращении постсинаптических расстройств, вызванных дексаметазоном, оказался и формотерол. Так, в случае комплексного его применения с дексаметазоном наблюдалось снижение частоты встречаемости патологически значимой депрессии синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с) до 10 % в некоторых ДМ+ФОРМ-

группах против 20-40 % в ДМ-группах. Кроме того, для ДМ+ФОРМ-групп не было характерно типичного для ДМ-групп более существенного, в сравнении с контролем, снижения амплитуды М-ответов относительно таковой 1-го в серии при высокочастотной стимуляции нервно-мышечного аппарата (70 имп/с).

Из применяемых антиоксидантов эффективным в ослаблении постсинаптических расстройств, вызванных дексаметазоном, оказался таурин. В случае его введения в комплексе с дексаметазоном частота случаев патологически значимой депрессии синаптической передачи уменьшалась примерно в 2 раза, по сравнению с ДМ-группами (до 0-10 % против 20-30 % в ДМ-группах). При этом не наблюдалось и уменьшения амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии при высокочастотной стимуляции нервно-мышечного аппарата. α -Липоевая кислота, вводимая в комплексе с дексаметазоном, в отличие от таурина, не предопределила уменьшения частоты случаев выраженной депрессии синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата. Кроме того, для ДМ+ α -ЛК-групп было характерно отмеченное в ДМ-группах более выраженное, в сравнении с контролем ($p < 0,05$), снижение амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии при высокочастотной стимуляции нервно-мышечного аппарата.

Подобно α -липоевой кислоте неэффективным в компенсации постсинаптических нарушений, вызванных введением дексаметазона, оказался альфакальцидол. Так, у животных ДМ+АЛФ-групп при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с) обнаруживалась патологически значимая депрессия синаптической передачи примерно с такой же частотой (20-40 %), как в ДМ-группах (20-30 %). Кроме того, в ДМ+АЛФ-группах, подобно ДМ-группам, сохранялось более выраженное, в сравнении с контролем ($p < 0,05$), снижение амплитуды М-ответов относительно таковой 1-го в серии в диапазоне высоких частот стимуляции нервно-мышечного аппарата (70 имп/с), указывающее в пользу сохранности сниженной лабильности синапсов.

Таким образом, все используемые средства предотвратили развитие исходной заблокированности синапсов, признаки которого отмечались в ДМ-группах, но не все они оказались эффективными в нивелировании негативных эффектов дексаметазона на надежность и лабильность синаптической передачи. При этом наиболее эффективными средствами в компенсации негативных эффектов дексаметазона на надежность синаптической передачи оказались физическая нагрузка, применяемая самостоятельно или в комплексе с аргинином, и формотерол. В компенсации же постсинаптических нарушений и сниженной лабильности синаптической передачи эффективными оказались физическая нагрузка, применяемая самостоятельно или в комплексе с аргинином, формотерол и таурин, тогда как аргинин проявлял свою эффективность только в случае длительного применения в комплексе с дексаметазоном.

Эффективность в компенсации нарушений сократительной функции мышцы. Все используемые факторы оказались в некоторой степени эффективными для предотвращения нарушений сократительной функции исследуемой мышцы, вызванных длительным введением дексаметазона (на протяжении 30-60 дней, рис. 13, 14). При этом почти полностью компенсировали ухудшение амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений мышцы, вызванное дексаметазоном, аргинин, антиоксиданты (таурин и α -липоевая кислота) и формотерол. Более того, некоторые из этих факторов (α -липоевая кислота, формотерол), применяемые в комплексе с дексаметазоном, обуславливали даже улучшение параметров сократительной функции мышцы, в сравнении с контролем. Так, на протяжении всего 2-месячного периода комплексного применения дексаметазона с α -липоевой кислотой отмечалось увеличение относительно контроля ($p < 0,05$) скорости расслабления при одиночных сокращениях (на 31-61 %), скорости развития тетанусов (на 33-37 %) и абсолютной силы тетанического сокращения мышцы (на 49-75 %), а спустя 60 дней – и амплитуды одиночных сокращений (на 36 %), которые были также характерны и для α -ЛК-групп. Спустя 30-60 дней комплексного применения дексаметазона с формотеролом наблюдалось увеличение, в сравнении с контролем ($p < 0,05$), скорости развития тетануса (на

39-37 %), а по окончании 2-месячного периода их введения – к тому же увеличение внешней работы мышцы при тетанических сокращениях (на 36 %), типичные и для ФОРМ-групп.

В случае применения дексаметазона в комплексе с плаванием и аргинином имело место уменьшение скорости расслабления при одиночном сокращении (на 27-22 % спустя 30 и 60 дней воздействия данной комбинации соответственно, $p < 0,05$), но при этом по окончании 2-месячного периода применения данной комбинации отмечалось улучшение, в сравнении с контролем ($p < 0,05$), параметров тетанического сокращения мышцы – увеличение внешней работы (на 59 %), абсолютной силы (на 60 %), амплитуды (на 60 %) и скорости (на 53 %) тетануса. При этом сам по себе аргинин, применяемый в комплексе с дексаметазоном, компенсировал нарушение сократительных параметров мышцы, но не приводил к их улучшению относительно контроля, отмеченному в 30АРГ- и 60АРГ-группах.

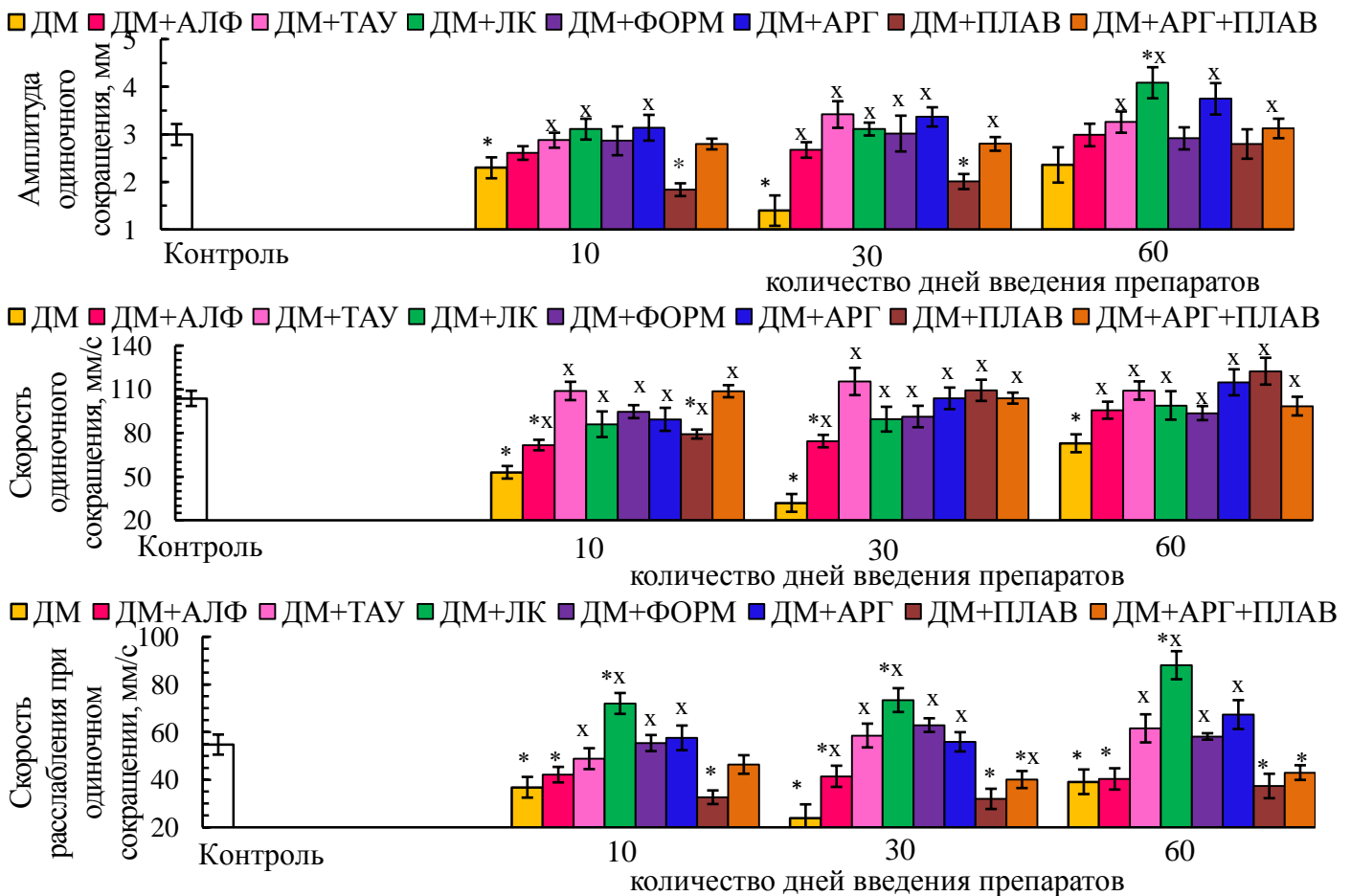


Рисунок 13 – Средние значения параметров одиночного сокращения *m. tibialis anterior* животных, получавших дексаметазон изолированно и в комплексе с компенсирующими средствами

Примечания – те же, что и к рисунку 7

В случае же применения дексаметазона в комплексе с плаванием наблюдалось первоначальное ухудшение параметров одиночного сокращения мышцы, типичное и для ДМ- и отчасти ПЛАВ-групп. В частности, имело место значимое относительно контроля ($p < 0,05$) снижение амплитуды (на 39-33 % в 10ДМ+ПЛАВ- и 30ДМ+ПЛАВ-группах), скорости укорочения (на 24 % в 10ДМ+ПЛАВ-группе) и расслабления (на 32-42 % на протяжении всего 2-месячного периода применения комбинации дексаметазона с плаванием) при одиночном сокращении, уменьшение скорости развития тетануса при работе мышцы с большой нагрузкой (70 г, на 29 %, у животных 10ДМ+ПЛАВ-группы). Вместе с тем, для ДМ+ПЛАВ-групп не было характерно снижения абсолютной силы тетанического сокращения мышцы, отмеченное в 30ДМ- и 60ДМ-группах, напротив, этот параметр в 60ДМ+ПЛАВ-группе превышал уровень контроля (на 80 %, $p < 0,05$). Первоначальное (спустя первые 10 дней экспериментальных воздействий) ухудшение параметров одиночного и тетанического сокращения мышцы у животных ДМ+ПЛАВ-группы может быть вызвано не только

негативным влиянием дексаметазона, но отчасти и самой физической нагрузки, поскольку было характерно и для 10ПЛАВ-группы. Применение аргинина в комплексе с плаванием и дексаметазоном предотвратило типичное для 10ДМ+ПЛАВ-группы ухудшение параметров одиночных и тетанических сокращений мышцы.

