

УДК 591.473.3:612.741:615.357:616.74-007.23

## МОДУЛЯЦИЯ $\beta_2$ -АДРЕНАГОНИСТОМ ФОРМОТЕРОЛОМ НАРУШЕНИЙ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ БЕЛЫХ КРЫС, ВЫЗВАННЫХ ДЛИТЕЛЬНЫМ ВВЕДЕНИЕМ ДЕКСАМЕТАЗОНА

Труш В. В.<sup>1</sup>, Соболев В. И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», Донецк, Украина

<sup>2</sup>Институт педагогики, психологии и инклюзивного образования Гуманитарно-педагогической академии (филиал) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Ялта, Республика Крым, Россия  
E-mail: ver.trush@yandex.ru

В экспериментах на половозрелых крысах-самках с помощью электрофизиологических методов изучали эффективность  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола («Форадил», «Novartis», Швейцария, 1,5 мкг/кг/ежесуточно, подкожно) в компенсации нарушений сократительной функции скелетной мышцы смешанного типа (*m. tibial anterior*), вызванных длительным введением дексаметазона («КРКА», Словения, 0,25 мг/кг/ 1 раз в 2-е суток, внутривенно). Препараты вводили на протяжении 30 дней. Установлено, что формотерол (Ф), вводимый в комплексе с дексаметазоном (Д), предотвратил уменьшение количества активируемых двигательных единиц мышцы и ее массы, типичные для 30Д-группы. Введение Ф в комплексе с Д нивелировало ухудшение амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений мышцы, типичное для животных 30Д-группы, и даже обусловило улучшение в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) скорости развития тетанического сокращения (на 274%). Ф, вводимый в комплексе с Д, не только предотвратил повышение утомляемости мышцы, типичное для 30Д-группы, но и обусловил увеличение ее устойчивости к утомлению в сравнении с контролем. В пользу этого свидетельствует отсутствие значимого снижения у животных 30Д+Ф-группы амплитуды одиночных сокращений и количества активируемых двигательных единиц мышцы после выполнения утомляющей работы, типичное не только для животных 30Д-, но и К-группы. Вместе с тем, длительность максимальной и субмаксимальной работоспособности мышцы у животных 30Д+Ф-группы не претерпевала значимых изменений относительно контроля, тогда как у 30Ф-группы – превосходила уровень контроля ( $p < 0,05$ ), амплитуда тетануса крыс 30Д+Ф-группы значимо не отличалась от контроля, но оказалась ниже ( $p < 0,05$ ) таковой 30Ф-группы на 40%. Оба эти факта указывают в пользу того, что негативное действие Д на скелетную мышцу в некоторой степени ограничило проявление эффектов длительно вводимого Ф.

Полученные в модельных экспериментах на животных в условиях *in situ* данные свидетельствуют о способности селективного  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола эффективно компенсировать ухудшение амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений скелетной мышцы смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических волокон при длительном введении дексаметазона.

**Ключевые слова:** скелетная мышца; дексаметазон; ятрогенный гиперкортицизм; стероидная миопатия; адреноагонисты; формотерол.

## ВВЕДЕНИЕ

Одним из тяжелых и часто встречающихся осложнений эндогенного или ятрогенного гиперкортицизма является стероидная миопатия, проявляющаяся миалгиями, слабостью и повышенной утомляемостью скелетных мышц [1]. Несмотря на достаточно хорошую изученность клиники миопатических изменений при гиперкортицизме, вопросы, касающиеся механизмов развития стероидной миопатии и тем более способов ее компенсации, остаются открытыми. Учитывая дистрофические изменения в скелетной мускулатуре под действием фармакологических доз глюкокортикоидов, вызванные катаболическим их эффектом на мышечные волокна, ряд авторов [2-4] высказывают предположение относительно эффективности анаболических средств и физической нагрузки в компенсации негативных эффектов ГК на скелетные мышцы.

Исследованиями последних лет установлено, что анаболическое действие в организме могут оказывать не только стероидные анаболики, но и некоторые мембранотропные гормоны, в том числе катехоламины через опосредованную активацией протеинкиназы Akt и киназы кальмодулина II стимуляцию активности генов, контролирующих синтез миогенных белков [5-7], а также путем подавления  $Ca^{2+}$ -зависимого протеолиза в мышечных волокнах [8] и активности гена миогенспецифической убиквитин-лигазы [9]. Более того, в ряде работ показана способность именно  $\beta_2$ -адреноагонистов и, в частности, кленбутерола, стимулировать рост скелетных мышц путем гипертрофии мышечных волокон [10], улучшать генную экспрессию в мышечных волокнах при некоторых наследственно обусловленных заболеваниях скелетной мускулатуры [11, 12]. Вместе с тем, не все авторы признают способность катехоламинов стимулировать гипертрофию мышечных волокон и подтверждают эффективность только  $\beta_2$ -адреноагонистов в предотвращении атрофии мышц путем изменения активности генов, кодирующих атрогин-1, MuRF-1 и катепсин L [13]. Имеются и сообщения относительно зависимость от длительности введения эффекта кленбутерола на мышцу [14]: а именно, способность  $\beta_2$ -адреноагониста в первую неделю введения стимулировать гипертрофию мышечных волокон жевательной мышцы крысы через активацию путем фосфорилирования протеинкиназы Akt и рецептора к ИФР-I, тогда как спустя 21 день введения – напротив, тормозить дальнейший рост мышцы путем увеличения экспрессии миостатина.

В связи с установленными анаболическими эффектами  $\beta_2$ -адреноагонистов в последнее время их рассматривают в качестве потенциальных средств, способных компенсировать миодегенеративные заболевания различного генеза [11, 12, 15]. Так, в сравнительно недавней экспериментальной работе [16] показана эффективность селективного  $\beta_2$ -адреноагониста кленбутерола в предотвращении дексаметазон-индуцированной атрофии жевательной мышцы крыс и изменения паттерна изоформ тяжелого миозина через модуляцию пути Akt/mTOR и эффективности действия ИФР-1 на мышечные волокна. Вместе с тем, оценки функциональных параметров скелетной мышцы в этой работе не проводилось.

В то же время, учеными Казанской научной школы [17] установлено, что ухудшение силовых характеристик скелетной мышцы под влиянием фармакологических доз глюкокортикоидов может быть обусловлено не только структурными, но и быстро развивающимися функциональными изменениями в нервно-мышечном аппарате. Отсюда следует, что предотвращение мышечной атрофии при глюкокортикоидной терапии может и не обеспечить полной компенсации функциональных расстройств в скелетной мускулатуре.

В более ранних наших исследованиях [18] установлена способность фармакологических доз адреналина частично компенсировать электрофизиологические и сократительные нарушения скелетной мышцы, вызванные длительным введением гидрокортизона.

*Целью настоящей работы* явилось изучение эффективности селективного  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола (1,5 мкг/кг/сутки) в компенсации нарушений сократительной функции скелетной мышцы смешанного типа (*m. tibial anterior*), вызванных длительным введением дексаметазона (0,25 мг/кг/2-е суток, на протяжении от 30 дней).

Выбор формотерола для возможной компенсации стероидной миопатии был обусловлен следующими обстоятельствами. Во-первых, в связи с тем, что преобладающим типом адренорецепторов в скелетных мышечных волокнах являются  $\beta_2$ -адренорецепторы [19], селективный  $\beta_2$ -адреноагонист должен эффективно влиять на скелетную мускулатуру, при этом не оказывая побочных сосудосуживающего и кардиостимулирующего эффектов, типичных для адреналина, проявляющего как  $\alpha$ -, так и  $\beta$ -адренергическую активность.

Во-вторых, в недавних исследованиях [20] установлена способность именно формотерола индуцировать митохондриальный биогенез, что может оказаться важным в компенсации стероидной миопатии, одним из патогенетических механизмов развития которой является повреждение митохондриального аппарата [21]. Кроме того, показана эффективность формотерола в ослаблении протеолиза в мышечных волокнах икроножной мышцы крыс, индуцированного сепсисом [22].

