

**УДК 591.182: 612.015.6/.018: 612.454: 612.741: 57.084.1**

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ АЛЬФАКАЛЬЦИДОЛА В КОМПЕНСАЦИИ НАРУШЕНИЙ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ ПРИ ДЕКСАМЕТАЗОНОВОМ ГИПЕРКОРТИЦИЗМЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА КРЫСАХ**

*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>*Гуманитарно-педагогическая академия (филиал) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Ялта, Республика Крым, Россия*

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

В экспериментах на крысах установлено, что альфакальцидол (АЛФ, 0,06 мкг/кг/сутки), вводимый в комплексе с дексаметазоном (ДМ, 0,25 мг/кг/2-е суток, на протяжении 30 дней), предотвратил характерное для ДМ-группы снижение амплитуды и ослабил степень удлинения латентного периода и уменьшения скорости укорочения и расслабления одиночных сокращений, а также предотвратил ухудшение амплитуды и скорости тетанического сокращения мышцы и укорочение периода максимальной ее работоспособности, отмеченные в ДМ-группе. Введение АЛФ в комплексе с ДМ обусловило большую скорость восстановления мышцы после утомляющей работы и существенно уменьшило снижение относительно контроля массы мышцы и степени ее посттетанической потенциации в сравнении с ДМ-группой. Полученные факты позволяют рассматривать АЛФ как одно из относительно эффективных средств для ослабления выраженности функциональных расстройств в скелетной мышце при длительной глюкокортикоидной терапии.

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

### **ВВЕДЕНИЕ**

Известно, что длительная терапия глюкокортикоидами (ГК), наряду с развитием остеопороза, зачастую сопровождается ухудшением сократительных параметров скелетных мышц (СМ), что приводит к развитию мышечной слабости, повышенной их утомляемости и увеличивает вероятность падений и низкотравматичных переломов костей [1–3]. Развивающийся дефицит витамина D существенно ухудшает состояние опорно-двигательной системы в условиях избытка ГК. В частности, известно, что длительная ГК-терапия предопределяет снижение активности 25 $\alpha$ -гидроксилазы печени и соответственно нарушение образования кальцидиола и кальцитриола в организме даже при достаточном экзогенном поступлении витамина D, а также уменьшение чувствительности тканей к кальцитриолу из-за ослабления экспрессии VDR [4].

Дефицит витамина D и собственно фармакологические дозы ГК негативно влияют на кальциевый гомеостаз, что еще более усугубляет состояние опорно-двигательной системы. В частности, ГК ослабляют абсорбцию кальция из

кишечного содержимого и стимулируют экскрецию кальция в канальцах почек, тем самым обуславливая резко отрицательный баланс кальция, что предопределяет мышечные спазмы в сочетании с гиперкальциурией, гипокальциемией и вторичным гиперпаратиреозом [5]. Гипокальциемия и собственно ГК вызывают повышение секреции паратиринина и снижение уровня ИФР-I, что обуславливает развитие остеопении и остеопороза, а также нарушение анаболического действия ИФР-I на костную, хрящевую, мышечную и другие ткани [6].

Кроме того, не только непосредственное катаболическое действие фармакологических доз ГК на мышечные волокна (МВ) [7, 8], но и собственно дефицит в организме активного метаболита витамина D – кальцитриола – может послужить причиной уменьшения мышечной массы, силы и дистрофических изменений МВ II типа [9]. Кальцитриол же способен модулировать активность генов, регулирующих рост и дифференцировку МВ, особенно II типа [10].

В связи с этим становится очевидным, что введение частично активированной формы витамина D – альфакальцидола (АЛФ) – в комплексе с ГК должно хотя бы отчасти предотвращать дистрофические изменения СМ и в связи с этим может оказаться полезным для компенсации не только ГК-индуцированного остеопороза, но и стероидной миопатии.

Вместе с тем, если эффективность витамина D и его активированных метаболитов в ослаблении негативных эффектов ГК-терапии на костную ткань изучена достаточно хорошо [11–13], то работы, посвященные оценке эффективности этих веществ в компенсации стероидной миопатии, крайне малочисленны [14, 15]. Более того, позитивные эффекты частично активированной формы витамина D – альфакальцидола – на мышечный аппарат признаются далеко не всеми специалистами [16].

*Целью настоящей работы* явилось изучение в экспериментах на крысах эффективности альфакальцидола (0,06 мкг/кг/сутки) в компенсации нарушений сократительной функции скелетной мышцы, вызванных длительным введением дексаметазона (0,25 мг/кг/2-е суток, на протяжении 30 дней).

В качестве объекта исследования была выбрана передняя большеберцовая мышца, характеризующаяся существенным преобладанием гликолитических волокон, проявляющих гораздо более высокую, в сравнении с оксидативными волокнами, чувствительность к катаболическому действию ГК [17]. Использование для компенсации стероидной миопатии именно АЛФ, а не витамина D или его гормонально активного метаболита кальцитриола, было обусловлено следующими обстоятельствами. АЛФ, в отличие от витаминов D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>, превращается в гормонально активную форму – кальцитриол – в результате однократного гидроксирования в различных структурах организма [18], что важно при длительной ГК-терапии, сопровождающейся снижением активности 25 $\alpha$ -гидроксилазы печени и соответственно нарушением образования кальцидиола и кальцитриола в организме даже при достаточном экзогенном поступлении витамина D [19]. В то же время, АЛФ, в отличие от кальцитриола, более безопасен в плане возможного развития гиперкальциемии [20].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При выполнении экспериментов строго придерживались положений Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств [21]. Протокол эксперимента, содержание животных и выведение их из опыта были составлены в соответствии с Европейской конвенцией о защите животных, используемых в эксперименте (директива 86/609/ЕЕС). Работа одобрена этическим комитетом университета.