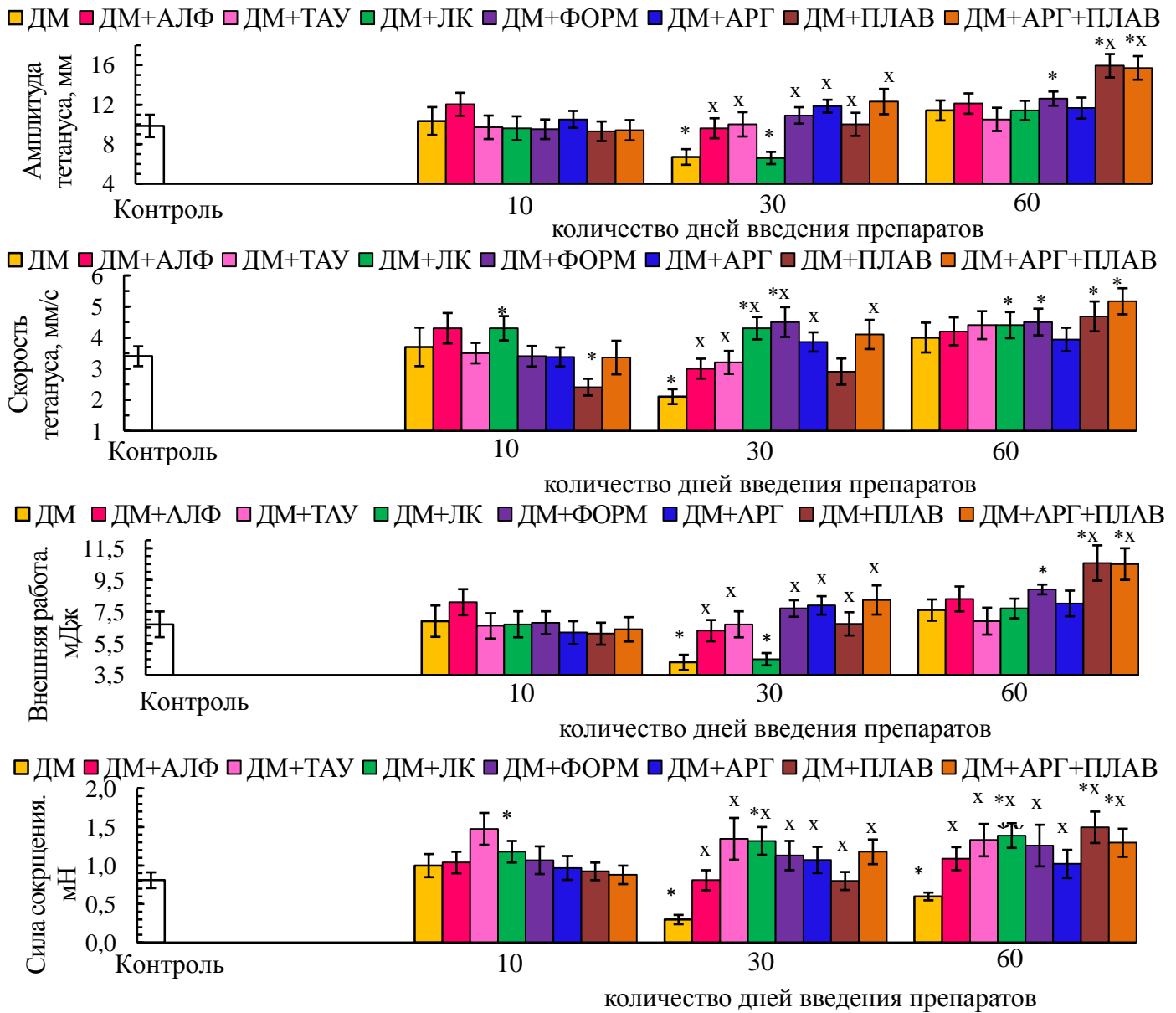


Рисунок 14 – Средние значения параметров тетанического сокращения *m. tibialis anterior* животных, получавших дексаметазон изолированно и в комплексе с компенсирующими средствами, при внешней нагрузке 70 г

Примечания – те же, что и к рисунку 7

Введение альфакальцидола в комплексе с дексаметазоном не предотвратило ухудшения параметров одиночного сокращения мышцы, типичного для ДМ-групп, но ослабило его степень. Во-первых, в первый месяц введения пары препаратов «дексаметазон + альфакальцидол» сохранялось типичное для ДМ-групп уменьшение скорости укорочения при одиночном сокращении (на 31-28 %, $p < 0,05$ относительно контроля), но степень снижения данного показателя была значимо меньше, в сравнении с ДМ-группами ($p < 0,05$); по окончании 2-месячного периода введения дексаметазона с альфакальцидолом скорость укорочения нормализовалась, тогда как в 60ДМ-группе оставалась сниженной. Во-вторых, на протяжении всего 2-месячного периода введения дексаметазона с альфакальцидолом имело место типичное для ДМ-групп уменьшение скорости расслабления мышцы при одиночном сокращении (на 23-26 %, $p < 0,05$ относительно контроля), но степень этого снижения в 30ДМ+АЛФ-группе оказалась значимо меньшей, чем в 30ДМ-группе ($p < 0,05$).

Альфакальцидол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, предотвратил типичное для 30ДМ-группы ухудшение амплитуды, скорости и абсолютной силы мышцы при тетаническом сокращении с большой нагрузкой (70 г), а также внешней ее работы.

Следовательно, эффективность в плане почти полного нивелирования ухудшения амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений мышцы проявили аргинин и его комбинация с физической нагрузкой, антиоксиданты (таурин и α -липоевая кислота) и β_2 -адреноагонист формотерол, тогда как при введении дексаметазона в комплексе с альфакальцидолом или плаванием определенные нарушения сократительной функции мышцы, типичные для ДМ-групп, сохранялись. Коэффициенты эффективности используемых средств в предотвращении нарушения параметров одиночного и тетанического сокращения мышцы приведены на рис. 15, 16.

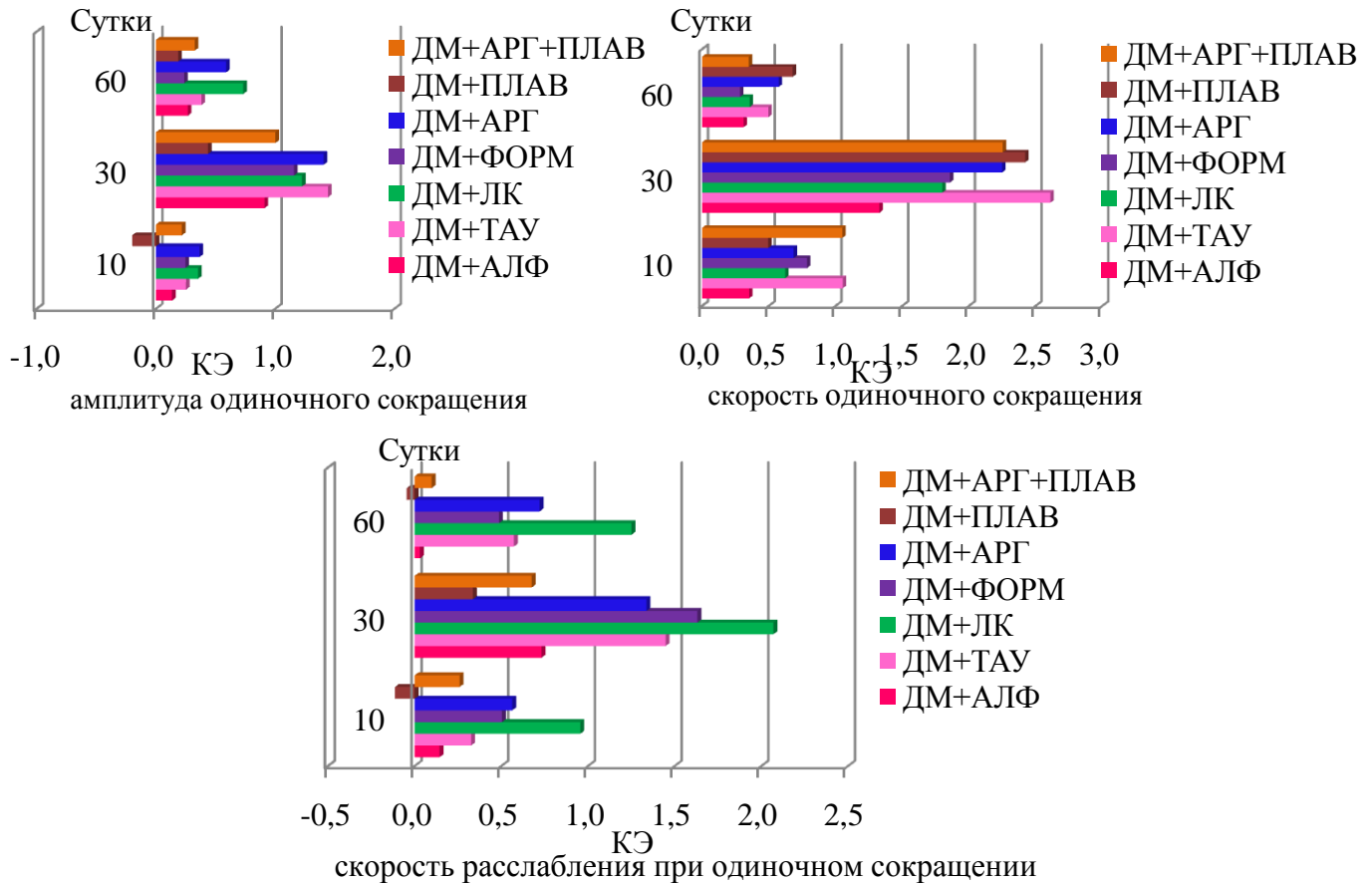


Рисунок 15 – Коэффициент эффективности компенсирующих средств, вводимых в комплексе с дексаметазоном, в ослаблении ухудшения параметров одиночного сокращения *m. tibialis anterior*, в сравнении с изолированным применением дексаметазона

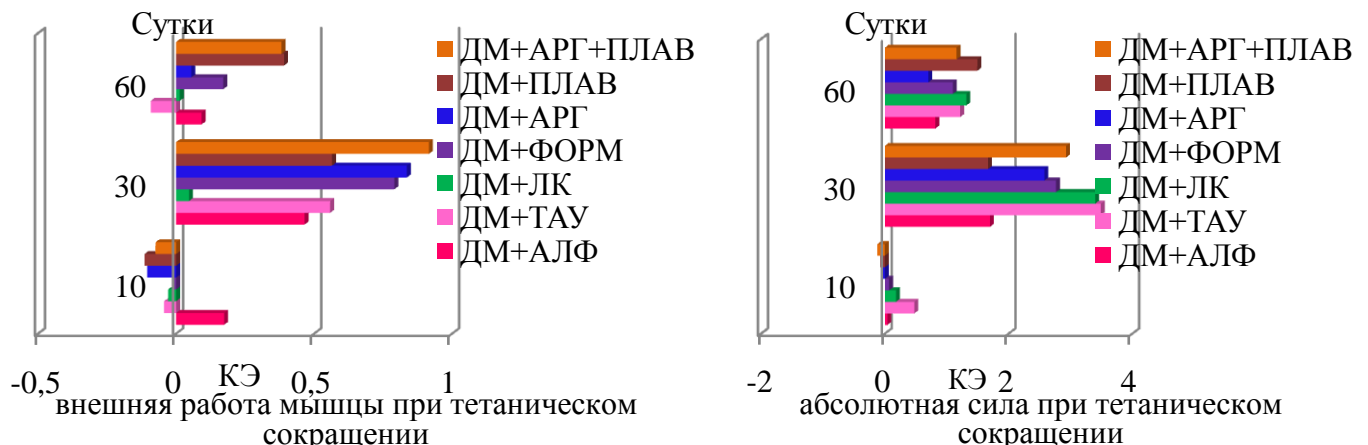


Рисунок 16 – Коэффициент эффективности компенсирующих средств, вводимых в комплексе с дексаметазоном, в ослаблении ухудшения эргометрических параметров *m. tibialis anterior*, в сравнении с изолированным применением дексаметазона

Эффективность в компенсации нарушений работоспособности скелетной мышцы и скорости ее восстановления после утомления. Все используемые средства оказались достаточно эффективными в компенсации повышенной утомляемости мышцы и сниженной скорости ее восстановления после утомления, характерных для ДМ-групп (рис. 17).