В-третьих, экспериментально доказана способность  $\beta_2$ -адреноагонистов, в частности, кленбутерола, изменять гистохимический профиль скелетных мышц путем увеличения экспрессии гена, кодирующего изоформу тяжелого миозина быстрого типа (IIb) [23], что может оказаться полезным в предотвращении стероидной миопатии, сопровождающейся усилением протеолиза тяжелых цепей миозина быстрого типа в мышечных волокнах [24].

В-четвертых, формотерол, в отличие от адреналина и кленбутерола, обладает пролонгированным действием и согласно данным клинических исследований [25] в фармакологических дозах (до 108 мкг/сутки) безопасен и хорошо переносится даже детьми.

Наконец, учитывая тот факт, что при лечении некоторых заболеваний (в частности, бронхиальной астмы) зачастую для достижения максимального терапевтического эффекта прибегают к комплексному введению глюкокортикоидов и формотерола, а также то, что глюкокортикоиды модулируют проявление эффектов  $\beta$ -адреноагонистов на клетки-мишени, изменяя плотность  $\beta$ -

адренорецепторов и их чувствительность к симпатомиметикам [26], представляло немалый практический интерес выяснить, как эти два типа препаратов при комплексном введении повлияют на функциональное состояние скелетной мышцы смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических волокон, более чувствительных в сравнении с оксидативными к катаболическому действию глюкокортикоидов [3, 27].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все эксперименты выполнены в соответствии с директивой Европейского совета (The European Council Directive 86/609/ЕЕС) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [28]. Исследования проводились на 40 половозрелых крысах-самках 4-5-ти месячного возраста с исходной массой тела 180-210 г. Животные были случайным образом разделены на 4 группы: контрольную (интактная, не подвергались никаким воздействиям, n=10, *К-группа*), I опытную (n=10, на протяжении 30 дней получали дексаметазон, *30Д-группа*), II опытную (n=10, на протяжении 30 дней получали дексаметазон в комплексе с формотеролом, *30Д+Ф-группа*) и III опытную (n=10, на протяжении 30 дней получали формотерол, *30Ф-группа*). Дексаметазон («KRKA», Словения) вводили внутривенно, 1 раз в 2 суток, в дозе, адекватной терапевтической для человека, – 0,25 мг/кг. Формотерол (торговая марка «Форадил», «Novartis», Швейцария) вводили ежедневно в дозе 1,5 мкг/кг, подкожно.

Выбор в качестве объекта исследований особей женского пола связан с большей их чувствительностью, в сравнении с особями мужского пола, к катаболическому действию глюкокортикоидов [29]. Выбор в качестве исследуемой мышцы передней большеберцовой был предопределен тем, что она относится к смешанному типу с существенным преобладанием быстрых мышечных волокон, характеризующихся, в сравнении с медленными, более высокой чувствительностью к катаболическому действию глюкокортикоидов [3]. Выбор дексаметазона для инициации стероидной миопатии был обусловлен тем, что данный препарат широко используется в клинической практике в связи с гораздо более выраженным (в 30 раз) и длительным (в 4-7 раз) противовоспалительным эффектом в сравнении с естественными глюкокортикоидами [30].

По окончании месячного периода введения препаратов на наркотизированных животных (тиопентал натрия, 100 мг/кг, внутривенно) проводили острый опыт, в ходе которого изучали некоторые функциональные параметры передней большеберцовой мышцы с помощью экспериментальной установки, включающей 3 канала: *канал электростимулятора* (использовался для электрического раздражения малоберцового нерва), *электромиографический* (предназначался для регистрации М-ответов мышцы) и *эргометрический* (служил для измерения высоты, на которую поднимается груз во время сокращения мышцы с грузом). *Канал электростимулятора* представлен собственно электростимулятором (построен на основе функционального генератора ICL8038CCDP), оптронной гальванической развязкой и биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным

расстоянием 1 мм. *Электромиографический канал* представлен отводящими биполярными игольчатыми стальными электродами (с межэлектродным расстоянием 1 мм) и электромиографическим биоусилителем (построен на основе измерительного усилителя INA118). *Эргометрический канал* включал потенциометрический датчик ПТП-1 с усилителем. Все каналы были связаны с регистрирующим устройством – запоминающим цифровым осциллографом Tektronix (TDS2004C).

*Ход опыта был следующим.* У наркотизированного животного 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, на уровне большого пальца затягивали лигатуру, соединенную с потенциометрическим датчиком, и в среднюю часть передней большеберцовой мышцы (*m. tibialis anterior*) вводили отводящие игольчатые электроды.

Вначале путем плавного (в течение 4 с) увеличения силы электрического раздражения от подпороговой до сверхпороговой (от 0,01 до 2 В) при частоте 10 имп/с записывали серию из сорока М-ответов мышцы. На основании процентного изменения амплитуды максимального М-ответа относительно амплитуды минимального определяли приблизительное количество активируемых двигательных единиц мышцы (методика Galea V. [31]).

После этого, раздражая малоберцовый нерв с частотой 4 имп/с сверхпороговыми электрическими импульсами (длительность – 150 мкс каждый, сила тока – 500 мкА), регистрировали в течение 5 с серию одиночных сокращений мышцы с внешней нагрузкой 20 г. На основании полученных записей определяли некоторые параметры одиночного сокращения мышцы: латентный период, амплитуду сокращения, скорость укорочения и расслабления.

На следующем этапе проводилась регистрация кривой вызванного тетанического сокращения мышцы с внешней нагрузкой 70 г, которое индуцировали путем раздражения электрическим током малоберцового нерва с частотой 70 имп/с (длительность импульсов 0,5 мс и сила тока 1000 мкА). Электрическое раздражение малоберцового нерва и соответственно сокращение мышцы осуществлялось до тех пор, пока она почти полностью не расслаблялась на фоне продолжающейся электрической стимуляции вследствие утомления. На основании полученных записей определяли максимальную амплитуду тетанического сокращения мышцы, время ее достижения, скорость сокращения, продолжительность удержания амплитуды сокращения на максимально возможном уровне (период максимальной работоспособности) и до момента полурасслабления (период субмаксимальной работоспособности).

После выполнения мышцей утомляющей работы вновь регистрировали серию М-ответов при увеличении силы электрического раздражения от подпороговой до сверхпороговой (от 0,01 до 2 В при частоте 10 имп/с) и серию одиночных сокращений при раздражении малоберцового нерва с частотой 4 имп/с. На основании изменения параметров М-ответа и одиночных сокращений мышцы после выполнения утомляющей работы относительно соответствующих исходных значений судили об

утомляемости нервно-мышечного аппарата у животных разных групп.

По окончании острого опыта в условиях глубокого наркоза проводили эвтаназию животных путем введения летальной дозы (300 мг/кг) тиопентала натрия.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента, предварительно убедившись в том, что распределение значений в исследуемых вариационных рядах близко к нормальному (*W*-тест Шапиро-Уилка, Statistica, 7.0), и *F*-статистики на основании проверки нулевой и альтернативной гипотез. Значения  $p < 0,05$  рассматривали как статистически достоверные. Исследуемые параметры выражали в виде «среднее  $\pm$  стандартная ошибка».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Длительное изолированное введение дексаметазона (Д) негативно отразилось на сократительной функции передней большеберцовой мышцы. Так, для животных 30Д-группы было характерно в сравнении с контролем (К) ( $p < 0,05$ ) уменьшение амплитуды одиночного сокращения (на 54%), удлинение его латентного периода (на 48%), снижение скорости укорочения (на 69%) и расслабления (на 56%, см. табл. 1). Отмеченные изменения могут быть связаны с нарушением под действием фармакологических доз глюкокортикоидов (ГК) степени синхронизации возбуждения и сокращения в скелетной мышце (СМ), энергетического обеспечения сократительного акта [32], дистрофическими изменениями части мышечных волокон (МВ), особенно гликолитического типа [3, 27], и даже частичным выключением патологически измененных волокон из сокращения.