Исследования проведены на 40 крысах-самках возрастом 4–5 месяцев (масса тела 195–205 г), разделенных на 4 группы по 10 особей в каждой: К-группа (контрольная, интактная), ДМ-группа (получали дексаметазон, ДМ), ДМ+АЛФ-группа (получали дексаметазон в комплексе с альфакальцидолом, АЛФ) и АЛФ-группа (получали только альфакальцидол). Препараты вводили в течение 30 дней в дозах, адекватных терапевтическим для человека: дексаметазон (KRKA, Словения) – в дозе 0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток, внутривентриально, альфакальцидол («Альфа D3-Тева», Catalent Germany Eberbach GmbH, Германия) – в дозе 0,06 мкг/кг, ежедневно, перорально.

По окончании срока введения препаратов с помощью метода миографии в условиях *in situ* исследовали функциональные параметры передней большеберцовой мышцы (*m. tibialis anterior*) при разных режимах стимуляции малоберцового нерва.

После наркотизации (тиопентал натрия, 100 мг/кг, внутривентриально) у животного препаровали малоберцовый нерв и подводили под него раздражающие электроды стимулятора. Стопу задней лапки с помощью лигатуры крепили к потенциометрическому датчику перемещения.

*Алгоритм опыта состоял из 4 этапов.* На 1-ом этапе в течение 5 секунд регистрировали одиночные сокращения мышцы с внешней нагрузкой 20 г при стимуляции нерва сверхпороговыми электрическими импульсами (сила тока – 500 мкА, длительность – 150 мкс каждый, частота – 4 имп/с). На основании полученных записей измеряли ряд параметров одиночного сокращения мышцы: амплитуду, латентный период, скорость укорочения и расслабления.

На 2-ом этапе дважды регистрировали сокращение мышцы с внешними нагрузками 20 г и 70 г. При каждой регистрации использовали серию сверхпороговых импульсов с плавно нарастающей частотой от 4 до 70 имп/с (длительность импульса – 50 мкс, сила тока – 1000 мкА). На основании полученных записей определяли максимально достижимую амплитуду тетануса, время и скорость ее достижения, а также амплитуды одиночного сокращения до и после развития тетануса, по процентному изменению которых оценивали *степень посттетанической потенциации*.

На 3-ем этапе опыта проводилась регистрация кривой тетанического сокращения мышцы с грузом 70 г в процессе выполнения утомляющей работы (УР). Последнюю индуцировали путем раздражения нерва импульсами силой тока 1000 мкА при частоте 70 имп/с (длительность импульсов – 0,5 мс) вплоть до фактического расслабления мышцы. На основании полученных записей определяли максимальную амплитуду тетанического сокращения мышцы, время ее достижения, мощность сокращения, продолжительность удержания амплитуды сокращения на

максимально возможном уровне (период максимальной работоспособности мышцы).

На заключительном 4-ом этапе после выполнения мышцей УР вновь регистрировали серию одиночных сокращений при частоте стимуляции 4 имп/с.

Эвтаназию животных проводили путем введения летальной дозы тиопентала натрия (300 мг/кг).

Для регистрации сокращений мышцы использовалась установка, включающая электростимулятор, построенный на основе функционального генератора ICL8038CCDP, эргометрический канал, представленный потенциометрическим датчиком ПТП-1 с усилителем тока, а также запоминающий цифровой осциллограф Tektronix (TDS2004C).

*Статистическая обработка экспериментальных данных* проводилась с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 7.0. Статистическую значимость различий между двумя средними арифметическими величинами (при условии сохранения нормального закона распределения, W-тест Шапиро-Уилка), определяли с помощью двухвыборочного t-теста Стьюдента для выборок с различными дисперсиями при заданном уровне значимости  $p < 0.05$ . В общем случае сравнение анализируемых показателей и статистическую оценку различий проводили общепринятыми методами, используемыми в вариационной статистике, на основании проверки нулевой и альтернативной гипотез. Численное значение исследуемых параметров выражали в виде «среднее  $\pm$  стандартная ошибка».

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изолированное длительное введение ДМ привело к ухудшению в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) амплитудных и временных параметров одиночного сокращения мышцы (рис. 1), уменьшению ее массы и степени посттетанической потенциации (рис. 2). Эти факты косвенно свидетельствуют в пользу дистрофических изменений МВ, особенно гликолитического типа.

Введение АЛФ в комплексе с ДМ модулировало характер изменения параметров одиночного сокращения мышцы в сравнении с ДМ-группой.

Во-первых, введение АЛФ в комплексе с ДМ предотвратило типичное для ДМ-группы значимое относительно контроля ( $p < 0,05$ ) снижение исходной амплитуды одиночных сокращений (рис. 1Б).

Во-вторых, АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, ослабил в сравнении с ДМ-группой ( $p < 0,05$ ) степень удлинения латентного периода и уменьшения скорости укорочения исходных одиночных сокращений мышцы, но не предотвратил полностью изменения данных показателей относительно контроля ( $p < 0,05$ , рис. 1А, 1В).