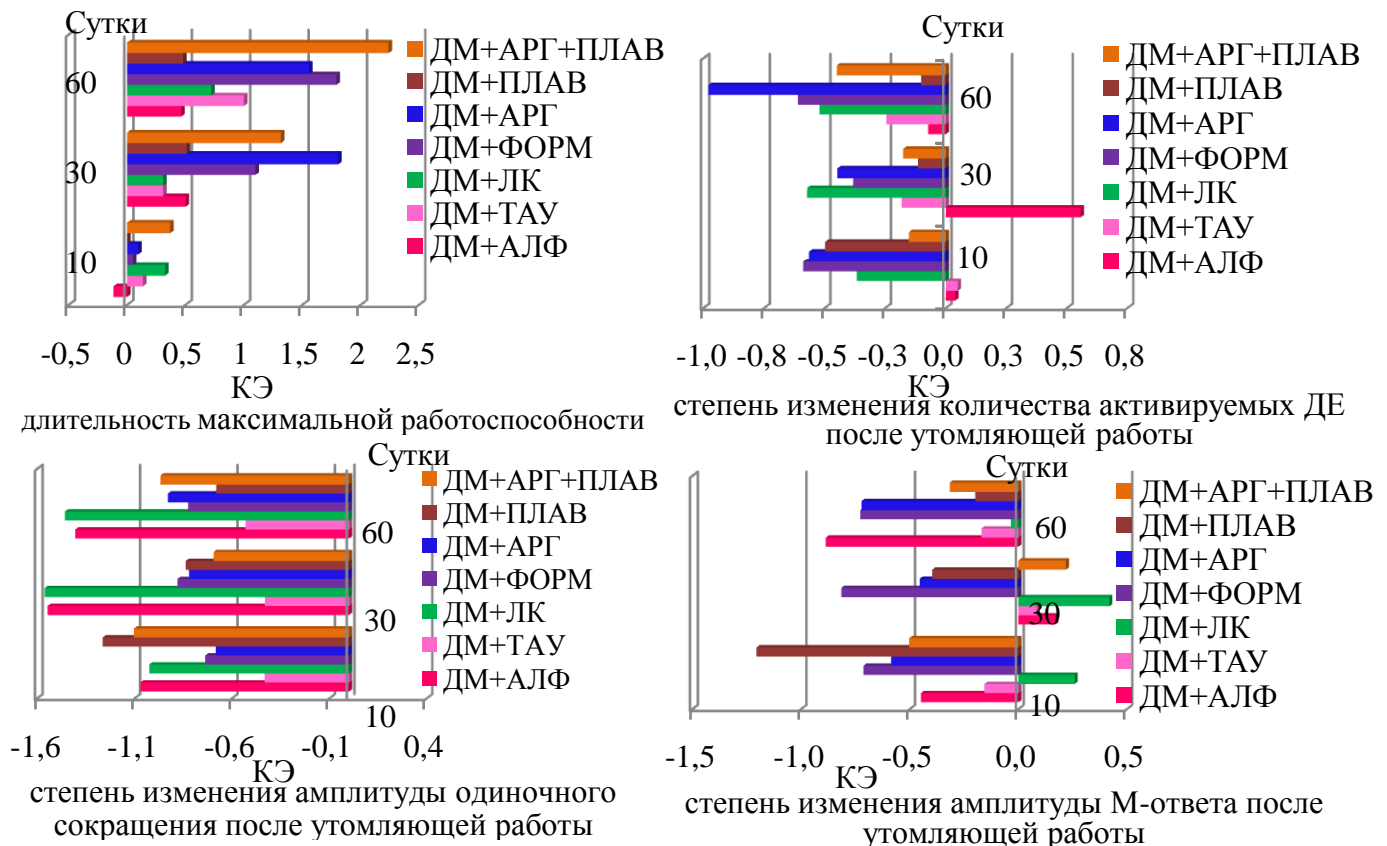


Рисунок 17 – Коэффициент эффективности компенсирующих средств, вводимых в комплексе с дексаметазоном, в ослаблении ухудшения параметров, отражающих работоспособность *m. tibialis anterior* и скорость ее восстановления после утомления, в сравнении с изолированным применением дексаметазона

Во-первых, все используемые средства предотвратили укорочение продолжительности периода максимальной работоспособности мышцы, типичное для 30ДМ- и 60ДМ-групп. Во-вторых, в случае введения дексаметазона в комплексе с большинством из использованных компенсирующих факторов не наблюдалось типичных для ДМ-групп более выраженных, в сравнении с контролем, уменьшения количества активируемых ДЕ и ухудшения параметров М-ответов и одиночных сокращений мышцы после утомляющей работы относительно исходных значений.

Единственным исключением является альфакальцидол. В частности, спустя 30 дней введения пары препаратов «дексаметазон + альфакальцидол», когда при изолированном применении дексаметазона были наиболее выражены признаки миопатии и повышенной утомляемости мышцы, характер изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы после утомляющей работы был во многом аналогичен таковому 30ДМ-группы. Вместе с тем, амплитуда одиночных сокращений мышцы у животных 30ДМ+АЛФ-группы, в отличие от 30ДМ-группы и контроля, не уменьшалась после утомляющей работы ($p > 0,05$ относительно исходного значения). Отсутствие снижения амплитуды одиночных сокращений на фоне некоторого ухудшения параметров М-ответа и уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы после утомляющей работы было типично и для других ДМ+АЛФ-групп и, по всей видимости, свидетельствует в пользу более быстрого, в сравнении с контролем, восстановления электромеханического сопряжения в их мышечных волокнах после утомления, что может быть обусловлено способностью кальцитриола усиливать инфлюкс кальция в мышечных волокнах при возбуждении (Vazquez et al., 2000).

Некоторые из используемых средств, вводимые в комплексе с дексаметазоном (аргинин и его комбинация с плаванием, формотерол и α -липоевая кислота), не просто нивелировали повышенную утомляемость мышцы, типичную для ДМ-групп, а даже обусловили увеличение ее устойчивости к утомлению, в сравнении с контролем, что наблюдалось и при изолированном применении этих средств и проявлялось в меньшем, в сравнении не только с ДМ-группами ($p < 0,05$), но и контролем ($p < 0,05$), ухудшении после утомляющей работы амплитуды М-ответов (в ДМ+АРГ- и ДМ+ФОРМ-группах) или амплитуды одиночных сокращений (в ДМ+АРГ-, ДМ+ПЛАВ-, ДМ+АРГ+ПЛАВ-, ДМ+ФОРМ- и ДМ+ α -ЛК-группах) или количества активируемых ДЕ мышцы (в ДМ+АРГ-, ДМ+ФОРМ- и ДМ+ α -ЛК-группах), а также удлинении относительно контроля ($p < 0,05$) периода максимальной работоспособности мышцы (в ДМ+АРГ-, ДМ+АРГ+ПЛАВ- и ДМ+ФОРМ-группах).

Эффективность в нивелировании изменений функциональных признаков, отражающих профиль скелетной мышцы. Весьма эффективными в предотвращении развития функциональных признаков сдвига профиля скелетной мышцы в окислительную сторону оказались антиоксиданты (таурин и α -липоевая кислота), аргинин и формотерол (рис. 18). В пользу этого свидетельствуют соответствующие контролю значения периода полурасслабления мышцы после тетануса (в ДМ+АРГ-, ДМ+ТАУ- и ДМ+ФОРМ-группах), скорости ее расслабления при одиночном сокращении, степени посттетанического потенцирования и соотношения между амплитудой тетанического и одиночного сокращений в случае применения дексаметазона в комплексе с аргинином или таурином или α -липоевой кислотой или формотеролом. Более того, в ДМ+ α -ЛК-группах продолжительность периода полурасслабления мышцы после тетануса оказалась даже укороченной относительно контроля (на 29-30 %, $p < 0,05$), что было характерно и для α -ЛК-групп и, вероятнее всего, обусловлено способностью α -липоевой кислоты улучшать энергетическое обеспечение и энергообмен в мышечных волокнах (Pashaj, 2015; Kanabus, 2014).

При комплексном применении дексаметазона с плаванием или комбинацией «плавание + аргинин» наблюдались функциональные признаки сдвига профиля мышцы в окислительную сторону, но их природа была иной, чем в ДМ-группах. В пользу этого указывают следующие факты. Скорость расслабления при одиночных сокращениях оказалась сниженной ($p < 0,05$ относительно контроля) на протяжении всего 2-месячного периода экспериментальных воздействий в ДМ+ПЛАВ-группах (на 32-42 %) и спустя 30-60 дней применения комбинации дексаметазона с плаванием и аргинином (на 27-22 %, рис. 13). Кроме того, для ДМ+ПЛАВ- и ДМ+ПЛАВ+АРГ-групп на определенных этапах экспериментальных воздействий было характерно ($p < 0,05$ относительно контроля) удлинение периода полурасслабления мышцы после тетануса (на 29-57 %), уменьшение степени посттетанической потенциации и увеличение соотношения между амплитудой тетануса и одиночных сокращений (до соотношения 5,5:1 – 6,1:1, рис. 18). Все эти признаки косвенно свидетельствуют в пользу увеличения удельной доли медленных или промежуточного типа мышечных волокон в исследуемой мышце и были характерны и для ДМ-групп.

Вместе с тем, в ДМ+ПЛАВ- и ДМ+ПЛАВ+АРГ-группах функциональные признаки сдвига профиля скелетной мышцы отмечались на фоне нормальных (спустя первые 10 дней экспериментальных воздействий) и даже увеличенных, в сравнении с контролем (спустя 30-60 дней экспериментальных воздействий), ее массы (рис. 7) и количества активируемых ДЕ (рис. 8). При этом увеличение массы мышцы и количества активируемых ее ДЕ в ДМ+ПЛАВ- и ДМ+ПЛАВ+АРГ-группах, отмеченное спустя 30-60 дней экспериментальных воздействий, сочеталось с увеличением ($p < 0,05$ относительно контроля) амплитуды М-волны (на протяжении всего 2-месячного периода экспериментальных воздействий, рис. 9), внешней работы и абсолютной силы тетанического сокращения (спустя 60 дней экспериментальных воздействий рис. 14), что косвенно указывает в пользу гипертрофии мышечных волокон, как одной из причин увеличения массы мышцы и улучшения функциональных ее параметров. Данные факты свидетельствуют в пользу того, что основной причиной сдвига профиля скелетной мышцы у животных ДМ+ПЛАВ- и ДМ+АРГ+ПЛАВ-

групп служила динамическая физическая нагрузка, подтверждением чему служит наличие подобных изменений и в ПЛАВ-, и в АРГ+ПЛАВ-группах.

Таким образом, несмотря на компенсацию многих электрофизиологических и сократительных нарушений, вызванных дексаметазоном, у животных, получавших ГК на фоне физической нагрузки или ее комбинации с аргинином, сохранялись функциональные признаки сдвига профиля мышцы в окислительную сторону, обусловленные динамической физической нагрузкой, но при этом повлекшие нарушения некоторых временных параметров сокращения мышцы, что ставит под сомнение эффективность умеренных физических нагрузок аэробного характера для поддержания нормальных функциональных параметров быстрых мышц в условиях ГК-терапии.