В пользу возможных дистрофических изменений МВ у крыс 30Д-группы свидетельствует наблюдаемое нами хоть и не очень выраженное, но статистически значимое относительно К, уменьшение массы СМ (на 9%,  $p < 0,05$ ) и существенное уменьшение количества активируемых ее двигательных единиц (ДЕ) (на 43%,  $p < 0,05$ , см. табл. 2), косвенно отражающее выключение части патологически измененных МВ из вызванного возбуждения и сокращения.

Наряду с ухудшением параметров исходных одиночных сокращений СМ, у крыс 30Д-группы наблюдалось более выраженное в сравнении с К их изменение после выполнения утомляющей работы (УР). Так, для животных 30Д-группы было характерно более выраженное, чем у К ( $p < 0,05$ ), снижение амплитуды одиночных сокращений (см. табл. 1) и количества активируемых ДЕ СМ (см. табл. 2), а также не типичное для К уменьшение скорости укорочения и расслабления после выполнения УР (см. табл. 1). Все эти факты указывают в пользу повышенной утомляемости СМ животных, подвергавшихся изолированному введению Д на протяжении 30 дней.

Длительное изолированное введение Ф не повлияло на исходные параметры одиночного сокращения СМ, но обусловило уменьшение степени их изменения после выполнения УР (см. табл. 1). Так, у животных 30Ф-группы после УР латентный период одиночных сокращений удлинялся в меньшей степени, чем у контроля ( $p < 0,05$ ), а их амплитуда и количество активируемых ДЕ значимо не изменялись, тогда как у К они снижались (см. табл. 1, 2). Данные факты свидетельствуют в пользу более высокой устойчивости СМ животных 30Ф-группы к утомлению, что может быть следствием улучшения энергообеспечения и доступности субстратов окисления в ней под

действием катехоламинов (КА) [33], в том числе в результате повышения активности гормон-чувствительной липазы и киназы 1/2 в МВ [34]. Более того, в недавних исследованиях иностранных авторов [20] доказана способность Ф индуцировать биогенез митохондрий через активацию пути G $\beta$  $\gamma$ -Akt-eNOS-sGC, что также должно приводить к улучшению энергообеспечения МВ.

Таблица 1

Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) параметров одиночного сокращения мышцы контрольных животных (К) и крыс, получавших на протяжении 30 дней дексаметазон (30Д) и формотерол (30Ф) изолированно и комплексно (30Д+Ф)

| Параметры одиночного сокращения СМ      | Группа животных                               |  |   |  |
|---|---|--|---|--|
|   | К   | 30Д  | 30Ф   | 30Д+Ф  |
| <i>Значения до утомляющей работы</i>    |   |  |   |  |
| Амплитуда, мм                           | 3,0 $\pm$ 0,22                                | 1,4 $\pm$ 0,32<br>[-54*]                                 | 3,2 $\pm$ 0,24                                | 3,0 $\pm$ 0,38   |
| Латентный период, мс                    | 11,2 $\pm$ 0,57                               | 16,5 $\pm$ 0,50<br>[+48*]                                | 11,4 $\pm$ 0,48                               | 11,3 $\pm$ 0,45  |
| Скорость укорочения, мм/мс              | 0,10 $\pm$ 0,005                              | 0,03 $\pm$ 0,003<br>[-69*]                               | 0,09 $\pm$ 0,005                              | 0,09 $\pm$ 0,007<br>+186 <sup>x</sup>                            |
| Скорость расслабления, мм/мс            | 0,05 $\pm$ 0,004                              | 0,02 $\pm$ 0,003<br>[-56*]                               | 0,05 $\pm$ 0,003                              | 0,05 $\pm$ 0,004<br>+101 <sup>x</sup>                            |
| <i>Значения после утомляющей работы</i> |   |  |   |  |
| Амплитуда, мм                           | 2,3 $\pm$ 0,21<br>(-24 $\pm$ 2,2 $\bullet$ )  | 0,6 $\pm$ 0,11<br>(-57 $\pm$ 8,7 $\bullet$ )<br>[-74*]   | 3,0 $\pm$ 0,21<br>[+30*]                      | 2,8 $\pm$ 0,50<br>+369 <sup>x</sup>                              |
| Латентный период, мс                    | 16,0 $\pm$ 0,83<br>(+43 $\pm$ 7,5 $\bullet$ ) | 24,5 $\pm$ 1,15<br>(+48 $\pm$ 8,2 $\bullet$ )<br>[+53*]  | 13,9 $\pm$ 0,61<br>(+22 $\pm$ 4,1 $\bullet$ ) | 13,6 $\pm$ 0,72<br>(21 $\pm$ 1,4 $\bullet$ )<br>-45 <sup>x</sup> |
| Скорость укорочения, мм/мс              | 0,09 $\pm$ 0,008                              | 0,01 $\pm$ 0,002<br>(-60 $\pm$ 7,9 $\bullet$ )<br>[-86*] | 0,08 $\pm$ 0,006                              | 0,09 $\pm$ 0,015<br>+604 <sup>x</sup>                            |
| Скорость расслабления, мм/мс            | 0,04 $\pm$ 0,004                              | 0,01 $\pm$ 0,002<br>(-70 $\pm$ 7,9 $\bullet$ )<br>[-83*] | 0,05 $\pm$ 0,004                              | 0,05 $\pm$ 0,005<br>+598 <sup>x</sup>                            |

*Примечание:*  $\bullet$  – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя относительно исходного значения соответствующей группы (в %,  $p < 0,05$ ); \* – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения контрольной группы (в %,  $p < 0,05$ ); <sup>x</sup> – указана статистически значимая разница показателя животных группы 30Д+Ф относительно соответствующего значения группы 30Д (в %,  $p < 0,05$ ).

Несмотря на отсутствие существенных изменений исходных параметров одиночного сокращения СМ животных 30Ф-группы, у них наблюдалось значимое относительно К увеличение массы СМ (на 13%,  $p < 0,05$ ) и тенденция к увеличению количества активируемых ее ДЕ, косвенно указывающие в пользу возможной

гипертрофии СМ (см. табл. 2). Способность  $\beta_2$ -адреноагонистов ( $\beta_2$ -АА) и, в частности, кленбутерола, стимулировать гипертрофию СМ и увеличение диаметра МВ была установлена в исследованиях других авторов [10]. Более того, в некоторых работах [7] показано, что более выраженный анаболический эффект  $\beta_2$ -АА кленбутерола достигается в быстрых мышцах по сравнению с медленными.

Ф, вводимый в комплексе с Д, предотвратил типичное для 30Д-группы ухудшение параметров исходных (до УР) одиночных сокращений мышцы (см. табл. 1), уменьшение количества активируемых ее ДЕ и массы (см. табл. 2). Данные факты косвенно свидетельствуют в пользу отсутствия выраженных дистрофических изменений СМ крыс 30Д+Ф-группы и могут быть обусловлены способностью  $\beta_2$ -АА стимулировать биосинтез миофибриллярных белков в МВ, в том числе тяжелых цепей миозина [35], протеолиз которых усиливается под влиянием Д [27]. Кроме того, в недавних исследованиях [36] установлена способность Д ослаблять экспрессию MuRF1 и усиливать экспрессию атрогин-1 в МВ, что отчасти предопределяет дистрофические их изменения, тогда как  $\beta_2$ -АА противоположным образом влияют на экспрессию этих белков [13].