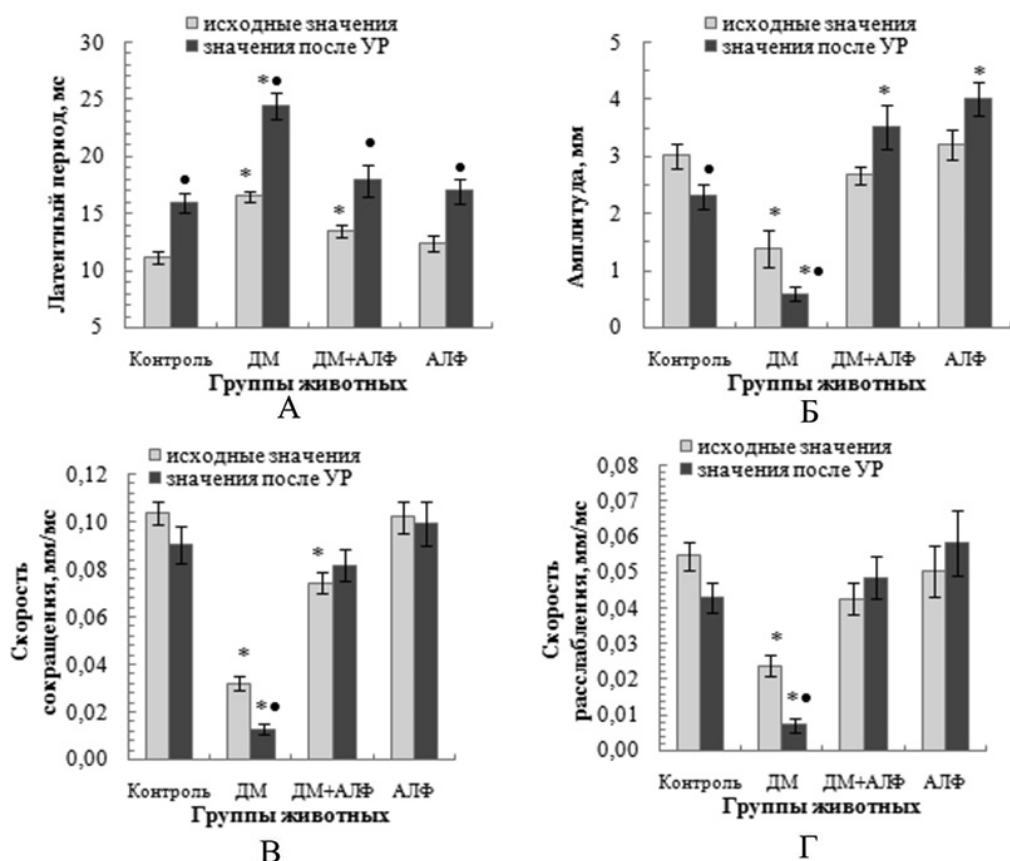


Рис. 1. Средние значения параметров одиночного сокращения мышцы (А-Г) животных разных групп до и после выполнения утомляющей работы

Примечание: \* – различия показателя статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы; • – значение показателя после УР достоверно отличается ( $p < 0,05$ ) относительно исходного значения соответствующей группы.

В-третьих, у животных ДМ+АЛФ-группы наблюдалась лишь тенденция к уменьшению скорости расслабления мышцы при одиночном сокращении, которая не достигала статистически значимого характера, тогда как в ДМ-группе этот параметр уменьшался в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ , рис. 1Г).

Наконец, АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, существенно ослабил в сравнении с ДМ-группой выраженность уменьшения массы мышцы (рис. 2А) и степени посттетанической потенциации (рис. 2Б). Вместе с тем, тенденция к уменьшению массы мышцы относительно контроля в ДМ+АЛФ-группе сохранялась (рис. 2А), а степень посттетанической потенциации была значимо ниже контроля ( $p < 0,05$ , рис. 2Б).

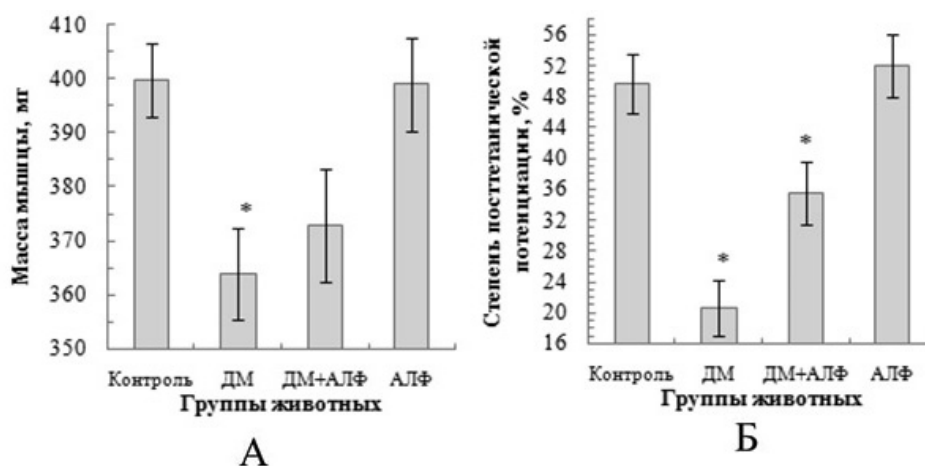


Рис. 2. Средние значения массы мышцы (А) и степени ее посттетанической потенциации (Б) у животных разных групп

*Примечание:* \* – различия показателя статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы.

Наблюдаемые нами у животных ДМ+АЛФ-группы менее выраженное в сравнении с ДМ-группой удлинение латентного периода одиночного сокращения мышцы указывает в пользу меньшей степени нарушения электромеханического сопряжения в МВ, тогда как менее выраженное снижение скорости сокращения и лишь тенденция к уменьшению скорости расслабления одиночного сокращения свидетельствуют о меньшей степени снижения удельной доли быстрых МВ, задействованных в сокращении.

Вместе с тем, некоторое уменьшение скорости укорочения у животных ДМ+АЛФ-группы относительно контроля свидетельствует в пользу частичного уменьшения доли быстрых МВ, задействованных в сокращении, в том числе в результате возможного дистрофического их повреждения. Косвенным доказательством уменьшения доли быстрых МВ, задействованных в сокращении у животных, получавших ДМ в комплексе с АЛФ, служит и уменьшение степени посттетанической потенциации в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ , рис. 2Б). Отсутствие же значимых изменений амплитуды одиночного сокращения мышцы у животных ДМ+АЛФ-группы (рис. 1Б) на фоне меньшей, чем у контроля, степени посттетанической потенциации и тенденции к уменьшению массы мышцы (рис. 2А, Б), скорее всего, обусловлено эффективным компенсаторным спрутингом дистрофически измененных МВ, а не полным отсутствием их дистрофических изменений.