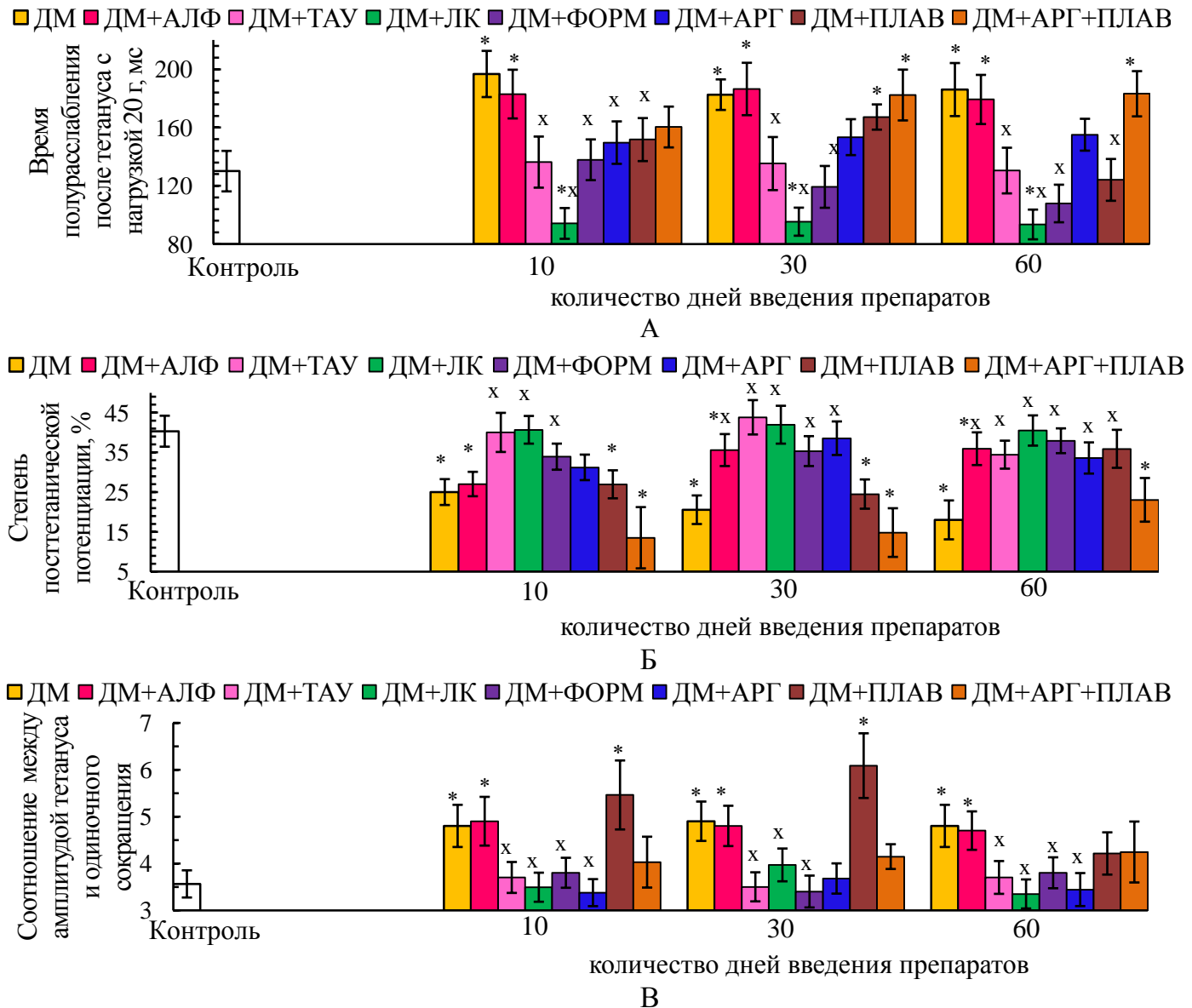


Рисунок 18 – Средние значения продолжительности периода полурасслабления *m. tibialis anterior* после тетануса (А), степени посттетанической потенциации (Б) и соотношения между амплитудой тетануса и одиночного сокращения (В) у животных, получавших дексаметазон изолированно и в комплексе с компенсирующими средствами

Примечания – те же, что и к рисунку 7

Альфакальцидол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, не предотвратил снижение степени посттетанической потенциации, типичное для ДМ-групп, но существенно ослабил выраженность этого снижения у животных, подвергавшихся длительному введению пары препаратов (на протяжении 30 и 60 дней, рис. 18). Вместе с тем, для ДМ+АЛФ-групп было характерно типичное для ДМ-групп увеличение ($p < 0,05$ относительно контроля) соотношения между амплитудой тетанического и одиночного сокращений (до соотношения

4,7:1 – 4,9:1), уменьшение скорости расслабления при одиночных сокращениях (на 23-26 %, рис. 13), а также удлинение периода полурасслабления мышцы после тетануса (на 38-43 %).

Данные факты, с одной стороны, указывают в пользу сохранности сдвига профиля мышцы в окислительную сторону в ДМ+АЛФ-группах. С другой стороны, меньшая в ДМ+АЛФ-группах, в сравнении с ДМ-группами ($p < 0,05$), степень снижения посттетанической потенциации (рис. 18), а также относительно нормальные (соответствующие контролю) значения количества активируемых ДЕ мышцы (рис. 8), амплитуды одиночных (рис. 13) и тетанических сокращений (рис. 14) косвенно свидетельствуют в пользу меньшей степени дистрофических изменений быстрых гликолитических мышечных волокон мышцы животных ДМ+АЛФ-групп, в сравнении с ДМ-группами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что дексаметазон (2 мг/кг), даже после однократного применения, оказывал более выраженное негативное влияние на энергетику мышечного сокращения, в сравнении с гидрокортизоном (50 мг/кг), который, в отличие от дексаметазона, приводил к повышению устойчивости скелетной мышцы к утомлению спустя сутки после введения. Данный факт отчасти согласуется с результатами исследований других специалистов, выявивших способность однократно вводимого гидрокортизона повышать содержание гликогена, глюкозы и жирных кислот в мышечных волокнах, крови и многих других тканях (Fernandez-Sola et al., 1993), тогда как дексаметазон, напротив, вызывает нарушение всех трех типов транспорта глюкозы в мышечные волокна – инсулинзависимого, регулируемого ИФР-I и базального (Gong et al., 2016), что может обуславливать наблюдаемые нами признаки нарушения энергообеспечения сократительного акта. В основе различных эффектов гидрокортизона и дексаметазона на работоспособность мышцы может лежать активация под влиянием различных ГК разных сигнальных биохимических путей в мышечных волокнах, отмеченная в исследованиях других авторов (Farrì et al., 2019).

Подобная закономерность в отношении эффектов естественного и синтетического ГК на работоспособность мышцы была получена и при исследовании долговременных эффектов гидрокортизона (3 мг/кг/сутки, на протяжении 30 дней) и дексаметазона (0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток, на протяжении от 10 до 60 дней). В частности, установлены более выраженные негативные эффекты дексаметазона на работоспособность *m. tibialis anterior*, в сравнении с эффектами естественного ГК. Показано, что длительное введение гидрокортизона приводило к уменьшению возбудимости скелетной мышцы, снижению устойчивости генерации ей М-ответов, ухудшению сократительных и энергетических параметров, но при этом повышению ее устойчивости к утомлению, которое, вероятнее всего, было обусловлено увеличением окислительной активности исследуемой быстрой скелетной мышцы, поскольку сочеталось с ухудшением временных параметров одиночного ее сокращения. Длительно вводимый дексаметазон, наряду с типичным для гидрокортизона, ухудшением ($p < 0,05$ относительно контроля) эргометрических параметров мышцы и КПД мышечной работы, обуславливал и снижение ее устойчивости к утомлению, признаки которого отмечались и спустя сутки после однократного его введения.

Установлен фазный характер функциональных изменений в нервно-мышечном аппарате в динамике развития гиперкортицизма. В частности, показано, что на начальных его этапах (спустя первые 10 дней введения дексаметазона в дозе 0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток), несмотря на ухудшение параметров одиночного сокращения мышцы и ее способности к восстановлению после утомления, выраженных электрофизиологических нарушений и ухудшения эргометрических показателей не возникает, и у части особей (30 %) наблюдаются даже признаки облегчающего эффекта дексаметазона на синаптический аппарат. Но при этом на данном этапе отмечается снижение способности мышцы к восстановлению после утомления, которое и может служить ранним диагностическим признаком развития стероидной миопатии.

Наиболее существенное нарушение функционального состояния скелетной мышцы имеет место спустя 30 дней введения дексаметазона и проявляется ($p < 0,05$ относительно

контроля) в уменьшении количества активируемых ее ДЕ, ухудшении параметров М-ответа, сократительных и эргометрических показателей (при работе мышцы с большими нагрузками), снижении устойчивости мышцы к утомлению и способности к восстановлению после утомления, а также развитию у части особей признаков синаптических расстройств: снижения лабильности синапсов и более высокой их утомляемости, исходной заблокированности синапсов (у 50 % особей), постсинаптических нарушений (у 30 % особей) и снижения надежности синаптической передачи (у 70 % особей).

Известно, что начало стероидной миопатии обычно незаметно, и нет никаких специфических лабораторных данных, однозначно указывающих в пользу ее развития (Shimohata et al., 2006), в связи с нормальными значениями многих параметров, изменяющихся обычно при повреждении мышечной ткани другого генеза. Более того, в литературе имеются сведения относительно нормальных значений биохимических маркеров повреждения мышечной ткани (содержания креатинфосфокиназы и миоглобина в плазме крови) даже при выраженных двигательных или дыхательных нарушениях у больных со стероидной миопатией (Descamer et al., 1992). Кроме того, отсутствуют дифференциальные анатомопатологические признаки стероидной миопатии, позволяющие выявить ее на основании данных биопсии (Perrot et al., 2012). При этом некоторые исследователи (Bird et al., 2002, Неретин и др., 1983) указывают в пользу первичности электрофизиологических расстройств мышечных волокон, возникающих еще до существенных изменений мышечной силы, тогда как другие (Naran et al., 2018; Wilson et al., 2000) наблюдали выраженные функциональные нарушения в определенных мышцах больных ятрогенным гиперкортицизмом без существенных изменений электрофизиологических их параметров.

В наших исследованиях получены данные, указывающие в пользу нормальных значений электрофизиологических и эргометрических параметров скелетной мышцы на начальных этапах развития стероидной миопатии и их существенного ухудшения только при субхроническом введении дексаметазона (спустя 30 дней введения); более того, значимое ухудшение эргометрических параметров мышцы при длительном введении дексаметазона проявляется только при ее работе с большими внешними нагрузками.

По окончании 2-месячного периода введения дексаметазона отмечается нормализация ряда электрофизиологических (амплитуды М-ответа), сократительных (амплитуды одиночного и тетанического сокращений и скорости развития тетануса) и эргометрических (внешней работы) параметров мышцы. Но при этом сохраняются уменьшенными ($p < 0,05$ относительно контроля) абсолютная сила тетанического сокращения (на 32 %) и способность мышцы к восстановлению после утомления и, хоть и реже, чем после 30-дневного периода применения дексаметазона, но наблюдаются признаки нарушений синаптического аппарата – сниженной лабильности и надежности синапсов, пре- и постсинаптических расстройств. При этом сохранность спустя 2-месячный период введения дексаметазона уменьшения ($p < 0,05$ относительно контроля) массы мышцы (на 8 %) и количества активируемых ДЕ (на 40 %) на фоне существенного удлинения М-ответов (на 52 %) при нормальной их амплитуде свидетельствует в пользу того, что некоторая нормализация сократительных параметров мышцы при длительном введении дексаметазона достигалась за счет увеличения плотности ДЕ.

Таким образом, характер функциональной реакции исследуемой передней большеберцовой мышцы в динамике развития гиперкортицизма позволяет заключить, что, во-первых, изменение электрофизиологических параметров мышцы при гиперкортицизме не всегда сопровождается выраженными нарушениями ее сократительной функции, во-вторых, при длительном введении ГК отсутствует полноценная адаптация нервно-мышечного аппарата к ним. В то же время нормализация параметров сократительной функции скелетной мышцы на фоне удлинения М-ответов и нормализации их амплитуды при длительном гиперкортицизме служит хорошим прогностическим признаком, отражающим процесс нормализации функционального состояния мышцы за счет предположительного увеличения плотности ДЕ.