Таблица 2

Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) массы передней большеберцовой мышцы и количества активируемых ее двигательных единиц<sup>1</sup> у контрольных животных (К) и крыс, получавших на протяжении 30 дней дексаметазон (30Д) и формотерол (30Ф) изолированно и комплексно (30Д+Ф)

| Группа животных | Масса мышцы, мг               | Количество активируемых двигательных единиц мышцы |                                  |
|-----------------|-------------------------------|---|----------------------------------|
|                 |                               | исходное (до утомляющей работы)                   | после утомляющей работы          |
| К               | 399,8±6,81                    | 14,1±1,21   | 10,4±0,91<br>(-26±2,0●)          |
| 30Д             | 363,9±8,50<br>[-9*]           | 8,1±0,95<br>[-43*]                                | 5,3±0,61<br>(-34±2,4●)<br>[-49*] |
| 30Ф             | 454,3±7,79<br>[+13*]          | 18,8±2,36   | 18,5±2,65<br>[+78*]              |
| 30Д+Ф           | 393,8±8,48<br>+8 <sup>x</sup> | 15,2±1,67<br>+87 <sup>x</sup>                     | 12,0±0,82<br>+124 <sup>x</sup>   |

Примечание: <sup>1</sup> – количество активируемых двигательных единиц мышцы определяли по методике Galea V. [31]; \* – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %,  $p < 0,05$ ); <sup>x</sup> – указана статистически значимая разница показателя животных группы 30Д+Ф относительно соответствующего значения группы 30Д (в %,  $p < 0,05$ ); ● – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя относительно исходного значения соответствующей группы (в %,  $p < 0,05$ ).

Наряду с нивелированием нарушений исходных параметров одиночных сокращений СМ, Ф, вводимый в комплексе с Д, предотвратил более выраженное, в сравнении с К, ухудшение этих параметров после выполнения УР (см. табл. 1). Более того, подобно 30Ф-группе, у животных 30Д+Ф-группы наблюдалось отсутствие значимого ухудшения параметров одиночного сокращения СМ и снижения количества активируемых ее ДЕ после выполнения УР, тогда как у крыс 30Д-группы и в меньшей степени у К эти параметры ухудшались (см. табл. 1, 2). Данный факт свидетельствует в пользу более высокой устойчивости к утомлению СМ крыс как 30Ф-, так и 30Д+Ф-групп в сравнении с К и, по всей видимости, обусловлен способностью  $\beta_2$ -АА повышать не только доступность субстратов окисления для СМ, но и в определенных концентрациях увеличивать поглощение глюкозы МВ [37] и, как уже отмечалось выше, индуцировать биогенез митохондрий [20], что предопределяет повышение эффективности биологического окисления.

Наряду с ухудшением параметров одиночного сокращения СМ у животных 30Д-группы наблюдалось и ухудшение параметров тетанического ее сокращения: уменьшение в сравнении с К ( $p < 0,05$ ) его амплитуды (на 24%), удлинение времени достижения максимальной амплитуды тетануса (на 81%) и существенное уменьшение скорости развития тетанического сокращения (на 57%), а также укорочение периода максимальной устойчивой работоспособности СМ (на 34%, см. табл. 3).

Таблица 3

**Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) силовых и временных параметров тетанического сокращения мышцы контрольных животных (К) и крыс, получавших на протяжении 30 дней дексаметазон (30Д) и формотерол (30Ф) изолированно и комплексно (30Д+Ф)**

| Группа животных | Амплитуда тетанического сокращения, мм | Время достижения максимальной амплитуды сокращения, с | Скорость тетанического сокращения, мм/с    | Длительность удержания максимальной амплитуды тетанического сокращения, с | Длительность снижения амплитуды сокращения на 50% относительно максимальной, с |
|-----------------|--|---|--|---|--|
| К               | 13,4±1,17                              | 0,8±0,13  | 16,1±1,18                                  | 3,6±0,39  | 9,1±1,08   |
| 30Д             | 10,3±0,70<br>[-24*]                    | 1,5±0,09<br>[+81*]                                    | 6,9±0,79<br>[-57*]                         | 2,4±0,23<br>[-34*]  | 8,4±0,92   |
| 30Ф             | 15,7±0,87                              | 0,4±0,04<br>[-56*]                                    | 42,8±2,84<br>[+165*]                       | 6,1±0,68<br>[+67*]  | 15,2±0,85<br>[+65*]  |
| 30Д+Ф           | 11,2±0,76                              | 0,2±0,03<br>[-78*],<br>-88 <sup>x</sup>               | 60,3±9,01<br>[+274*],<br>+778 <sup>x</sup> | 5,5±0,81<br>+127 <sup>x</sup>   | 11,0±0,92  |

Примечание: \* – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %,  $p < 0,05$ ); <sup>x</sup> – указана статистически значимая разница показателя животных группы 30Д+Ф относительно соответствующего значения группы 30Д (в %,  $p < 0,05$ ).

В основе ухудшения амплитудных параметров тетанического сокращения СМ животных 30Д-группы, подобно снижению амплитуды одиночных ее сокращений, могут лежать уменьшение силы сокращения, развиваемой патологически измененными МВ, полное их выключение из возбуждения и сокращения, а также уменьшение степени синхронизации возбуждения и сокращения в СМ. Замедление скорости тетанического сокращения у животных 30Д-группы может быть обусловлено нарушением электромеханического сопряжения в МВ, а также десинхронизацией возбуждения и сокращения в СМ, в пользу которых свидетельствуют и отмеченные нами удлинение латентного периода и уменьшение амплитуды одиночных сокращений СМ. Укорочение продолжительности максимальной устойчивой работоспособности СМ у крыс 30Д-группы отражает более выраженное нарушение энергообмена в МВ в динамике выполнения УР в сравнении с К, обуславливающее более быстрое наступление ацидоза, снижение возбудимости МВ и частичное их выключение из сокращения в процессе развития утомления. В пользу определенных нарушений энергообмена в СМ при длительном введении ГК указывают и другие исследователи [21, 32].

Длительное изолированное применение Ф обуславливало некоторое улучшение временных параметров тетанического сокращения СМ, а также повышение ее работоспособности. Так, у животных 30Ф-группы продолжительность достижения максимальной амплитуды тетануса укорачивалась в сравнении с К (на 56%,  $p < 0,05$ ), вследствие чего на фоне неизменной амплитуды тетануса скорость развития тетанического сокращения существенно возрастала (на 165%,  $p < 0,05$  относительно К, см. табл. 3). Полученные нами данные согласуются с результатами исследований других авторов [38], показавших что длительное введение (на протяжении 21 дня) в организм крыс  $\beta_2$ -АА кленбутерола существенно не отразилось на сократительной способности быстрой мышцы (*m. digitorum longus*), но привело к значительному изменению кинетики ее сокращения и расслабления.

Улучшение временных параметров тетанического сокращения СМ крыс 30Ф-группы может быть обусловлено улучшением под влиянием Ф уровня кровоснабжения и энергообеспечения МВ [33, 34], степени синхронизации возбуждения и электромеханического сопряжения в них, скорости актомиозинового взаимодействия [39] и, возможно, усилением синтеза сократительных белков при длительном введении  $\beta_2$ -АА [5, 10]. В сравнительно недавних исследованиях иностранных авторов [6] установлена способность селективного  $\beta_2$ -АА кленбутерола через ассоциированный с  $\beta_2$ -адренорецептором G-белок активировать киназу 2 в быстрой скелетной мышце (длинном разгибателе пальцев), что приводит к улучшению ее силовых характеристик.

Длительное введение Ф в целом позитивно сказывалось не только на временных параметрах тетанического сокращения, но и на работоспособности СМ. Так, у животных 30Ф-группы наблюдалось значимое относительно К ( $p < 0,05$ ) удлинение периода удержания амплитуды тетанического сокращения на максимальном (на 67%) и субмаксимальном (на 65%) уровне при выполнении УР (см. табл. 3).

Таким образом, при анализе работоспособности СМ в тесте с выполнением ею

УР, были получены данные, указывающие в пользу способности длительно вводимого  $\beta_2$ -АА улучшать скоростные параметры тетанического сокращения СМ и существенно повышать ее максимальную и субмаксимальную работоспособность. В пользу более высокой устойчивости мышцы животных 30Ф-группы к утомлению указывает и обсуждаемое нами ранее менее выраженное в сравнении с К ухудшение параметров одиночных сокращений СМ после выполнения УР (см. табл. 1).