Следовательно, АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, не предотвратил полностью дистрофических изменений части МВ, особенно гликолитического типа, в передней большеберцовой мышце. Об этом свидетельствуют тенденция к уменьшению массы мышцы, уменьшение скорости укорочения и степени посттетанической потенциации, а также тенденция к уменьшению скорости расслабления,

сохранявшаяся в ДМ+АЛФ-группе. Вместе с тем, степень нарушения параметров одиночного сокращения у животных, получавших пару препаратов (ДМ+АЛФ), была гораздо меньшей в сравнении с изолированным введением ДМ, что отчасти может быть связано как с анаболическим влиянием метаболита АЛФ – кальцитриола – на МВ, так и с более эффективным компенсаторным спрутингом дистрофически измененных МВ.

Наряду с ухудшением исходных параметров одиночного сокращения мышцы, длительное изолированное введение ДМ обуславливало большую, в сравнении с контролем, степень их изменения после выполнения УР. Так, выполнение УР мышцей животных ДМ-группы сопровождалось значимо более существенным, в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ), удлинением латентного периода одиночного сокращения, уменьшением его амплитуды и не характерным для контроля уменьшением скорости укорочения и расслабления при одиночном сокращении (рис. 1 А-Г). Данные факты указывают в пользу более высокой утомляемости и меньшей скорости восстановления после утомления мышцы животных ДМ-группы.

АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, ослабил выраженность нарушения параметров одиночного сокращения мышцы после УР в сравнении с ДМ-группой. Так, АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил типичное для ДМ-группы и не характерное для контроля уменьшение скорости укорочения и расслабления после УР (рис. 1В-Г). Кроме того, в ДМ+АЛФ-группе, в отличие от ДМ-группы и контроля, не наблюдалось значимого относительно исходного уровня уменьшения амплитуды одиночных сокращений после УР, что было характерно и для АЛФ-группы (рис. 1Б). Данный факт свидетельствует в пользу более быстрой нормализации электромеханического сопряжения после УР в МВ мышцы животных ДМ+АЛФ-группы и соответственно в пользу большей скорости восстановления мышцы после утомления.

Таким образом, АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, ослабил уменьшение мышечной массы, степени посттетанической потенциации и ухудшение параметров одиночного сокращения мышцы, типичные при длительном введении ДМ, и обусловил даже некоторое ускорение восстановления мышцы после утомления в сравнении не только с ДМ-группой, но и контролем.

Для более детальной оценки сократительной функции мышцы животных всех групп на следующем этапе наших исследований мы сочли необходимым оценить параметры тетанического ее сокращения, которое она зачастую развивает в реальных условиях.

С этой целью проводили регистрацию кривых сокращения мышцы в условиях 6-ти секундных тетанусов с внешними нагрузками 20 г и 70 г. Анализ амплитудных и временных параметров тетанического сокращения мышцы позволил выявить ухудшение в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) амплитуды (на 26 %) и скорости развития тетануса (на 33 %) в ДМ-группе, проявлявшееся только при условии работы мышцы с большей нагрузкой (70 г, табл. 1).

Изолированное применение АЛФ обусловило увеличение в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) скорости развития тетануса как при малой (20 г), так и при большей (70 г) внешней нагрузке (табл. 1).

Таблица 1

Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) некоторых параметров тетанического сокращения мышцы контрольных животных и крыс, получавших дексаметазон (ДМ) и альфакальцидол (АЛФ) изолированно и комплексно (ДМ+АЛФ)

Параметры тетанического сокращения при внешних нагрузках 20 г и 70 г					
Группа животных	Внешняя нагрузка – 20 г		Внешняя нагрузка – 70 г		Изменение скорости тетануса при нагрузке 70 г относительно таковой при нагрузке 20 г, %
	амплитуда тетануса, мм	скорость развития тетануса, мм/с	амплитуда тетануса, мм	скорость развития тетануса, мм/с	
К	15,6±1,14	5,9±0,39	13,8±1,13	4,8±0,32	-20,0±4,19
ДМ	16,4±1,34	5,7±0,32	10,3±0,90 [-26 %*]	3,2±0,24 [-33 %*]	-43,4±6,72*
АЛФ	17,9±1,12	9,4±1,08 [+58 %*]	16,3±0,96	6,7±0,59 [+42 %*]	-28,4±4,29
ДМ+АЛФ	17,7±1,69	8,7±0,98 [+47 %*], +54 <sup>x</sup>	14,3±1,48 +40 <sup>x</sup>	5,0±0,53 +58 <sup>x</sup>	-42,2±5,43*

Примечание: \* – различия статистически значимы относительно соответствующего значения контрольной группы ( $p < 0,05$ ); <sup>x</sup> – указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения ДМ-группы (в %,  $p < 0,05$ ).

АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил типичное для ДМ-группы уменьшение амплитуды и скорости развития тетануса при работе мышцы с большей нагрузкой (70 г) и обусловил типичное для АЛФ-группы ускорение развития тетануса, но только в режиме работы мышцы с малой нагрузкой (20 г, табл. 1). Вместе с тем, при работе мышцы животных ДМ+АЛФ-группы с большей нагрузкой (70 г) увеличения скорости развития тетануса, характерного для АЛФ-группы, не наблюдалось, и подобно ДМ-группе имело место более выраженное, в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ), процентное уменьшение скорости развития тетануса при нагрузке в 70 г относительно таковой при нагрузке в 20 г (табл. 1). Оба эти факта указывают в пользу того, что нагрузка в 70 г для мышцы животных ДМ+АЛФ-группы представляла бóльшую сложность, чем для контроля и АЛФ-группы, что косвенно указывает на ухудшение силовых характеристик мышцы, как при изолированном применении ДМ, так и при комплексном его введении с АЛФ.