На основании оценки электрофизиологических, сократительных и эргометрических параметров мышцы изучена эффективность средств (селективного β_2 -адреноагониста, антиоксидантов, альфакальцидола, аргинина и умеренной физической нагрузки,

применяемых по отдельности и в комплексе), потенциально способных повлиять на некоторые патогенетические звенья стероидной миопатии, в компенсации повреждающих эффектов дексаметазона (0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток) в динамике развития гиперкортицизма (на протяжении от 10 до 60 дней).

В исследованиях на крысах установлено, что все используемые факторы – селективный β_2 -адреноагонист пролонгированного действия формотерол (1,5 мкг/кг/сутки), таурин (60 мг/кг/сутки), α -липоевая кислота (35 мг/кг/сутки), альфакальцидол (0,06 мкг/кг/сутки), аргинин (100 мг/кг/сутки) и умеренная физическая нагрузка – оказались в некоторой степени эффективными в предотвращении развития стероидной миопатии, но отличались характером своего влияния на скелетную мышцу. Так, комплексное применение дексаметазона с плаванием или комбинацией «плавание + аргинин» не просто предотвратило уменьшение массы мышцы и количества активируемых ее ДЕ, типичное для ДМ-групп, а даже обусловило увеличение этих параметров спустя 30 и 60 дней экспериментальных воздействий ($p < 0,05$ относительно контроля), которое сочеталось с увеличением ($p < 0,05$ относительно контроля) амплитуды М-волны, внешней работы и абсолютной силы тетанического сокращения.

Кроме того, для мышцы животных ДМ+ПЛАВ- и ДМ+ПЛАВ+АРГ-групп была характерна более высокая устойчивость к утомлению и большая скорость ее восстановления после утомления, в сравнении не только с ДМ-группами ($p < 0,05$), но и контролем ($p < 0,05$). Вместе с тем, для мышцы животных ДМ+ПЛАВ- и ДМ+АРГ+ПЛАВ-групп были типичны характерные и для ДМ-групп функциональные признаки сдвига ее профиля в окислительную сторону и соответственно ухудшение некоторых временных параметров сокращения, а на начальных этапах применения дексаметазона с физической нагрузкой отмечалось и снижение амплитудных параметров одиночного и тетанического сокращений мышцы. Аргинин, применяемый в комплексе с физической нагрузкой и дексаметазоном, ослабил первоначальное негативное ее влияние на скелетную мышцу, предотвратив типичное для ДМ+ПЛАВ-группы ухудшение сократительных ее параметров.

Сам по себе аргинин, применяемый в комплексе с дексаметазоном, предотвратил уменьшение массы мышцы и количества активируемых ее ДЕ, ухудшение параметров М-ответа, одиночных и тетанических сокращений, типичное для ДМ-групп. Кроме того, у животных ДМ+АРГ-групп не наблюдалось функциональных признаков изменения профиля скелетной мышцы и соответственно ухудшения скоростных параметров ее сокращения, типичных для ДМ+ПЛАВ- и ДМ+АРГ+ПЛАВ-групп. Наконец, применение аргинина в комплексе с дексаметазоном, подобно физической нагрузке и ее комбинации с аргинином, обусловило повышение устойчивости мышцы к утомлению и скорости ее восстановления после утомления не только в сравнении с ДМ-группами, но и контролем ($p < 0,05$). В то же время у части животных ДМ+АРГ-групп отмечались синаптические расстройства (снижение надежности синаптической передачи, признаки постсинаптических нарушений, а спустя первые 10 дней – и сниженная лабильность синапсов), которые не обусловили существенного ухудшения сократительной функции скелетной мышцы.

В исследованиях других специалистов (Ломоносова и др., 2013, 2011) показана эффективность аргинина в ослаблении выраженности атрофии икроножной и камбаловидной мышц крыс, вызванной их функциональной разгрузкой, которая достигалась предотвращением повышения концентрации некоторых убиквитинлигаз (атрогина-1 и MuRF-1), активации μ -кальпаина и снижения синтеза фермента p70S6-киназы, что предопределяло отсутствие снижения активности ключевого сигнального пути инициации синтеза белка на уровне трансляции Akt – mTOR – S6k.

В наших экспериментах получены данные относительно эффективности аргинина в ослаблении признаков синаптических нарушений, компенсации расстройств сократительной функции передней большеберцовой мышцы и снижения ее работоспособности. При этом аргинин, в отличие от динамической физической нагрузки, не вызывал появления функциональных признаков сдвига профиля скелетной мышцы в окислительную сторону и соответственно ухудшения скоростных параметров ее сокращения. Кроме того, в связи с имеющимися данными относительно возможного снижения активности системы «аргинин –

оксид азота» под действием терапевтических доз ГК (Желнин и др., 2014) дополнительное применение аргинина, как донатора NO, при ГК-терапии является оправданным.

Антиоксиданты – таурин и α -липоевая кислота – оказались весьма эффективными в предотвращении снижения мышечной массы, количества активируемых ДЕ, нарушений параметров М-ответа, одиночных и тетанических сокращений мышцы у животных, получавших дексаметазон. Кроме того, в случае комплексного применения дексаметазона с таурином или α -липоевой кислотой не наблюдались типичные для ДМ-групп функциональные признаки сдвига профиля скелетной мышцы в окислительную сторону, обуславливающие ухудшение временных параметров ее сокращения. И таурин, и α -липоевая кислота компенсировали повышенную утомляемость мышцы и сниженную скорость ее восстановления после утомления, типичные для ДМ-групп, при этом α -липоевая кислота обусловила даже более быстрое, в сравнении с контролем ($p < 0,05$), восстановление электрофизиологических и сократительных параметров мышцы после утомления, что было характерно и для животных, подвергавшихся изолированному ее введению. Более того, α -липоевая кислота, вводимая в комплексе с дексаметазоном, обусловила ($p < 0,05$ относительно контроля) увеличение амплитуды М-ответов на фоне нормальной их длительности, ускорение расслабления при одиночных сокращениях, увеличение скорости развития тетанических сокращений и ускорение полурасслабления мышцы после тетанусов на протяжении всего 2-месячного периода введения пары препаратов, а также увеличение амплитуды одиночных сокращений и массы мышцы спустя 60 дней комплексного применения дексаметазона с α -липоевой кислотой. Вместе с тем, для мышцы животных всех ДМ+ α -ЛК- и ДМ+ТАУ-групп были характерны признаки сниженной надежности синаптической передачи. В то же время, α -липоевая кислота, вводимая в комплексе с дексаметазоном, в 2 раза уменьшила частоту появления патологически значимого декремента амплитуды М-ответов при низкочастотной стимуляции нервно-мышечного аппарата (4 имп/с), в сравнении с ДМ-группами, тогда как таурин такого эффекта не оказывал. Однако, для части животных ДМ+ α -ЛК-групп были характерны признаки постсинаптических нарушений, которые практически не отмечались в ДМ+ТАУ-группах. Вместе с тем, все эти синаптические расстройства не отразились на сократительной функции скелетной мышцы животных ДМ+ α -ЛК- или ДМ+ТАУ-групп. Более того, многие параметры сократительной функции мышцы в ДМ+ α -ЛК-группах (абсолютная сила тетанического сокращения, его скорость, амплитуда и скорость расслабления при одиночном сокращении) были даже лучшими, в сравнении с контролем ($p < 0,05$).

Эффективность таурина в ослаблении индуцированной дексаметазоном атрофии мышечных волокон была подтверждена только в исследованиях *in vitro* на миотрубках C2C12 (Uozumi et al., 2006), а эффективность α -липоевой кислоты при ГК-терапии оценивалась другими исследователями только в отношении ослабления оксидативного стресса (Eisenhousey et al., 2018) и предотвращения гипергликемии и гиперлипемии (Mohammed et al., 2019), вызванных введением дексаметазона. В наших исследованиях на лабораторных животных впервые показана высокая эффективность таурина и α -липоевой кислоты в предотвращении как электрофизиологических расстройств, так и нарушений сократительной функции и работоспособности передней большеберцовой мышцы на разных этапах развития дексаметазонового гиперкортицизма. Кроме того, α -липоевая кислота, вводимая в комплексе с дексаметазоном, ослабила признаки нейропатических нарушений и не просто нивелировала повышенную утомляемость скелетной мышцы, а даже обусловила некоторое повышение ее устойчивости к утомлению и скорости восстановления после утомления.

Формотерол оказался весьма эффективным средством в компенсации как нарушений синаптической передачи, так и сократительных расстройств скелетной мышцы, вызванных длительным введением дексаметазона. При этом, в отличие от физической нагрузки, он не обусловил появление функциональных признаков сдвига профиля мышцы в окислительную сторону и противодействовал такому сдвигу под действием длительно вводимого дексаметазона. Более того, некоторые преимущественно скоростные параметры тетанического сокращения мышцы, а также ее устойчивость к утомлению и скорость восстановления после утомления улучшались под действием формотерола не только в

сравнении с ДМ-группами ($p < 0,05$), но и контролем ($p < 0,05$). В частности, для ДМ+ФОРМ-групп было характерно увеличение ($p < 0,05$ относительно контроля) скорости тетануса и его амплитуды. Уменьшение же массы мышцы спустя 60 дней комплексного применения дексаметазона с формотеролом ($p < 0,05$ относительно контроля) не было вызвано дистрофическими изменениями мышечных волокон, поскольку сочеталось с относительно нормальными значениями количества активируемых ДЕ мышцы, повышенной ее внешней работой ($p < 0,05$ относительно контроля) и нормальной абсолютной силой тетанического сокращения. В связи с этим наиболее вероятной причиной снижения массы мышцы у животных 60ДМ+ФОРМ-группы является липолитический эффект формотерола на скелетные мышцы, обнаруженный в исследованиях других специалистов (Kim et al., 2019).

Бета-адренергический сигнальный путь в настоящее время рассматривается как новая терапевтическая мишень для лечения истощения и слабости скелетных мышц из-за его роли в механизмах, контролирующих синтез и деградацию белка, и модуляции типа волокон. Стимуляция этого пути β -агонистами имеет терапевтический потенциал при мышечных дистрофиях различного генеза, в том числе обусловленных терапевтическими дозами ГК (Gonçalves et al., 2019; Jesinkey et al., 2014; Koopman et al., 2010). Выявлена способность β_2 -адреноагонистов активировать путь PGC-1 α -4 – ИФР-I – Akt – mTOR – p-S6 и увеличивать фосфорилирование FoxO3a, что приводит к ослаблению экспрессии атрогенов (Gonçalves et al., 2019; Gómez-SanMiguel et al., 2016), изменять гистохимический профиль мышц путем увеличения экспрессии гена, кодирующего изоформу тяжелого миозина быстрого типа (IIb) (Sirvent et al., 2014), индуцировать митохондриальный биогенез (Scholpa et al., 2019). Все эти эффекты β_2 -адреноагонистов, выявленные преимущественно *in vitro*, должны обеспечить компенсацию не только ГК-индуцированной дистрофии мышечных волокон, но и многих других проявлений стероидной миопатии. При этом, согласно литературным данным, β_2 -адреноагонист нового поколения формотерол может вызывать анаболический ответ в скелетных мышцах в дозах, гораздо более низких, чем бета-агонисты старого поколения (такие как фенотерол и кленбутерол), с меньшим воздействием на сердце и сердечно-сосудистую систему (Ryall et al., 2008), что обуславливает большую его безопасность в сравнении с кленбутеролом.

В наших исследованиях на лабораторных животных показана эффективность наномолярных доз формотерола (1,5 мкг/кг) в компенсации нарушений состояния синаптической передачи, сократительных параметров и работоспособности *m. tibialis anterior*.