Ф, вводимый в комплексе с Д, нивелировал ухудшение амплитуды тетануса и максимальной работоспособности СМ, типичных для изолированного введения Д, и обусловил не просто нормализацию в сравнении с 30Д-группой скоростных параметров тетанического сокращения, а даже некоторое их повышение в сравнении с К. Так, время достижения максимальной амплитуды тетануса у животных 30Д+Ф-группы существенно укорачивалось (на 78% относительно контроля,  $p < 0,05$ ), что было характерно и для 30Ф-группы, тогда как в 30Д-группе оно удлинялось (на 81%, относительно контроля,  $p < 0,05$ , см. табл. 3). Вместе с тем, это укорочение у животных 30Д+Ф-группы носило более выраженный характер в сравнении с 30Ф-группой ( $p < 0,05$ , см. табл. 3). Как следствие, скорость тетанического сокращения у животных 30Д+Ф- и 30Ф-групп возрастала (на 274% относительно контроля в 30Д+Ф-группе и 165% в 30Ф-группе,  $p < 0,05$ ), и средние значения этого параметра между 30Д+Ф- и 30Ф-группами значимо не различались, тогда как некоторая тенденция к его повышению в 30Д+Ф-группе относительно 30Ф-группы имела место (см. табл. 3).

В то же время, несмотря на отсутствие значимых изменений амплитуды тетануса крыс 30Д+Ф- и 30Ф-групп относительно К, этот параметр у животных 30Ф-группы значимо превышал таковой 30Д+Ф-группы (на 40%,  $p < 0,05$ , см. табл. 3). Аналогично амплитуде тетануса, продолжительность ее удержания на субмаксимальном уровне у крыс 30Д+Ф-группы была меньше таковой 30Ф-группы (на 39%,  $p < 0,05$ , см. табл. 3). Полученные факты указывают в пользу того, что некоторое негативное влияние Д на амплитудные параметры тетанического сокращения и субмаксимальную работоспособность СМ у животных, получавших его в комплексе с Ф, все же проявлялось, что и обусловило более низкие значения этих параметров у крыс 30Д+Ф-группы в сравнении с 30Ф-группой.

Следовательно, спустя 1 месяц комплексного введения Д с Ф позитивные эффекты  $\beta_2$ -АА на работоспособность СМ не могли проявиться в полной мере, подобно тому, как они проявлялись в 30Ф-группе, хотя Ф предотвратил существенное укорочение периода максимальной работоспособности СМ, отмеченное в 30Д-группе.

Наблюдаемое нами ускорение развития тетанического сокращения, у животных 30Д+Ф-группы, по всей видимости, вызывалось Ф, поскольку было характерно и для крыс 30Ф-группы. Вместе с тем, в литературе существуют сведения [26] относительно способности ГК, особенно при длительном введении, увеличивать экспрессию в тканях-мишенях адренорецепторов, что должно обуславливать повышение их чувствительности к КА. Как следствие, при комплексном введении КА и ГК следует ожидать более выраженный эффект КА по сравнению с тем, что имеет место при изолированной адренергической стимуляции. В наших

исследованиях, у животных, подвергавшихся комбинированному введению Д и Ф, существенных различий в большинстве исследуемых параметров функционального состояния СМ (в том числе и временных параметров тетанического сокращения) по сравнению с 30Ф-группой выявлено не было. Более того, некоторые параметры (амплитуда тетануса, продолжительность субмаксимальной работоспособности) у крыс 30Д+Ф-группы были ниже таковых 30Ф-группы. В основе данного обстоятельства могут лежать 2 причины. Во-первых, при длительном совместном введении ГК с КА хроническая адренергическая стимуляция может вызывать некоторую десенситизацию адренорецепторов, в результате чего существенного повышения их плотности в тканях-мишенях под действием ГК не достигается. Как следствие, и степень изменения исследуемых параметров мышцы у животных 30Ф- и 30Д+Ф-групп не имеет существенных различий. Во-вторых, длительное введение фармакологических доз Д на фоне адренергической стимуляции могло вызывать определенные дистрофические, энергетические и функциональные изменения в исследуемой СМ, делающие не возможным полноценную потенциацию эффектов ГК и КА на ее волокна даже при условии увеличения под влиянием ГК плотности адренорецепторов в них.

По всей видимости, оба эти обстоятельства могли послужить причиной отсутствия более выраженного улучшения параметров тетанического сокращения и работоспособности мышцы у крыс 30Д+Ф-группы в сравнении с 30Ф-группой. В пользу этого свидетельствует тот факт, что некоторые параметры (скорость тетанического сокращения) у крыс 30Ф- и 30Д+Ф-групп улучшались примерно в равной мере, тогда как другие – амплитуда тетанического сокращения и продолжительность субмаксимальной работоспособности – у животных 30Д+Ф-группы значимо не изменялись относительно контроля, тогда как в 30Ф-группе максимальная и субмаксимальная работоспособность была повышена. Вместе с тем, время достижения максимальной амплитуды тетануса у крыс 30Д+Ф-группы было укорочено в большей степени, чем в 30Ф-группе.

Подводя итог результатам исследований, необходимо отметить, что длительное изолированное введение Д сопровождалось ухудшением амплитудных и временных параметров одиночного сокращения, уменьшением амплитуды тетанического сокращения, его скорости, а также укорочением периода максимальной устойчивой работоспособности СМ. Введение Ф в комплексе с Д предотвратило ухудшение параметров одиночного сокращения, амплитуды тетануса и максимальной устойчивой работоспособности СМ, типичных для изолированного введения Д, и обусловило не просто нормализацию в сравнении с 30Д-группой скорости развития тетанического сокращения СМ, а существенное ее повышение (на 274%) в сравнении с К. Кроме того, Ф, вводимый в комплексе с Д, не только предотвратил повышение утомляемости СМ, типичное для 30Д-группы, но и обусловил увеличение ее устойчивости к утомлению в сравнении с К. Вместе с тем, некоторые параметры тетанического сокращения (амплитуда тетануса, продолжительность периода максимальной работоспособности) у животных 30Д+Ф-группы оказались ниже таковых 30Ф-группы, что, по-видимому, указывает в пользу ограничения Д полноценного проявления эффектов длительно вводимого Ф на СМ.

Полученные в модельных экспериментах на животных в условиях *in situ* данные свидетельствуют о способности селективного  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола эффективно компенсировать ухудшение амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений скелетной мышцы смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических волокон при длительном введении дексаметазона.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

1. Формотерол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, предотвратил уменьшение количества активируемых двигательных единиц мышцы и ее массы, типичные для 30Д-группы.
2. Формотерол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, нивелировал ухудшение амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений мышцы, типичное для животных 30Д-группы, и обусловил улучшение в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) скорости развития тетанического сокращения (на 274%).
3. Формотерол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, не только предотвратил повышение утомляемости мышцы, типичное для 30Д-группы, но и обусловил увеличение ее устойчивости к утомлению в сравнении с контролем. В пользу этого свидетельствует отсутствие значимого снижения у животных 30Д+Ф-группы амплитуды одиночных сокращений и количества активируемых двигательных единиц скелетной мышцы после выполнения утомляющей работы, типичное не только для животных 30Д-, но и К-группы.
4. Длительность максимальной и субмаксимальной работоспособности мышцы у животных 30Д+Ф-группы не претерпевала значимых изменений относительно контроля, тогда как у 30Ф-группы – превосходила уровень контроля ( $p < 0,05$ ), амплитуда тетануса крыс 30Д+Ф-группы значимо не отличалась от контроля, но оказалась ниже ( $p < 0,05$ ) таковой 30Ф-группы на 40%. Оба эти факта, по-видимому, указывают в пользу того, что негативное действие дексаметазона на скелетную мышцу в некоторой степени ограничило проявление эффектов длительно вводимого формотерола.