На заключительном этапе наших исследований при работе мышцы с внешней нагрузкой 70 г вплоть до полного ее расслабления на фоне продолжающейся электрической стимуляции малоберцового нерва оценивались амплитудные, временные параметры, а также работоспособность мышцы животных разных групп.

Анализ полученных данных показал, что длительное изолированное введение ДМ приводило к уменьшению, в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ), амплитуды и



мощности тетануса, а также укорочению периода максимальной работоспособности мышцы (рис. 3). В основе ухудшения амплитудных параметров тетанического сокращения у животных ДМ-группы 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 мышце. Учитывая способность фармакологических доз ГК вызывать очаговые деструктивные изменения в МВ особенно гликолитического типа [17], а также наблюдаемое нами уменьшение массы мышцы и амплитуды ее одиночных сокращений у крыс ДМ-группы, свидетельствующие в пользу десинхронизации возбуждения в мышце и возможного выключения части патологически измененных МВ из возбуждения и сокращения, все эти патологические изменения могли послужить причиной ухудшения амплитудных параметров тетанического сокращения.

Кроме того, одной из причин уменьшения скорости тетануса может быть существенное ухудшение силы, развиваемой МВ у животных ДМ-группы, в результате чего эта нагрузка вызывает более длительное изометрическое сокращение, ее компенсирующее, после чего мышца приобретает способность поднимать такой груз. Наконец, не исключено, что замедление развития тетануса у особей ДМ-группы может быть следствием уменьшения доли быстрых МВ, задействованных в сокращении, по причине дистрофических их изменений.

Укорочение продолжительности максимальной работоспособности мышцы у крыс ДМ-группы отражает более выраженное нарушение энергообмена в МВ в динамике выполнения УР в сравнении с контролем, обуславливающее более быстрое наступление ацидоза, снижение возбудимости МВ и частичное их выключение из сокращения в процессе развития утомления.

АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил ухудшение амплитудных и временных параметров тетанического сокращения мышцы относительно контроля (рис. 3).

Данные факты свидетельствуют в пользу способности АЛФ предотвращать развитие как тяжелых структурных, так и функциональных, в том числе энергетических нарушений в МВ, обуславливающих ухудшение параметров тетанического сокращения мышцы и ее работоспособности.

Подводя итог изложенному, необходимо заключить, что АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил снижение амплитуды одиночного и тетанического сокращений, но в ДМ+АЛФ-группе все же выявлялись некоторые нарушения параметров одиночного сокращения: значимые относительно контроля удлинение латентного периода и уменьшение скорости сокращения, а также тенденция к уменьшению скорости расслабления. Кроме того, для животных, получавших пару препаратов, было характерно уменьшение степени посттетанического потенцирования и тенденция к уменьшению массы мышцы.

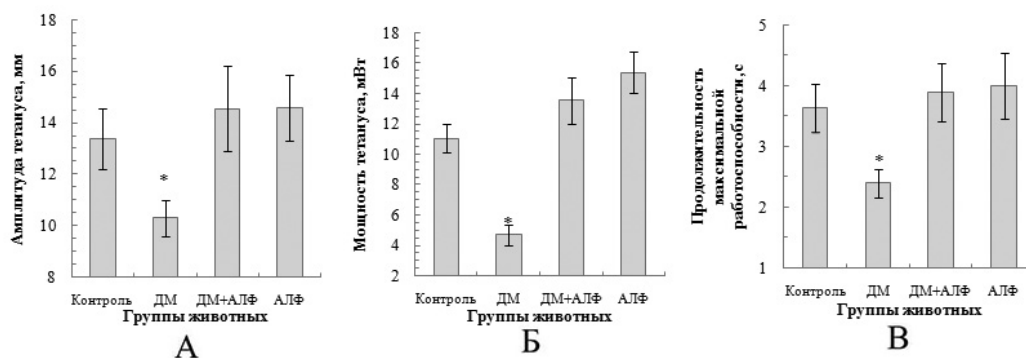


Рис. 3. Средние значения параметров тетанического сокращения мышцы (А-В) при выполнении высокочастотной утомляющей работы (частота стимуляции – 70 имп/с, внешняя нагрузка – 70 г) у животных разных групп

Примечание: \* – различия показателя статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы.

Вместе с тем, все эти нарушения параметров одиночного сокращения в ДМ+АЛФ-группе были выражены в гораздо меньшей степени, чем при изолированном применении ДМ, а параметры тетанического сокращения у животных, получавших пару препаратов, фактически не страдали. Более того, для животных ДМ+АЛФ-группы была к тому же характерна даже более высокая, в сравнении с контролем, скорость восстановления СМ после УР.

Полученные нами факты позволяют рассматривать АЛФ как одно из относительно эффективных средств для ослабления выраженности функциональных нарушений в СМ при длительной ГК-терапии. Учитывая к тому же возможный дефицит витамина D в организме при длительном приеме ГК [4], а также способность АЛФ компенсировать гипокальциемию [4] и улучшать метаболизм костной и хрящевой ткани [11, 13] при ГК-терапии, становится обоснованным прием АЛФ для компенсации многих негативных эффектов длительно вводимых ГК, в том числе на нервно-мышечный аппарат.