Альфакальцидол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, предотвратил исходную заблокированность синапсов и ухудшение амплитудных и временных параметров тетанического сокращения скелетной мышцы, типичное для ДМ-групп. Вместе с тем, альфакальцидол не смог полностью предотвратить развитие признаков повышенной утомляемости мышцы (спустя 30 дней введения пары препаратов), уменьшение надежности синаптической передачи, развитие постсинаптических нарушений и ухудшение параметров одиночного ее сокращения, типичные для ДМ-групп. Кроме того, у животных ДМ+АЛФ-групп отчасти сохранялись признаки нейропатических изменений (появление полифазных М-ответов увеличенной длительности и амплитуды) и сдвига профиля скелетной мышцы в окислительную сторону, типичные для ДМ-групп, но их выраженность была меньшей, чем в ДМ-группах ($p < 0,05$). Данные факты не позволяют рассматривать альфакальцидол как высокоэффективное средство в компенсации стероидной миопатии, однако, учитывая возможный дефицит кальцитриола в организме при длительной ГК-терапии, применение витамина D или его частично активированных форм является оправданным, в том числе для компенсации ГК-индуцированных гипокальциемии (Kinoshita et al., 2008) и остеопороза (Lakatos et al., 2000), гипергликемии и гиперлипемии (Elattar et al., 2017).

Полученные результаты относительно высокой (сравнимой с таковой β_2 -адреноагониста формотерола) эффективности безопасных для организма человека средств – аргинина, таурина и α -липоевой кислоты – в ослаблении повреждающих эффектов дексаметазона на периферическое звено нервно-мышечного аппарата позволяют рекомендовать их в качестве перспективных препаратов для дальнейших клинических испытаний с целью компенсации стероидной миопатии. Учитывая безопасность этих

средств для животного организма, допустимо дальнейшее их испытание с целью компенсации миопатий различного генеза.

ВЫВОДЫ

1. Эффекты экзогенных ГК на периферическое звено нервно-мышечного аппарата характеризуются определенными особенностями, зависимыми как от длительности их введения, так и от типа стероида: дексаметазон оказывает более выраженное негативное влияние на энергетическое обеспечение сократительного акта как при однократном, так и при длительном введении, в сравнении с гидрокортизоном. Длительное введение и гидрокортизона, и дексаметазона сопровождается выраженными нарушениями параметров М-ответа, состояния синаптической передачи и сократительной функции скелетной мышцы. При субхроническом введении дексаметазона в постоянной дозе отсутствует полноценная адаптация нервно-мышечного аппарата, но нормализация параметров сократительной функции скелетной мышцы достигается за счет предположительного увеличения плотности ДЕ. Аргинин, таурин и α -липоевая кислота, подобно β_2 -адреноагонисту формотеролу, эффективно компенсируют дексаметазон-индуцированные функциональные мышечные нарушения у крыс.

2. Положительное эрготропное действие на *m. tibialis anterior* крыс, проявляющееся в увеличении объема внешней работы и мощности сокращения, оказывает гидрокортизон (50 мг/кг; спустя 1 час после введения) на фоне укорочения периода максимальной работоспособности мышцы, через сутки после его введения наблюдается повышение устойчивости мышцы к утомлению на фоне нормализации эргометрических параметров; дексаметазон (2 мг/кг) вызывает уменьшение максимальной работоспособности мышцы и КПД мышечной работы. Длительное введение гидрокортизона (30 суток, 3 мг/кг/сутки) приводит к существенному ухудшению сократительных и энергетических параметров мышцы, снижению возбудимости нервно-мышечного аппарата, объема внешней работы и синаптическим нарушениям (снижению надежности и лабильности синапсов, исходной их заблокированности), но при этом увеличению устойчивости мышцы к утомлению. Субхроническое введение дексаметазона (20 – 60 дней; 0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток) вызывает ухудшение не только эргометрических и энергетических параметров скелетной мышцы, но и ее устойчивости к утомлению.

3. Формирование нервно-мышечных нарушений в динамике развития дексаметазонового гиперкортицизма происходит в следующей последовательности: наиболее ранним диагностическим признаком стероидной миопатии служит снижение способности мышцы к восстановлению после утомления, тогда как наиболее типичными функциональными признаками выраженной стероидной миопатии являются снижение надежности синаптической передачи, ухудшение параметров М-ответа, эргометрических показателей (при работе мышцы с большими нагрузками) и устойчивости мышцы к утомлению. После субхронического (60 дней) введения дексаметазона отмечается нормализация сократительных параметров мышцы на фоне уменьшенных ее массы, количества активируемых ДЕ и абсолютной силы тетанического сокращения, а также существенного расширения М-волны при нормализации ее амплитуды, что указывает в пользу предположительного увеличения плотности ДЕ.

4. Альфакальцидол (0,06 мкг/кг/сутки), применяемый в комплексе с дексаметазоном (0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток), предотвратил уменьшение количества активируемых ДЕ мышцы и ее массы, ухудшение параметров М-ответа и эргометрических показателей, существенно ослабил выраженность синаптических расстройств, но не предотвратил ухудшения некоторых параметров одиночного сокращения мышцы (скорости укорочения и расслабления), развитие признаков повышенной ее утомляемости (спустя 30 дней введения пары препаратов) и нейропатических изменений нервно-мышечного аппарата.

5. Таурин (60 мг/кг/сутки) и α -липоевая кислота (35 мг/кг/сутки), применяемые в комплексе с дексаметазоном (0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток), предотвратили уменьшение массы и количества активируемых ДЕ мышцы, ухудшение параметров М-ответа, сократительных и эргометрических показателей и снижение устойчивости мышцы к утомлению, а также существенно ослабили признаки синаптических и нейропатических нарушений.

6. Формотерол (1,5 мкг/кг/сутки), вводимый в комплексе с дексаметазоном (0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток), предотвратил уменьшение количества активируемых ДЕ мышцы, ухудшение параметров М-ответа, ослабил выраженность синаптических расстройств, улучшил устойчивость скелетной мышцы к утомлению и скорость восстановления после утомляющей работы, а также параметры тетанического сокращения мышцы, но не предотвратил появления признаков нейропатических изменений.

7. Аргинин (100 мг/кг/сутки) и умеренная физическая нагрузка (аэробного характера), применяемые в комплексе с дексаметазоном (0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток) в сочетании и по отдельности, предотвратили уменьшение массы и количества активируемых ДЕ мышцы, ухудшение параметров М-ответа, снижение работоспособности мышцы и скорости ее восстановления после утомления. Все эти факторы существенно ослабили, в сравнении с ДМ-группами, выраженность синаптических расстройств; аргинин полностью компенсировал ухудшение скоростных и эргометрических параметров мышцы, тогда как в случае применения дексаметазона в комплексе с плаванием или комбинацией «плавание+аргинин» отмечалось ухудшение скоростных параметров сокращения мышцы и на начальных этапах применения дексаметазона с физической нагрузкой – снижение амплитудных параметров одиночного и тетанического ее сокращения.

8. Аргинин, таурин и α -липоевая кислота проявили в компенсации дексаметазон-индуцированных мышечных нарушений у крыс высокую эффективность, сравнимую с таковой β_2 -адреноагониста формотерола, возможность широкого применения которого ограничена, прежде всего, его побочными эффектами на сердечно-сосудистую систему. Альфакальцидол не проявил высокой эффективности в компенсации стероидной миопатии, но обусловил менее выраженные, в сравнении с изолированным применением дексаметазона, нарушения функциональных параметров скелетной мышцы. Умеренная физическая нагрузка и ее комбинация с аргинином, применяемые в комплексе с дексаметазоном, обуславливали ухудшение скоростных параметров сокращения *m. tibialis anterior* на фоне первоначального ухудшения показателей одиночного и тетанического ее сокращений у животных, получавших дексаметазон в комплексе с плаванием, что ставит под сомнение эффективность физической нагрузки аэробного характера для поддержания нормальных функциональных параметров быстрых мышц в условиях длительного введения ГК.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах данных (Web of Science, Scopus, PubMed, MathSciNet, zbMATH, Chemical Abstracts, Springer)

1. Труш В.В., Соболев В.И. Эффективность α -липоевой кислоты в компенсации электрофизиологических проявлений стероидной миопатии в экспериментах на животных // **Экспериментальная и клиническая фармакология**. – 2021. – Т. 84, №12. – С. 45-53.

2. Труш В.В., Соболев В.И. Влияние длительного применения дексаметазона на электрофизиологические параметры скелетной мышцы крыс в покое и при развитии утомления // **Экспериментальная и клиническая фармакология**. – 2018. – Т. 81, №5. – С. 21-26.

3. Труш В.В., Соболев В.И., Попов М.Н. Оценка эффективности аргинина в компенсации стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением дексаметазона // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия**. – 2018. – Т.62, №4. – С. 120-129.

4. Труш В.В., Соболев В.И. Модулирующее влияние адреналина на развитие стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением гидрокортизона // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия**. – 2017. – Т.61, №4. – С. 104-111.

5. Труш В.В., Соболев В.И. Влияние ятрогенного гиперкортицизма, индуцируемого длительным введением дексаметазона, на энергетику мышечного сокращения у белых крыс // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия**. – 2016. – Т. 60, № 4. – С. 39-46.

6. Труш В.В., Соболев В.И. Амплитудно-частотная зависимость М-ответа скелетной мышцы крыс с экспериментальным гиперкортицизмом // **Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова**. – 2015. – Т.101, №7. – С. 829-842.

7. Trush V.V., Sobolev V.I., Litvyak K.A., and Morozova I.N. Frequency Dependence of the M Response of the Rat M. Tibialis in the Norm and Experimental Hyperthyroidism and Hypercorticoidism // **Neurophysiology**. – 2015. – Vol. 47, №1, February. – P. 53-61.

8. Труш В.В., Соболев В.И. Модуляція тироксином ефектів дексаметазону на скелетний м'яз білих щурів // **Фізіологічний журнал**. – 2014. – Т. 60, №4. – С. 87-96.
9. Труш В.В., Соболев В.И. Влияние тироксина на проявление эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы белых крыс // **Рос.физиол.журн. им. И.М. Сеченова**. – 2013. – Т. 99, № 9. – С. 1067-1076.
10. Труш В.В., Соболев В.И. Модуляція тестостероном ефектів дексаметазону у скелетному м'язі щурів // **Фізіологічний журнал**. – 2013. – Т. 59, № 1. – С. 47-55.

Переводная версия статьи:

Trush V.V., Sobolev V.I. Modulation of Dexamethasone-Induced Effects on the Rat Skeletal Muscles by Testosterone // **International Journal of Physiology and Pathophysiology**. – 2013. – 4 (4). – P. 285-295. doi: 10.1615/intjphyspathophys.v4.i4.20

Публикации в рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК РФ

1. Труш В.В., Соболев В.И. Эффективность аргинина, умеренной физической нагрузки и их комбинации в компенсации нарушений синаптической передачи, вызванных введением дексаметазона // **Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия**. – 2023. – Т. 9 (75), № 1. – С. 235-249.
2. Труш В.В., Соболев В.И. Модуляція аргинином, умеренной физической нагрузкой и их комбинацией эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы крыс // **Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия**. – 2022. – Т. 8 (74), № 4. – С. 259-274.
3. Труш В.В., Соболев В.И. Модуляція альфакальцидолом некоторых электрофизиологических проявлений стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных // **Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия**. – 2022. – Т. 8 (74), № 2. – С. 198-217.
4. Труш В.В., Соболев В.И. Оценка в экспериментах на животных эффектов длительно вводимого альфакальцидола на функциональное состояние скелетной мышцы // **Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского Биология. Химия**. – 2021. – Том 7 (73), № 1. – С. 201-217.
5. Труш В.В., Соболев В.И. Эффективность альфакальцидола в компенсации нарушений сократительной функции скелетной мышцы при дексаметазоновом гиперкортицизме в экспериментах на крысах // **Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского Биология. Химия**. – 2020. – Том 6 (72), № 4. – С. 151-165.
6. Труш В.В., Соболев В.И. Эффекты длительно вводимой α -липоевой кислоты на нервно-мышечный аппарат в модельных экспериментах на животных // **Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского Биология. Химия**. – 2019. – Том 5 (71), № 4. – С. 158-181.
7. Труш В.В., Соболев В.И. Модуляція β_2 -адреноагонистом формотеролом нарушений сократительной функции скелетной мышцы белых крыс, вызванных длительным введением дексаметазона // **Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия**. – 2018. – Т. 4(70), №4. – С. 219-236.
8. Труш В.В., Соболев В.И. Сравнительная оценка влияния длительно вводимого адреналина и селективного β_2 -адреноагониста формотерола на функциональное состояние скелетной мышцы белых крыс // **Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия**. – 2018. – Т. 4(70), №1. – С. 118-136.
9. Труш В.В., Соболев В.И. Оценка характера влияния длительно вводимого аргинина на функциональное состояние скелетной мышцы белых крыс // **Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия**. – 2017. – Том 3 (69), № 4. – С. 230–243.
10. Труш В.В., Соболев В.И. Модуляція таурином стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением дексаметазона // **Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины**. – 2017. – Т.7. – №2. – С. 108-118.

Статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Украины, и приравненных к работам в журналах, включенных в Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук (постановление правительства Российской Федерации от 18.03.2023 г. №415)

1. Труш В.В. Вплив тироксину на стан нервово-м'язової передачі в скелетному м'язі білих щурів // **Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія**. – 2013. – 1(61). – С. 7-13.
2. Труш В.В., Кметко И.Л., Морозова И.Н., Соболев В.И. Влияние экспериментального гиперкортицизма и гипертиреоза на устойчивость генерации М-ответа передней большеберцовой мышцы белых крыс // **Вісник проблем біології і медицини**. – 2013. – Т.1, Вип.4. – С. 213-219.

3. Труш В.В. Сравнительный анализ влияния стероидного и нестероидного анаболиков на функциональное состояние скелетной мышцы белых крыс // **Вісник Донецького національного університету**. – 2012. – № 1. – С. 200-208.
4. Труш В.В., Соболев В.І. Дослідження функціонального стану скелетного м'яза білих щурів у процесі хронічного введення тестостерон-пропіонату // **Одесский медицинский журнал**. – 2012. – №1. – С. 22-26.
5. Труш В.В. Модулирующее влияние анаболиков на проявление эффектов дексаметазона на нервно-мышечную передачу у белых крыс // **Вісник проблем біології і медицини**. – 2012. – Вип. 2, том 1 (92). – С. 95-100.
6. Труш В.В. Вплив нестероїдного анаболіка інозину на прояв ефектів дексаметазону на скелетний м'яз білих щурів // **Біологічні Студії / Studia Biologica** – 2012. – Том 6, №2. – С. 127–138.
7. Труш В.В. Вплив помірних фізичних навантажень, що моделювалися шляхом примусового плавання, на функціональний стан локомоторного скелетного м'яза білих щурів // **Світ медицини та біології**. – 2011. – №2. – С. 61-67.
8. Труш В.В. Характер функциональных изменений в скелетной мышце белых крыс по мере увеличения количества инъекций дексаметазона, вводимых в терапевтической дозе // **Вісник проблем біології і медицини**. – 2011. – Вип. 1. – С. 176-183.
9. Труш В.В. Вплив дексаметазону, який хронічно вводили, на стан синаптичної передачі в скелетному м'язі білих щурів // **Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія**. – 2011. – №2. – С. 38-41.
10. Труш В.В. Влияние хронического введения дексаметазона в сверхфизиологической дозе на некоторые параметры мышечного сокращения у белых крыс // **Вісник проблем біології і медицини**. – 2008. – Вип. 3. – С. 34-40.
11. Труш В.В. Влияние однократных сверхфизиологических доз гидрокортизона на некоторые параметры мышечного сокращения у белых крыс // **Вісник проблем біології і медицини**. – 2008. – Вип. 4. – С. 129-135.
12. Труш В.В. Влияние хронического введения гидрокортизона в сверхфизиологической дозе на энергетику мышечного сокращения у белых крыс // **Український медичний альманах**. – 2008. – Том 11, №5. – С. 177-180.

Патент на изобретения

1. Труш В.В., Соболев В.И. Способ коррекции стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных / Патент на изобретение, № заявки 2022125635 от 29.09.22. – М.: Роспатент, 2022. – 70 с.

Публикации в научных изданиях, не входящих в перечень ВАК РФ

1. Труш В.В., Соболев В.И. Модуляция альфакальциолом эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы белых крыс // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия**. – 2021. – Т.65, №2. – С. 53-66.
2. Труш В.В., Соболев В.И. Эффективность α -липоевой кислоты в компенсации расстройств сократительной функции скелетной мышцы, вызванных длительным введением дексаметазона, в модельных экспериментах на животных // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия**. – 2020. – Т. 64, №4. – С. 69-78.
3. Труш В.В., Соболев В.И. Оценка эффективности β_2 -адреноагониста формотерола в компенсации электрофизиологических проявлений стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия**. – 2019. – Т.63, №3. – С. 35-47.
4. Труш В.В., Попов В.Ф., Труш В.И. Оценка в модельных экспериментах на животных характера влияния длительно вводимого таурина на функциональное состояние скелетной мышцы // **Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона**. – 2018. – № 3–4. – С. 116-125.
5. Труш В.В., Соболев В.И. Влияние дексаметазона на проявление электромиографических эффектов адреналина в скелетной мышце белых крыс // **Вестник ВГУ. Серия Химия. Биология. Фармация**. – 2017. – №1. – С. 111-117.
6. Труш В.В. Коррекция инозином стероидной миопатии у белых крыс // **Актуальные проблемы естественнонаучного образования, защиты окружающей среды и здоровья человека**. – 2016. – Т. 2, №2. – С. 363-373.
7. Труш В.В. Характеристика эффектов адреналина на энергетику сокращения скелетной мышцы крыс в динамике развития ятрогенного гиперкортицизма // **Актуальные проблемы естественнонаучного образования, защиты окружающей среды и здоровья человека**. – 2016. – Т. 2, №2. – С. 373-380.
8. Труш В.В., Соболев В.И. Влияние адреналина, вводимого в период острого опыта, на функциональные параметры работающей скелетной мышцы белых крыс и ее устойчивость к утомлению // **Ученые записки Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия»**. – 2015. – Т. 1 (67), №1. – С. 145-160.

9. Труш В.В. Влияние хронического введения инозина на функциональное состояние скелетной мышцы белых крыс // **Проблемы экологии и охраны природы техногенного региона: Межведомственный сборник научных работ** / Отв. ред. С.В. Беспалова. – Донецк: ДонНУ, 2011. – № 1 (11). – С. 348-356.

10. Труш В.В. Острый эффект дексаметазона на некоторые параметры функционального состояния скелетной мышцы белых крыс // **Проблеми ендокринної патології**. – Харків, Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського, 2010. – №2. – С. 94-102.

11. Труш В.В. Влияние умеренной физической нагрузки на проявление эффектов хронически вводимого дексаметазона на скелетную мышцу белых крыс // **Казанская наука**. – Казань: Изд-во Казанский Издательский Дом, 2010. – №9. – Вып. 1. – С. 69-75.

Публикации в сборниках материалов международных конференций

1. Труш В.В., Соболев В.И. Эффективность аргинина, умеренной физической нагрузки и их комбинации в компенсации электрофизиологических нарушений, вызванных введением дексаметазона // **Донецкие чтения 2022: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности: Материалы VII Международной научной конференции, посвященной 85-летию Донецкого национального университета (Донецк, 27-28 октября 2022 г.)**. – Том 3: Биологические и химические науки, медицина, экология / под общей редакцией проф. С.В. Беспаловой. – Донецк: Изд-во ДонНУ, 2022. – С. 246-250.

2. Труш В.В., Соболев В.И. Оценка в модельных экспериментах на животных эффективности альфакальцидола в компенсации электрофизиологических проявлений стероидной миопатии // **Донецкие чтения 2021: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности: Материалы VI Международной научной конференции (Донецк, 28-29 октября 2021 г.)**. – Том 3: Биологические и медицинские науки, экология / под общей редакцией проф. С.В. Беспаловой. – Донецк: Изд-во ДонНУ, 2021. – С. 312-315

3. Труш В.В., Соболев В.И. Оценка в экспериментах на животных эффективности α -липоевой кислоты в компенсации стероидной миопатии // **Здоровье человека в XXI веке. XII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием: Сборник научных статей. Казань, 28-29 октября 2020 г.** / Под общей редакцией профессора Ксембаева С.С. – Казань: ИД «МеДДоК», 2020. – С. 566-570.

4. Труш В.В., Соболев В.И. Модуляция α -липоевой кислотой эффектов длительно вводимого дексаметазона на скелетную мышцу белых крыс // **Донецкие чтения 2020: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности: Материалы V Международной научной конференции (Донецк, 17-18 ноября 2020 г.)**. – Том 2: Химико-биологические науки / под общей редакцией проф. С.В. Беспаловой. – Донецк: Изд-во ДонНУ, 2020. – С. 370-375.

5. Труш В.В., Соболев В.И. Эффекты длительно вводимой α -липоевой кислоты на нервно-мышечный аппарат в модельных экспериментах на животных // **Донецкие чтения 2019: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности: Материалы IV Международной научной конференции (Донецк, 31 октября 2019 г.)**. – Том 2: Химико-биологические науки / под общей редакцией проф. С.В. Беспаловой. – Донецк: Изд-во ДонНУ, 2019. – С. 409-412.

6. Труш В.В. Оценка в экспериментах на животных эффектов длительно вводимого β_2 -адреноагониста формотерола на функциональное состояние скелетной мышцы смешанного типа // **Материалы X международной научно-практической интернет-конференции «Состояние здоровья: медицинские, социальные и психолого-педагогические аспекты» (25-29 ноября 2019 г., Чита)** – Чита, 2019. – С. 237-246. http://zabgu.ru/php/x_conference.php

7. Труш В.В., Соболев В.И. Сравнительная оценка влияния длительно вводимых адреналина и формотерола на функциональное состояние скелетной мышцы белых крыс // **Донецкие чтения 2018: образование, наука, инновации, культура и вызовы современности: Материалы Международной научной конференции (Донецк, 25 октября 2018 г.)**. – Том 2: Химико-биологические науки / под общей редакцией проф. С.В. Беспаловой. – Донецк: Изд-во ДонНУ, 2018. – С. 339-342.

8. Труш В.В. Влияние дексаметазона на проявление эффектов адреналина на сократительные параметры скелетной мышце белых крыс // **Экология. Здоровье. Спорт: сборник научных статей VII Международной науч.-практ. конф.** / Забайкал. гос. ун-т. – Чита, 2017. – С. 455-464.

9. Труш В.В. Модулирующее влияние тироксина на проявление эффектов дексаметазона на скелетную мышцу белых крыс // **Сборник статей шестой международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (22-23 мая, Санкт-Петербург, Россия)**. – Санкт-Петербург: Издательство Политехнического университета, 2014. – С. 192-194.

10. Труш В.В. Модуляція тироксином впливів дексаметазону на скелетний м'яз білих щурів // **Матеріали XIX з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка / Фізіологічний журнал**. – 2014. – Т.60, №3 (додаток). – С. 160.

11. Труш В.В. Вплив дексаметазону на прояв ефектів адреналіну на скелетний м'яз // **VII Міжнародна наукова конференція, присвячена 180-річчю Київського національного університету**

імені Тараса Шевченка та 120-річчю від дня народження А.І. Ємченка «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі та патології» (Україна, Київ, 7-9 жовтня 2014 р.). – К.: Логос. – С. 153.