### **Список литературы**

1. Полунина А.Г. Стероидная миопатия / А.Г. Полунина, Ф.В. Исаев, М.А. Демьянова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2012. – Т. 112, No 10-2. – С. 60-64.
2. Pinheiro C.H. Exercise prevents cardiometabolic alterations induced by chronic use of glucocorticoids / C.H. Pinheiro, W.M. Sousa Filho, J. Oliveira Neto [et al.] // Arq. Bras. Cardiol. – 2009. – Vol. 93, No 4. – P. 400-408.
3. Schakman O. Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy / O. Schakman, H. Gilson, J.P. Thissen // J. Endocrinology. – 2008. – Vol. 197. – P. 1-10.
4. Yamamoto D. Branched-chain amino acids protect against dexamethasone-induced soleus muscle atrophy in rats / D. Yamamoto, T. Maki, E.H. Hemingtyas // Muscle Nerve. – 2010. – Vol. 41, No 6. – P. 819-827.
5. Shimamoto S.  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenergic receptor stimulation differ in their effects on PGC-1 $\alpha$  and atrogen-1/MAFbx gene expression in chick skeletal muscle / S. Shimamoto, D. Ijiri, M. Kawaguchi [et al.] // Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. – 2017. – Vol. 211 (Sep). – P. 1-6.

6. Woodall B.P. Skeletal Muscle-specific G Protein-coupled Receptor Kinase 2 Ablation Alters Isolated Skeletal Muscle Mechanics and Enhances Clenbuterol-stimulated Hypertrophy / B.P. Woodall, M.C. Woodall, T.S. Luongo [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2016. – Vol. 291, No 42. – P. 21913-21924.
7. Ohnuki Y. Role of phosphodiesterase 4 expression in the Epac1 signaling-dependent skeletal muscle hypertrophic action of clenbuterol / Y. Ohnuki, D. Umeki, Y. Mototani [et al.] // *Physiol Rep.* – 2016. – Vol. 4, No 10. – pii: e12791.
8. Manfredi L.H. Adrenodemedullation activates the Ca<sup>2+</sup>-dependent proteolysis in soleus muscles from rats exposed to cold / L.H. Manfredi, D. Lustrino, J. Machado [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 2017. – Vol. 122, No 2. – P. 317-326.
9. Shimamoto S. Clenbuterol changes phosphorylated FOXO1 localization and decreases protein degradation in the sartorius muscle of neonatal chicks / S. Shimamoto, D. Ijiri, K. Nakashima [et al.] // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 2016. – Vol. 80, No8. – P. 1499-14504.
10. Brown D.M. Effect of sodium 4-phenylbutyrate on Clenbuterol-mediated muscle growth / D.M. Brown, S. Jones, Z.C.T.R. Daniel [et al.] // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, No 7. – e0201481.
11. Koeberl D.D. Correction of Biochemical Abnormalities and Improved Muscle Function in a Phase I/II Clinical Trial of Clenbuterol in Pompe Disease / D.D. Koeberl, L.E. Case, E.C. Smith [et al.] // *Mol. Ther.* – 2018. – Jul 5. – pii: S1525-0016(18)30309-5.
12. Milioto C. Beta-agonist stimulation ameliorates the phenotype of spinal and bulbar muscular atrophy mice and patient-derived myotubes / C. Milioto, A. Malena, E. Maino [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 24, No 7. – P. 41046.
13. Wannenes F. In vitro effects of Beta-2 agonists on skeletal muscle differentiation, hypertrophy, and atrophy / F. Wannenes, L. Magni, M. Bonini [et al.] // *World Allergy Organ J.* – 2012. – Vol. 5, No 6. – P. 66-72.
14. Abo T. IGF and myostatin pathways are respectively induced during the earlier and the later stages of skeletal muscle hypertrophy induced by clenbuterol, a  $\beta$ 2-adrenergic agonist / T. Abo, R.H. Iida, S. Kaneko [et al.] // *Cell Biochem. Funct.* – 2012. – Vol. 30, No 8. – P. 671-676.
15. Dutt V. Skeletal muscle atrophy: Potential therapeutic agents and their mechanisms of action / V. Dutt, S. Gupta, R. Dabur [et al.] // *Pharmacol Res.* – 2015. – Vol. 99 (Sep). – P. 86-100.
16. Umeki D. Protective Effects of Clenbuterol against Dexamethasone-Induced Masseter Muscle Atrophy and Myosin Heavy Chain Transition / D. Umeki, Y. Ohnuki, Y. Mototani [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, No 6. – e0128263.
17. Камалиев Р.Р. Воздействие гидрокортизона, АТФ и аденозина на скелетную мышцу крысы / Р.Р. Камалиев, С.Н. Гришин, Ж.Ю. Фалу [и др.] // *Казанский медицинский журнал.* – 2009. – Т. 90, No 4. – С. 556-559.
18. Труш В.В. Модулирующее влияние адреналина на развитие стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением гидрокортизона / В.В. Труш, В.И. Соболев // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* – 2017. – Т. 61, No 4. – С. 104-111.
19. Ohnuki Y. Role of cyclic AMP sensor Epac1 in masseter muscle hypertrophy and myosin heavy chain transition induced by  $\beta$ 2-adrenoceptor stimulation / Y. Ohnuki, D. Umeki, Y. Mototani [et al.] // *J. Physiol.* – 2014. – Vol. 592, No 24. – P. 5461-5475.
20. Cameron R.B. Structural and pharmacological basis for the induction of mitochondrial biogenesis by formoterol but not clenbuterol / R.B. Cameron, C.C. Beeson, R.G. Schnellmann // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7, No 1. – P. 10578.
21. Kaasik P. The mechanism of action of glucocorticoids in the rat skeletal muscle / P. Kaasik, T. Seene, M. Umnova [et al.] // *Balt. J. Lab. Anim. Sci.* – 2000. – Vol. 10, No (3-4). – P. 185-193.
22. Martin A.I. Formoterol treatment prevents the effects of endotoxin on muscle TNF/NF-kB, Akt/mTOR and proteolytic pathways in a rat model. Role of IGF-I and miRNA 29b / A.I. Martin, A.B. Gómez-San Miguel, T. Priego [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2018. – Jul 3. – P. E705-E714.
23. Sirvent P. Effects of chronic administration of clenbuterol on contractile properties and calcium homeostasis in rat extensor digitorum longus muscle / P. Sirvent, A. Douillard, O. Galbes [et al.] // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, No 6. – e100281.
24. Rios R. Myostatin regulates cell survival during C2C12 myogenesis / R. Rios, I. Carneiro, V.M. Arce [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2001. – Vol. 280. – P. 561-566.

25. Вознесенский Н.А. Формотерол (Форадил) в лечении бронхиальной астмы / Н.А. Вознесенский // Лечебное дело. – 2006. – No 4. – С. 52-56.
26. Black J.L. Molecular mechanisms of combination therapy with inhaled corticosteroids and long-acting beta-agonists / J.L. Black, B.G. Oliver, M. Roth // Chest. – 2009. – Vol. 136, No 4. – P. 1095-1100.
27. Riso E.M. Relationship between extracellular matrix, contractile apparatus, muscle mass and strength in case of glucocorticoid myopathy / E.M. Riso, A. Ahtikoski, K. Alev [et al.] // Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology. – 2008. – Vol. 108. – P. 117-120.
28. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунатян. – Москва : Минздрав РФ, ЗАО «Гриф и К», 2012. – 944 с.
29. Kim J.H. Alteration in skeletal muscle mass in women with subclinical hypercortisolism / J.H. Kim, M.K. Kwak, S.H. Ahn [et al.] // Endocrine. – 2018. – Vol. 61, No 1. – P. 134-143.
30. Борисова Е.О. Клиническая фармакология парентеральных форм глюкокортикоидов / Е.О. Борисова // Лечебное дело. – 2007. – No 3. – С. 17-24.
31. Galea V. The number and relative size of motor units estimated by computer / V. Galea, H. de Bruin, R. Cavasin [et al.] // Muscle and Nerve. – 1991. – Vol. 14. – P. 1123-1130.
32. Jiao H. A high-caloric diet rich in soy oil alleviates oxidative damage of skeletal muscles induced by dexamethasone in chickens / H. Jiao, K. Zhou, J. Zhao [et al.] // Redox Rep. – 2018. – Vol. 23, No 1. – P. 68-82.
33. Кулинский В.И. Катехоламины: биохимия, фармакология, физиология, клиника / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Вопросы медицинской химии. – 2002. – Т. 48, No 1. – С. 45-67.
34. Watt M.J. Effects of plasma adrenaline on hormone-sensitive lipase at rest and during moderate exercise in human skeletal muscle / M.J. Watt, T. Stellingwerff, G.J.F. Heigenhauser [et al.] // J. Physiol. – 2003. – Vol. 550, No 1. – P. 325-332.
35. Knych H.K. Differential expression of skeletal muscle genes following administration of clenbuterol to exercised horses / H.K. Knych, L.M. Harrison, S.J. Steinmetz [et al.] // BMC Genomics. – 2016. – Vol. 17, No 9. – P. 596.
36. Sakai H. Dexamethasone exacerbates cisplatin-induced muscle atrophy / H. Sakai, M. Kimura, Y. Tsukimura [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2018. – Aug 23. – PMID: 30137654.
37. Ngala R.A.  $\beta_2$ -adrenoceptor agonists can both stimulate and inhibit glucose uptake in mouse soleus muscle through ligand-directed signalling / R.A. Ngala, J.F. O'Dowd, C.J. Stocker [et al.] // Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. – 2013. – Vol. 386, No 9. – P. 761-773.
38. Py G. Chronic clenbuterol treatment compromises force production without directly altering skeletal muscle contractile machinery / G. Py, C. Ramonaxto, P. Sirvent [et al.] // J. Physiol. – 2015. – Vol. 593, No 8. – P. 2071-2084.
39. MacIntosh B. Skeletal muscle. Form and function / B. MacIntosh, Ph. Gardiner, A.J. McComas. – 2th edition. – Champaign : Human Kinetics, 1998. – 432 p.