Наблюдаемые нами в условиях *in situ* изменения эргометрических параметров скелетной мышцы животных ДМ- и ДМ+АЛФ-групп указывают в пользу выраженных сократительных нарушений у особей ДМ-группы, а также сниженной способности мышцы к восстановлению после УР. АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, существенно ослабил выраженность сократительных нарушений и предотвратил ухудшение устойчивости мышцы к утомлению, типичное для ДМ-группы. Вместе с тем, АЛФ не смог полностью предотвратить уменьшение мышечной массы, а также ухудшение некоторых скоростных параметров одиночного сокращения мышцы и ее силовых характеристик.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил типичное для ДМ-группы уменьшение массы мышцы, но тенденция к ее уменьшению в ДМ+АЛФ-группе все же сохранялась.
2. Введение АЛФ в комплексе с ДМ предотвратило типичное ДМ-группы снижение амплитуды и ослабило степень удлинения латентного периода и уменьшения скорости укорочения и расслабления одиночных сокращений, а также существенно уменьшило снижение относительно контроля степени посттетанической потенциации в сравнении с ДМ-группой. Данные факты косвенно указывают в пользу меньшей выраженности дистрофических изменений быстрых МВ мышцы животных ДМ+АЛФ-группы в сравнении с ДМ-группой.
3. АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил ухудшение амплитуды и скорости тетанического сокращения при работе мышцы с большей нагрузкой (70 г), типичное для ДМ-группы. Более того, при малой внешней нагрузке (20 г) у животных ДМ+АЛФ-группы наблюдалось характерное и для АЛФ-группы увеличение скорости развития тетануса (на 47 %) в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ). Вместе с тем, у животных ДМ+АЛФ-группы сохранялось типичное для ДМ-группы более выраженное в сравнении с контролем снижение процентного отношения скорости тетануса при нагрузке в 70 г относительно таковой при нагрузке в 20 г, что косвенно указывает в пользу некоторого ухудшения силовых характеристик мышцы.
4. АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил укорочение периода максимальной работоспособности мышцы, типичное для ДМ-группы. Кроме того, мышца животных ДМ+АЛФ-группы характеризовалась большей скоростью восстановления после УР в сравнении с ДМ-группой. В пользу этого свидетельствуют отсутствие снижения амплитуды одиночных сокращений мышцы животных ДМ+АЛФ-группы после УР, типичное для ДМ-группы и контроля, а также отсутствие уменьшения скорости укорочения и расслабления при одиночном сокращении после УР, характерное для ДМ-группы.

## Список литературы

1. Oray M. Long-term side effects of glucocorticoids / M. Oray, K. A. Samra, N. Ebrahimiadib, H. Meese, C. S. Foster // *Expert Opin. Drug Saf.* – 2016. – V. 15, №4. – P. 457–465.
2. Труш В. В. Оценка эффективности аргинина в компенсации стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением дексаметазона / В. В. Труш, В. И. Соболев, М. Н. Попов // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* – 2018. – V. 62, №4. – P. 120–129.
3. Труш В. В. Влияние длительного применения дексаметазона на электрофизиологические параметры скелетной мышцы крыс в покое и при развитии утомления / В. В. Труш, В. И. Соболев // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 2018. – V. 81, №5. – P. 21–26.
4. Shymanskyi I. O. Molecular and cellular mechanisms of vitamin D3 protection in experimental prednisolone-induced osteoporosis / I. O. Shymanskyi, O. Lisakovska, M. M. Veliky // *Pain, joints, spine.* – 2017. – V. 7, №3. – P. 93–101.
5. Compston J. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update / J. Compston // *Endocrine.* – 2018. – V. 61, №1. – P. 7–16.

6. Gardner D.G. Shoback D. (ed.) *Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology*. 10th Edition. / Gardner D. G. – N.-Y.: McGraw-Hill Education, 2018. – 938 p.
7. Canepari M. Structural and molecular adaptations to dexamethasone and unacylated ghrelin administration in skeletal muscle of the mice / M. Canepari, V. Agoni, L. Brocca, E. Ghigo, M. Gnesi, M. A. Minetto, R. Bottinelli // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2018. – V. 69, №2. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30045005/>. Accessed September 3, 2020.
8. Sakai H. Dexamethasone exacerbates cisplatin-induced muscle atrophy / H. Sakai, M. Kimura, Y. Tsukimura, S. Yabe, Y. Isa, Y. Kai, F. Sato, R. Kon, N. Ikarashi, M. Narita, Y. Chiba, J. Kamei // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2019. – V. 46, №1. – P. 19–28.
9. Салухов В. В. Костные и внескелетные эффекты витамина D, а также возможности медикаментозной коррекции его дефицита / В. В. Салухов, Е. А. Ковалевская, В. В. Курбанова // *Медицинский совет.* – 2018. – №4. – P. 90–99.
10. Gröber U. Vitamin D – Die Heilkraft des Sonnenvitamins / U. Gröber, M. F. Holick // *Zeitschrift für Orthomolekulare Medizin.* – 2020. – V. 18(02). – P. 30–31.
11. Matsumoto T. Eldecalcitol is superior to alfacalcidol in maintaining bone mineral density in glucocorticoid-induced osteoporosis patients (e-GLORIA) / T. Matsumoto, K. Yamamoto, T. Takeuchi, Y. Tanaka, S. Tanaka, T. Nakano, M. Ito, T. Tomomitsu, A. Hirakawa, S. Soen // *J. Bone Miner. Metab.* 2020. – V.38, №4. – P. 522–532.
12. Lv F. Effects of alendronate and alfacalcidol on bone in patients with myasthenia gravis initiating glucocorticoids treatment / F. Lv, Y. Guan, D. Ma, X. Xu, Y. Song, L. Li, Y. Jiang, O. Wang, W. Xia, X. Xing, M. Li // *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. – 2018. – V. 88, №3. – P. 380–387.
13. Jayasena A. Treatment of glucocorticoid-induced low bone mineral density in children: a systematic review / A. Jayasena, N. Atapattu, S. Lekamwasam // *Int. J. Rheum. Dis.* – 2015. – V.18, №3. – P. 287–293.
14. Miyakoshi N. Effects of a vitamin D analog, alfacalcidol, on bone and skeletal muscle in glucocorticoid-treated rats / N. Miyakoshi, H. Sasaki, Y. Kasukawa, K. Kamo, Y. Shimada // *Biomed. Res.* – 2010. – V. 31, №6. – P. 329–336.
15. Kinoshita H. Effects of eldecalcitol on bone and skeletal muscles in glucocorticoid-treated rats / H. Kinoshita, N. Miyakoshi, Yu. Kasukawa, S. Sakai, A. Shiraiishi, T. Segawa, K. Ohuchi, M. Fujii, C. Sato, Y. Shimada // *J. of Bone and Mineral Metabolism.* – 2016. – V. 34, №2. – P. 171–178.
16. Vervloet M. Clinical uses of 1-alpha-hydroxycholecalciferol / M. Vervloet // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2014. – V. 12, №2. – P. 300–305.
17. Schakman O. Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy / O. Schakman, H. Gilson, J. P. Thissen // *J. Endocrinology.* – 2008. – V. 197, №1. – P. 1–10.
18. Bikle D. D. Extraskeletal actions of vitamin D. / D. D. Bikle // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2016. – V. 1376, №1. – P. 29–52.
19. Башкова И. Б. Принципы ведения пациентов с глюкокортикоидным остеопорозом / И. Б. Башкова, И. В. Мадянов // *Российский медицинский журнал (РМЖ).* – 2018. – №12(II). – С. 99–102.
20. Крюкова И. В. Возможности альфакальцидола в профилактике и лечении различных форм остеопороза / И. В. Крюкова // *Российский медицинский журнал (РМЖ).* – 2016. – №20. – С. 1359–1363.
21. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Миронова А. Н., Бунарян Н. Д., ред. Москва: Минздрав РФ, ЗАО «Гриф и К», 2012. – 944 с.