12. Труш В.В. Вплив адреналіну, що вводився впродовж гострого досліду, на функціональний стан скелетного м'яза та його стійкість до стомлення // Міжнародна наукова конференція «Механізми функціонування фізіологічних систем», приурочена до 70-ліття біологічного факультету та 230-ліття фізіології у Львівському університеті, Львів (15-17 жовтня 2014 р.). – С. 82-83.

13. Труш В.В. Некоторые данные электромиографического исследования эффективности анаболических препаратов для сглаживания негативных эффектов дексаметазона на состояние синаптической передачи в скелетной мышце белых крыс // VII Международный симпозиум «Актуальные проблемы биофизической медицины». Материалы международного симпозиума 17-20 мая 2012 г. – Киев, 2012. – С. 142-143.

14. Труш В.В. Влияние стероидного и нестероидного анаболиков на функциональное состояние скелетной мышцы белых крыс // VI Конгресс патофізіологів України з міжнародною участю «Від експериментальних досліджень до клінічної патофізіології» (Симферополь-Ялта, 3-5 октября 2012 г.) / Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, №3, ч 2 (№9) – С. 385.

15. Труш В.В. Сравнительный анализ влияния дексаметазона и тестостерона на сократительную способность скелетной мышцы белых крыс // Научные труды III Съезда физиологов СНГ. — Под ред. А.И. Григорьева, О.А. Крышталя, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили. — М.: Медицина-Здоровье, 2011. — С. 185-186.

16. Труш В.В. Особливості гострого і хронічного впливу дексаметазону на деякі показники функціонального стану скелетного м'яза білих щурів // Матеріали XVIII з'їзду Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю // Фізіологічний журнал. – 2010. – Т. 56, №2. – С. 154-155.

17. Труш В.В. Влияние хронического введения дексаметазона в терапевтической дозе на некоторые параметры функционального состояния скелетной мышцы белых крыс // Физиологические механизмы адаптации человека: Материалы международной научно-практической конференции, г. Тюмень, 26 октября 2010 г./ Науч. ред. В.С. Соловьев. – Тюмень, изд-во «Лаконика», 2010. – С. 142-144.

18. Труш В.В. Влияние однократных сверхфизиологических доз гидрокортизона и дексаметазона на некоторые параметры функционального состояния скелетной мышцы белых крыс // IV Міжнародна наукова конференція "Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології": Тези доповідей. – Київ, 2008. – С. 188-189.

Публикации в сборниках материалов всероссийских конференций

1. Труш В.В., Соколов В.И. Модуляция аргинином, физической нагрузкой и их комбинацией нарушений сократительной функции скелетной мышцы белых крыс в условиях дексаметазонового гиперкортицизма // Физиология человека: материалы IV Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 300-летию Российской Академии наук (25 ноября 2022 г.) / под ред. Е.В. Саперовой. – Чебоксары: Чуваш. гос. пед. ун-т, 2022. – С. 179-184.

2. Труш В.В., Соколов В.И. Эффективность альфакальцидола в компенсации стероидной миопатии в модельных экспериментах на крысах // Физиология человека: материалы III Всероссийской научно-практической конференции / под ред. Е.В. Саперовой. – Чебоксары: Чуваш. гос. пед. ун-т, 2020. – С. 179-183.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГК	глюкокортикоиды
ДЕ	двигательная единица
ИФР-I	инсулиноподобный фактор роста I
PGC-1 α	1- α коактиватор γ -рецептора, активируемого пролифератором пероксисом
<i>Экспериментальные группы животных:</i>	
АЛФ-группа	группа животных, получавших альфакальцидол
АРГ-группа	группа животных, получавших аргинин
АРГ+ПЛАВ-группа	группа животных, подвергавшихся ежедневному плаванию и введению аргинина
Г-группа	группа животных, получавших гидрокортизон
ДМ-группа	группа животных, получавших дексаметазон
ДМ+АЛФ-группа	группа животных, получавших дексаметазон в комплексе с альфакальцидолом
ДМ+АРГ-группа	группа животных, получавших дексаметазон в комплексе с аргинином
ДМ+АРГ+ПЛАВ-группа	группа животных, получавших дексаметазон в комплексе с комбинацией «плавание + аргинин»
ДМ+ α -ЛК-группа	группа животных, получавших дексаметазон в комплексе с α -липовою кислотой
ДМ+ТАУ-группа	группа животных, получавших дексаметазон в комплексе с таурином
ДМ+ФОРМ-группа	группа животных, получавших дексаметазон в комплексе с формотеролом
α -ЛК-группа	группа животных, получавших α -липовою кислоту

ПЛАВ-группа	группа животных, подвергавшихся ежедневному плаванию
ТАУ-группа	группа животных, получавших таурин
ФОРМ-группа	группа животных, получавших формотерол

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ, ЦИТИРУЕМОЙ В АВТОРЕФЕРАТЕ

- Агафонов Б.В.** и др. // В кн. Вопросы эндокринологии: Труды МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. М., 1980; 27: 47-50. **Гехт Б.М.** Теоретическая и клиническая электромиография. Л.: Наука, Ленинградское отделение, 1990. **Гиниатуллин А.Р.** и др. // В кн.: Двигательная активность: нейрофизиологические исследования. Казань: Тан-Заря, 2001: 163-171. **Гришин С.Н.** и др. // Биологические мембраны. 2017; 34 (4): 251-60. **Желнин Е.В.** и др. Успехи современного естествознания. 2014; 5: 34-8. **Ильина Н.А.** // Клиническая медицина. 1983; 9: 30-5. **Камалиев Р.Р.** и др. // Казанский медицинский журнал. 2009; 90 (4): 556-9. **Ломоносова Ю.Н.** и др. // Доклады академии наук. 2013; 452 (6): 685-9. **Ломоносова Ю.Н.** и др. // Биохимия. 2011; 76 (5): 701-12. **Неретин В.Я.** и др. // В кн. Вопросы эндокринологии: Республиканский сборник научных работ. М., 1983: 35-9. **Хабриев Р.У.** Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005. **Allen D.L.** et al. // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2011; 300 (1): C124-37. **Archer-Lahlou E.** et al. // Physiol. Rep. 2018; 6 (12): e13726. **Bird S.J.** et al. // Current Neurology and Neuroscience Reports. 2002; 2 (6): 527-33. **Bouzat C.** et al. // Mol. Membran. Biol. 1997; 14: 167-77. **Chang J.S.** et al. // Pflugers Arch. 2020; 472 (4): 495-502. **Danese E.** et al. // Adv. Clin. Chem. 2017; 81: 193-230. **Decramer M.** et al. // Am. Rev. Respir. Dis. 1992; 146 (3): 800-2. **Dotz C.** et al. // Hypertension. 2000; 3: 758-63. **Elattar S.** et al. // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2017; 173: 235-44. **El-Senousey H.K.** et al. // Poult. Sci. 2018; 97 (1): 30-8. **Fappi A.** et al. // Cells. 2019; 8 (5): 406. **Fernandez-Sola J.** et al. // J. Neurol. Sci. 1993; 117 (1-2): 103-6. **Galea V.** et al. // Muscle and Nerve. 1991; 14: 1123-30. **Gauthier G.F.** / In: Engel A.G., Banker B.Q., eds. Myology. Basic and clinical. NY: McGraw-Hill, 1986: 255-83. **Geng H.** et al. // Int. J. Mol. Sci. 2020; 21 (3): 1111. **Giniatullin A.R.** et al. // Neurophysiology. 2000; 32 (3): 217. **Gómez-SanMiguel A.B.** et al. // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2016; 310 (11): E925-37. **Gonçalves D.A.** et al. // J. Cachexia Sarcopenia Muscle. 2019; 10 (2): 455-75. **Gong H.** et al. // Arch. Biochem. Biophys. 2016; 603: 102-9. **Grishin S.N.** et al. // Biochemistry (Moscow). Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology. 2015; 9 (1): 13-20. **Haran M.** et al. // QJM. 2018; 111 (5): 307-11. **Hu Y.** et al. // Front. Endocrinol. (Lausanne). 2022; 13: 1016687. **Jerusalem F.** // Verh. Dtsch. Ges. Rheumatol. 1981; 7: 6-10. **Jesinkey S.R.** et al. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2014; 351 (3): 663-73. **Jiao H.** et al. // Redox Rep. 2018; 23 (1): 68-82. **Kanabus M.** et al. // British Journal of Pharmacology. 2014; 171 (8): 1798-817. **Katzung B.G.** Greenspan's Basic and Clinical Pharmacology. 14th ed. NY: McGraw-Hill Medical, 2018. **Kinoshita Y.** et al. // Bone. 2008; 42 (1): 226-8. **Kim J.** et al. // Skelet Muscle. 2018; 8 (1): 39. **Kim S.H.** et al. // Anim. Cells Syst. (Seoul). 2019; 23 (1): 18-25. **Konno S.** // Neurochem. Res. 2005; 30 (5): 669-75. **Koopman R.** et al. // J. Physiol. 2010; 588 (Pt 23): 4811-23. **Kulie T.** et al. // J. Am. Board Fam. Med. 2009; 22 (6): 698-706. **Lakatos P.** et al. // Z. Rheumatol. 2000; 59 (Suppl 1): 48-52. **Langendorf E.K.** et al. // Int. J. Mol. Sci. 2020; 21 (7): 2497. **Lee M.-C.** et al. // J. Nutr. 2005; 135 (7): 1806S-08S. **Liu J.** et al. // Mol. Pharm. 2016; 13 (1): 73-84. **Macedo A.G.** et al. // Steroids. 2016; 107: 30-6. **MacIntosh B.R.** et al. Skeletal muscle. Form and function. 2th ed. Champaign: Human Kinetics, 2006. **Madamsetty V.S.** et al. // ACS Biomater Sci Eng. 2022; 8 (5): 1763-90. **Minetto M.A.** et al. // Endocrine. 2018; 60 (2): 219-23. **Minetto M.A.** et al. // J. Clin. Endocrinol. and Metab. 2010; 95 (4): 1663-71. **Mohammed M.A.** et al. // Steroids. 2019; 144: 1-7. **Noh K.K.** et al. // PLoS One. 2014; 9 (7): e102947. **Pashaj A.** et al. // Can. J. Physiol. Pharmacol. 2015; 93 (12): 1029-41. **Perrot S.** et al. // Presse Med. 2012; 41 (4): 422-6. **Qin J.** et al. // Res. Vet. Sci. 2013; 94 (1): 84-9. **Ryall J.G.** et al. // Pharmacol. Ther. 2008; 120 (3): 219-32. **Sakai H.** et al. // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2019; 46 (1): 19-28. **Schakman O.** et al. // J. Endocrinology. 2008; 197: 1-10. **Scholpa N.E.** et al. // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2021; 411: 115366. **Seok Y.M.** et al. // J. Ethnopharmacol. 2021; 270: 113557. **Shimohata T.** et al. // No To Shinkei. 2006; 58 (1): 39-42. **Sirvent P.** et al. // PLoS One. 2014; 9 (6): e100281. **Sun L.-Y.** et al. // Medicine (Baltimore). 2017; 96 (34): e7474. **Swarbrick M.** et al. // Eur. J. Endocrinol. 2021; 185 (5): R113-29. **Uozumi Y.** et al. // Biochem. J. 2006; 394 (Pt 3): 699-706. **Vazquez G.** et al. // J. Biol. Chem. 2000; 275 (21): 16134-8. **Voltarelli F.F.** et al. // Biol. Sport. 2008; 25 (1): 23-4. **Wilson A.M.** et al. // Chest. 2000; 117 (2): 593-4. **Ziganshin A.U.** et al. // Eur. J. Pharmacol. 2009; 607: 54-9.