**MODULATION BY  $\beta_2$ -ADRENERGIC AGONIST FORMOTEROL OF CONTRACTILE DYSFUNCTION OF THE SKELETAL MUSCLE OF WHITE RATS CAUSED BY THE LONG DEXAMETHASONE ADMINISTRATION**

*Trush V. V.<sup>1</sup>, Sobolev V. I.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>*Donetsk national university, Donetsk, Ukraine*

<sup>2</sup>*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Yalta, Russian Federation*

*E-mail: ver.trush@yandex.ru*

Research objective consisted in the studying of the efficiency of  $\beta_2$ -adrenergic agonist formoterol (F) in the compensation of the contractile dysfunction of a skeletal muscle of the mixed type (*m. tibial anterior*) caused by long dexamethasone (D) administration.

**Method.** Experiments were performed on sexually mature rats-females of 4-5 monthly

age divided into 4 groups: control (n=10, C-group), the I-st experienced (n=10, for 30 days received of the dexamethasone, 30D-group), the II-nd experienced (n=10, for 30 days received of the dexamethasone in a complex with formoterol, 30D+F-group) and II-rd experienced (n=10, for 30 days received of the formoterol, 30F-group). Dexamethasone ("KRKA", Slovenia) was entered once in 2 days intraperitoneally in the dose adequate therapeutic for the human, – 0,25 mg/kg. Formoterol (the trademark "Foradil", "Novartis", Switzerland) entered every day in a dose 1,5 mkg/kg, subcutaneously. On the anesthetized animals (sodium thiopental, 100 mg/kg) with the use of the stimulation electromyography and myography the some parameters of a functional condition of the forward tibial muscle was studied. The muscle's excitation and contraction was induced by the irritation of the fibular nerve by superthreshold electric current.

**Results.** F, which had been administrated in a complex with D, prevented the reduction of quantity of the activated motor units of the muscle and its weight, typical for 30D-group. Administration of F in the complex with D prevented the deterioration in amplitude and temporary parameters of single and tetanic contractions of the muscle, which was typical for the animals of 30D-group, and has even caused the improvement in comparison with control ( $p<0,05$ ) the speeds of the development of tetanic contraction (for 274%). Administration of F in the complex with D not only prevented the increased fatigue of the muscle, which was typical for the 30D-group, but also led to an increase in muscle resistance to fatigue in comparison with control. In favor of this testifies the absence at animals of 30D+F-group of a significant decrease in the amplitude of single contractions and the number of activated motor units of the muscle after performing the fatiguing work, which was typical not only for animals of 30D- but also for the C-group. At the same time, the duration of maximal and submaximal working capacity of the muscle in animals of the 30D+F-group did not undergo significant changes with respect to control, while in the 30F-group it exceeded the level of control ( $p<0,05$ ), the amplitude of tetanic contraction of the rats of 30D+F-group did not significantly differ from control, but it turned out to be lower ( $p<0,05$ ) of that of 30F-group by 40%. Both of these facts specify that the negative effect of D on the skeletal muscle to some extent limited the manifestation of the effects of F.

**Conclusion.** The experimental data obtained in model experiments on animals in the conditions of in situ testify to ability of selective  $\beta_2$ -adrenergic agonist formoterol to effectively compensate the deterioration in amplitude and temporary parameters of single and tetanic contractions of the skeletal muscle of the mixed type with predominant prevalence of glycolytic fibers at long dexamethasone administration.

**Keywords:** skeletal muscle; dexamethasone; iatrogenic hypercorticism; steroid myopathy; adrenergic agonists, formoterol.

#### References

1. Polunina A.G., Isaev F.V. and Dem'ianova M.A., Steroid myopathy, *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*, **112** (10-2), 60 (2012). (In Russian)
2. Pinheiro C.H., Sousa Filho W.M., Oliveira Neto J. and Marinho Mde., Exercise prevents cardiometabolic alterations induced by chronic use of glucocorticoids, *Arq. Bras. Cardiol.*, **93** (4), 400 (2009).
3. Schakman O., Gilson H. and Thissen J.P., Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy, *J. Endocrinology.*, **197**, 1 (2008).