EFFICIENCY OF ALPHACALCIDOL IN COMPENSATION OF DISORDERS OF CONTRACTILE FUNCTIONS OF THE SKELETAL MUSCLE WITH DEXAMETHAZONE HYPERCORTICISM IN EXPERIMENTS ON RATS

*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, Simferopol, Crimea, Russian Federation*

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

The aim of the research was to study in experiments on rats the effectiveness of alfalcidol (ALF, 0,06 µg/kg/day) in compensating of disorders of the contractile function of skeletal muscle induced by prolonged administration of dexamethasone (DM, 0,25 mg/kg/2 days, treated for 30 days).

**Methods.** The experiments were performed on sexually mature female rats (195–205 g), divided into 4 groups: control (n=10, C-group), first experimental (n=10, treated dexamethasone, DM-group), second experimental (n=10, treated dexamethasone in combination with alfalcidol, DM+ALF-group) and third experimental (n=10, treated alfalcidol, ALF-group). The medicines were administered in doses adequate to the therapeutic for humans for 30 days: dexamethasone (KRKA, Slovenia) – once every 2 days, i.p., at a dose of 0,25 mg/kg, alfalcidol (trademark “Alpha D3-Teva”, Catalent Germany Eberbach GmbH, Germany) – daily, orally, at a dose of 0,06 µg/kg. On anesthetized animals (sodium thiopental, 100 mg/kg) some functional parameters of the tibialis anterior muscle were studied using the myography method.

**Results.** ALF, administered in combination with DM, prevented a decrease in muscle mass, which was typical for the DM-group, but a decreasing tendency of muscle mass in the DM+ALF-group still persisted. The administration of ALF in combination with DM prevented a typical for DM-group decrease in amplitude and weakened the degree of lengthening of the latent period and a decrease in the rate of shortening and relaxation of single contractions, and also significantly reduced the decrease of the degree of post-tetanic potentiation in comparison with the DM-group. These facts indirectly indicate in a favor of a less pronounced of dystrophic changes in fast muscle fibers in the muscle of animals of the DM+ALF-group in comparison with the DM-group.

ALF, administered in combination with DM, prevented deterioration in the amplitude and in the rate of tetanic contraction during muscle work with a greater load (70 g), which was typical for the DM-group. Moreover, at a low external load (20 g) an increase in the rate of development of tetanus (by 47 %) was observed in animals of the DM+ALF-group in comparison with the control (p<0,05), what was typical for the ALF-group. At the same time, in the DM+ALF-group a more pronounced decrease in the percentage of tetanus rate under a load of 70 g relative to that under a load of 20 g were retained, which was typical for the DM-group and indirectly indicated in a favor of some deterioration in the strength characteristics of the muscle.

ALF, administered in combination with DM, prevented the shortening of the period of maximum muscle working capacity, which was typical for the DM-group. In addition, the muscle of animals of the DM+ALF-group was characterized by a higher rate of

recovery after fatigable work (FW) in comparison with the DM-group. This is evidenced by the absence of a decrease in the amplitude of single muscle contractions in animals of the DM+ALF-group after FW, which is typical for the DM-group and control, as well as the absence of a decrease in the rate of shortening and relaxation during a single contraction after FW, which is characteristic for the DM-group.

**Conclusion.** The changes in the functional parameters of the muscle of animals of the DM- and DM+ALF-groups indicate in a favor of pronounced contractile disorders in individuals of the DM-group, as well as a reduced ability of its muscles to recover after FW. ALF, administered in combination with DM, significantly weakened the severity of contractile disorders and prevented the deterioration of muscle resistance to fatigue, which was typical for the DM-group. At the same time, ALF could not completely prevent a decrease in muscle mass, as well as a deterioration of some rate parameters of a single muscle contraction and its strength characteristics.

**Keywords:** iatrogenic hypercorticoidism, steroid myopathy, dexamethasone, alfacalcidol, skeletal muscle.

### References

1. Oray M., Samra K. A., Ebrahimiadib N., Meese H., Foster C. S. Long-term side effects of glucocorticoids, *Expert Opin. Drug Saf.*, **15** (4), 457 (2016). DOI: <https://doi.org/10.1517/14740338.2016.1140743>
2. Trush V. V., Sobolev V. I., Popov M. N. Evaluation of arginine efficacy in control of steroid myopathy induced by long-term dexamethasone treatment in white rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. **62** (4), 120 (2018) (In Russian) DOI: <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2018.04.120-129>
3. Trush V. V., Sobolev V. I. Influence of long dexamethasone administration on electrophysiological parameters of the rat skeletal muscle at rest and exhaustion development. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. **81** (5), 21 (2018). (In Russian) DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2018-81-5-21-26>
4. Shymanskyi I. O., Lisakovska O., Veliky M. M. Molecular and cellular mechanisms of vitamin D3 protection in experimental prednisolone-induced osteoporosis. *Pain, joints, spine*. **7** (3), 93 (2017) DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-1507.7.3.2017.116863>
5. Compston J. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update. *Endocrine*. **61** (1), 7 (2018) DOI: <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1588-2>
6. Gardner D. G., Shoback D. (ed.) Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology. 10th Edition. — N.-Y.: McGraw-Hill Education, 2018.
7. Canepari M., Agoni V., Brocca L., Ghigo E., Gnesi M., Minetto M. A., Bottinelli R. Structural and molecular adaptations to dexamethasone and unacylated ghrelin administration in skeletal muscle of the mice. *J. Physiol. Pharmacol.* **69** (2) Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30045005/> (2018) DOI: <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.2.14>
8. Sakai H., Kimura M., Tsukimura Y., Yabe S., Isa Y., Kai Y., Sato F., Kon R., Ikarashi N., Narita M., Chiba Y., Kamei J. Dexamethasone exacerbates cisplatin-induced muscle atrophy. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **46** (1), 19 (2019). DOI: <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13024>
9. Salukhov V. V., Kovalevskaya E. A., Kurbanova V. V. Osteal and extraosteal effects of vitamin D and its opportunities of medication correction of its deficiency. *Meditinskiy sovet*. **4**, 90 (2018) (In Russian) DOI: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-4-90-99>
10. Gröber U., Holick M. F. Vitamin D – Die Heilkraft des Sonnenvitamins. *Zeitschrift für Orthomolekulare Medizin*. **18** (02), 30 (2020) DOI: <https://doi.org/10.1055/a-1207-4076>
11. Matsumoto T., Yamamoto K., Takeuchi T., Tanaka Y., Tanaka S., Nakano T., Ito M., Tomomitsu T., Hirakawa A., Soen S. Eldecalcitol is superior to alfacalcidol in maintaining bone mineral density in glucocorticoid-induced osteoporosis patients (e-GLORIA). *J. Bone Miner. Metab.* **38** (4), 522 (2020) DOI: <https://doi.org/10.1007/s00774-020-01091-4>

12. Lv F., Guan Y., Ma D., Xu X., Song Y., Li L., Jiang Y., Wang O., Xia W., Xing X., Li M. Effects of alendronate and alfacalcidol on bone in patients with myasthenia gravis initiating glucocorticoids treatment. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. **88** (3), 380 (2018) DOI: <https://doi.org/10.1111/cen.13537>
13. Jayasena A., Atapattu N., Lekamwasam S. Treatment of glucocorticoid-induced low bone mineral density in children: a systematic review. *Int. J. Rheum. Dis.* **18** (3), 287 (2015) DOI: <https://doi.org/10.1111/1756-185X.12560>
14. Miyakoshi N., Sasaki H., Kasukawa Y., Kamo K., Shimada Y. Effects of a vitamin D analog, alfacalcidol, on bone and skeletal muscle in glucocorticoid-treated rats. *Biomed. Res.* **31** (6), 329 (2010) DOI: <https://doi.org/10.2220/biomedres.31.329>
15. Kinoshita H., Miyakoshi N., Kasukawa Yu., Sakai S., Shiraishi A., Segawa T., Ohuchi K., Fujii M., Sato C., Shimada Y. Effects of eldecalcitol on bone and skeletal muscles in glucocorticoid-treated rats. *J. of Bone and Mineral Metabolism.* **34** (2), 171 (2016) DOI: <https://doi.org/10.1007/s00774-015-0664-4>
16. Vervloet M. Clinical uses of 1-alpha-hydroxycholecalciferol. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **12** (2), 300 (2014) DOI: <https://doi.org/10.2174/15701611113119990132>
17. Schakman O., Gilson H., Thissen J.P. Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy. *J. Endocrinology.* **197** (1), 1 (2008) DOI: <https://doi.org/10.1677/joe-07-0606>.
18. Bikle D.D. Extraskelatal actions of vitamin D. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1376** (1), 29 (2016) DOI: <https://doi.org/10.1111/nyas.13219>
19. Bashkova I. B., Madyanov I. V. Principles of management of patients with glucocorticoid osteoporosis. *Rossiiskij medicinskij zhurnal.* **12** (II), 99 (2018) (In Russian)
20. Kryukova I. V. Alfacalcidol for the prevention and treatment of osteoporosis. *Rossiiskij medicinskij zhurnal.* **20**, 1359 (2016) (In Russian)
21. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv (Guidelines for conducting preclinical studies of medicines). Mironova A. N., Bunatyan N. D., eds. Moscow: Minzdrav RF, ZAO «Grif i K», 2012 (In Russian)