4. Yamamoto D., Maki T. and Hemingtyas E.H., Branched-chain amino acids protect against dexamethasone-induced soleus muscle atrophy in rats, *Muscle Nerve*, **41** (6), 819 (2010).
5. Shimamoto S., Ijiri D., Kawaguchi M., Nakashima K., Tada O., Inoue H. and Ohtsuka A.,  $\beta_1$ - and  $\beta_2$ -adrenergic receptor stimulation differ in their effects on PGC-1 $\alpha$  and atrogin-1/MAFbx gene expression in chick skeletal muscle, *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, **211** (Sep.), 1 (2017).
6. Woodall B.P., Woodall M.C., Luongo T.S., Grisanti L.A., Tilley D.G., Elrod J.W. and Koch W.J., Skeletal Muscle-specific G Protein-coupled Receptor Kinase 2 Ablation Alters Isolated Skeletal Muscle Mechanics and Enhances Clenbuterol-stimulated Hypertrophy, *J. Biol. Chem.*, **291** (42), 21913 (2016).
7. Ohnuki Y., Umeki D., Mototani Y., Shiozawa K., Nariyama M., Ito A., Kawamura N., Yagisawa Y., Jin H., Cai W., Suita K., Saeki Y., Fujita T., Ishikawa Y. and Okumura S., Role of phosphodiesterase 4 expression in the Epac1 signaling-dependent skeletal muscle hypertrophic action of clenbuterol, *Physiol Rep.*, **4** (10), e12791 (2016).
8. Manfredi L.H., Lustrino D., Machado J., Silveira W.A., Zanon N.M., Navegantes L.C. and Kettelhut I.C. Adrenomedullation activates the Ca<sup>2+</sup>-dependent proteolysis in soleus muscles from rats exposed to cold, *J. Appl. Physiol.*, **122** (2), 317 (2017).
9. Shimamoto S., Ijiri D., Nakashima K., Kawaguchi M., Ishimaru Y., Furukawa A. and Ohtsuka A., Clenbuterol changes phosphorylated FOXO1 localization and decreases protein degradation in the sartorius muscle of neonatal chicks, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **80** (8), 1499 (2016).
10. Brown D.M., Jones S., Daniel Z.C.T.R., Brearley M.C., Lewis J.E., Ebling F.J.P., Parr T. and Brameld J.M., Effect of sodium 4-phenylbutyrate on Clenbuterol-mediated muscle growth, *PLoS One.*, **13** (7), e0201481 (2018).
11. Koeberl D.D., Case L.E., Smith E.C., Walters C., Han S.O., Li Y., Chen W., Hornik C.P., Huffman K.M., Kraus W.E., Thurberg B.L., Corcoran D.L., Bali D., Bursac N. and Kishnani P.S., Correction of Biochemical Abnormalities and Improved Muscle Function in a Phase I/II Clinical Trial of Clenbuterol in Pompe Disease, *Mol. Ther.*, Jul 5, S1525-0016(18)30309-5 (2018).
12. Milioto C., Malena A., Maino E., Polanco M.J., Marchioretto C., Borgia D., Pereira M.G., Blaauw B., Lieberman A.P., Venturini R., Plebani M., Sambataro F., Vergani L., Pegoraro E., Sorarù G. and Pennuto M., Beta-agonist stimulation ameliorates the phenotype of spinal and bulbar muscular atrophy mice and patient-derived myotubes, *Sci. Rep.*, **24** (7), 41046 (2017).
13. Wannenes F., Magni L., Bonini M., Dimauro I., Caporossi D., Moretti C. and Bonini S., In vitro effects of Beta-2 agonists on skeletal muscle differentiation, hypertrophy, and atrophy, *World Allergy Organ J.*, **5** (6), 66 (2012).
14. Abo T., Iida R.H., Kaneko S., Suga T., Yamada H., Hamada Y. and Yamane A., IGF and myostatin pathways are respectively induced during the earlier and the later stages of skeletal muscle hypertrophy induced by clenbuterol, a  $\beta_2$ -adrenergic agonist, *Cell Biochem. Funct.*, **30** (8), 671 (2012).
15. Dutt V., Gupta S., Dabur R., Injeti E. and Mittal A., Skeletal muscle atrophy: Potential therapeutic agents and their mechanisms of action, *Pharmacol Res.*, **99** (Sep.), 86 (2015).
16. Umeki D., Ohnuki Y., Mototani Y., Shiozawa K., Suita K., Fujita T., Nakamura Y., Saeki Y. and Okumura S., Protective Effects of Clenbuterol against Dexamethasone-Induced Masseter Muscle Atrophy and Myosin Heavy Chain Transition, *PLoS One.*, **10** (6), e0128263 (2015).
17. Kamaliev R.R., Grishin S.N., Falou Zh.Yu. and Ziganshin A.U., The effect of hydrocortisone, ATP and adenosine on rat skeletal muscle contraction, *Kazan medical journal*, **90** (4), 556 (2009) (In Russian).
18. Trush V.V. and Sobolev V.I., The modulating influence of adrenaline on the development of the steroid myopathy induced by long application of hydrocortisone at white rats, *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*, **61** (3), 104 (2017) (In Russian).
19. Ohnuki Y., Umeki D., Mototani Y., Jin H., Cai W., Shiozawa K., Suita K., Saeki Y., Fujita T., Ishikawa Y. and Okumura S., Role of cyclic AMP sensor Epac1 in masseter muscle hypertrophy and myosin heavy chain transition induced by  $\beta_2$ -adrenoceptor stimulation, *J. Physiol.*, **592** (24), 5461 (2014).
20. Cameron R.B., Beeson C.C. and Schnellmann R.G., Structural and pharmacological basis for the induction of mitochondrial biogenesis by formoterol but not clenbuterol, *Sci Rep.*, **7** (1), 10578 (2017).
21. Kaasik P., Seene T., Umnova M. and Alev K., The mechanism of action of glucocorticoids in the rat skeletal muscle, *Balt. J. Lab. Anim. Sci.*, **10** (3-4), 185 (2000).

22. Martin A.I., Gómez-San Miguel A.B., Priego T. and Lopez-Calderon A., Formoterol treatment prevents the effects of endotoxin on muscle TNF/NF- $\kappa$ B, Akt/mTOR and proteolytic pathways in a rat model. Role of IGF-I and miRNA 29b, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, Jul 3, E705 (2018).
23. Sirvent P., Douillard A., Galbes O., Ramonatxo C., Py G., Candau R. and Lacampagne A., Effects of chronic administration of clenbuterol on contractile properties and calcium homeostasis in rat extensor digitorum longus muscle, *PLoS One*, **9** (6), e100281 (2014).
24. Rios R., Carneiro I., Arce V.M. and Devesa J., Myostatin regulates cell survival during C2C12 myogenesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **280**, 561 (2001).
25. Voznesenskij N.A., Formoterolum (Foradil) in treatment of bronchial asthma, *Lechebnoe delo (Medical Act)*, 4, 52 (2006) (In Russian).
26. Black J.L., Oliver B.G. and Roth M., Molecular mechanisms of combination therapy with inhaled corticosteroids and long-acting beta-agonists, *Chest*, **136** (4), 1095 (2009).
27. Riso E.M., Ahtikoski A., Alev K., Kaasik P., Pehme A. and Seene T., Relationship between extracellular matrix, contractile apparatus, muscle mass and strength in case of glucocorticoid myopathy, *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, **108**, 117 (2008).
28. Mironova A.N. and Bunatyan N.D., eds. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv* (Moscow: Minzdrav RF, ZAO «Grif i K», 2012) (In Russian).
29. Kim J.H., Kwak M.K., Ahn S.H., Kim H., Cho Y.Y., Suh S., Kim B.J., Song K.H., Lee S.H. and Koh J.M., Alteration in skeletal muscle mass in women with subclinical hypercortisolism, *Endocrine*, **61** (1), 134 (2018).
30. Borisova E.O., Clinical pharmacology of parenteral forms of glucocorticoids, *Lechebnoe delo (Medical Act)*, 3, 17 (2007) (In Russian).
31. Galea V., De Bruin H., Cavašin R. and McComas A.J., The number and relative size of motor units estimated by computer, *Muscle and Nerve*, **14**, 1123 (1991).
32. Jiao H., Zhou K., Zhao J., Wang X. and Lin H., A high-caloric diet rich in soy oil alleviates oxidative damage of skeletal muscles induced by dexamethasone in chickens, *Redox Rep.*, **23** (1), 68 (2018).
33. Kulinskij V.I. and Kolesnechenko L.S., Catecholamine: biochemistry, pharmacology, physiology, clinic, *Topics in Medicinal Chemistry*, **48** (1), 45 (2002) (In Russian).
34. Watt M.J., Stellingwerff T., Heigenhauser G.J.F. and Spriet L.L., Effects of plasma adrenaline on hormone-sensitive lipase at rest and during moderate exercise in human skeletal muscle, *J. Physiol.*, **550** (1), 325 (2003).
35. Knych H.K., Harrison L.M., Steinmetz S.J., Chouicha N. and Kass P.H., Differential expression of skeletal muscle genes following administration of clenbuterol to exercised horses, *BMC Genomics*, **17** (9), 596 (2016).
36. Sakai H., Kimura M., Tsukimura Y., Yabe S., Isa Y., Kai Y., Sato F., Kon R., Ikarashi N., Narita M., Chiba Y. and Kamei J., Dexamethasone exacerbates cisplatin-induced muscle atrophy, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, Aug 23, 30137654 (2018).
37. Ngala R.A., O'Dowd J.F., Stocker C.J., Cawthorne M.A. and Arch J.R.,  $\beta$ 2-adrenoceptor agonists can both stimulate and inhibit glucose uptake in mouse soleus muscle through ligand-directed signalling, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **386** (9), 761 (2013).
38. Py G., Ramonatxo C., Sirvent P., Sanchez A.M., Philippe A.G., Douillard A., Galbès O., Lionne C., Bonniou A., Chopard A., Cazorla O., Lacampagne A. and Candau R.B., Chronic clenbuterol treatment compromises force production without directly altering skeletal muscle contractile machinery, *J. Physiol.*, **593** (8), 2071 (2015).
39. MacIntosh B., Gardiner Ph. and McComas A.J., *Skeletal muscle. Form and function* (Champaign: Human Kinetics, 2th ed., 1998).