

**УДК 577.112.385: 591.473.3: 615.357: 577.175.53: 612.532**

**DOI 10.29039/2413-1725-2023-9-1-235-248**

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ АРГИНИНА, УМЕРЕННОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ И ИХ КОМБИНАЦИИ В КОМПЕНСАЦИИ НАРУШЕНИЙ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ, ВЫЗВАННЫХ ВВЕДЕНИЕМ ДЕКСАМЕТАЗОНА**

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

<sup>1</sup>*Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования  
«Донецкий национальный университет», Донецк, ДНР, Россия*

<sup>2</sup>*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования  
«Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Ялта, Республика Крым, Россия  
E-mail: ver.trush@yandex.ru*

В экспериментах на крысах установлено, что применение в комплексе с дексаметазоном (ДМ, 0,25 мг/кг/2-е суток, на протяжении 10, 30 и 60 дней) аргинина (АРГ, 100 мг/кг/сутки) или умеренной физической нагрузки (ФН) динамического характера или их комбинации определенным образом модулировало эффекты ДМ на состоянии синаптической передачи. Все эти факторы предотвратили развитие исходной заблокированности синапсов, типичное для мышцы животных 30ДМ- и 60ДМ- групп. ФН и ее комбинация с аргинином существенно снизили частоту случаев сниженной надежности синаптической передачи, в сравнении с ДМ-группами (до 10 % в 10ДМ+АРГ+ПЛАВ-группе и полного их отсутствия в ДМ+ПЛАВ-группах), тогда как аргинин уменьшил (до 10–40 %) частоту этих случаев, но, в отличие от ФН, не предотвратил полностью их появление. Умеренная ФН эффективно предотвратила развитие постсинаптических нарушений, вызванных ДМ, тогда как аргинин несколько уменьшил частоту возникновения признаков постсинаптических нарушений (до 10–20 %) только при длительном применении с ДМ (на протяжении 30–60 дней).

**Ключевые слова:** скелетная мышца, дексаметазон, стероидная миопатия, аргинин, физическая нагрузка, крысы.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Несмотря на относительно хорошую изученность клиники стероидной миопатии, многие вопросы ее патогенеза, а тем более способы коррекции остаются до конца не ясными. В качестве рабочей гипотезы в настоящей работе было высказано предположение относительно возможной эффективности аргинина и умеренной физической нагрузки (ФН), применяемых по отдельности и в комплексе, в компенсации синаптических нарушений в нервно-мышечном аппарате (НМА), вызванных фармакологическими дозами глюкокортикоидов (ГК).

Выбор именно этих факторов для компенсации негативных эффектов ГК на НМА был обусловлен следующими обстоятельствами.

Выявлены позитивные эффекты системы «аргинин – оксид азота» на НМА: стабилизирующее влияние L-аргинина на мембраны лизосом мышечных волокон

(МВ) [1], предотвращение повышенной экспрессии в них убиквитинлигаз (атрогина-1 и MuRF-1) в условиях эксцентрической нагрузки [2], способность NO повышать доступность кислорода и субстратов окисления для МВ [3], стимулировать синтез цитоскелетных и сократительных белков в них [4]. Все эти эффекты аргинина и его метаболитов могут оказаться весьма полезным при ГК-терапии, поскольку известно, что одним из механизмов индукции дистрофических изменений скелетных мышц (СМ) под действием фармакологических доз ГК является усиление экспрессии атрогина-1 и MuRF-1, усиливающих распад цитоскелетных белков в МВ [5, 6].

В предыдущих наших исследованиях установлена эффективность аргинина в компенсации некоторых функциональных нарушений в СМ смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических МВ, вызванных длительным (на протяжении 30 дней) введением дексаметазона (ДМ) [7], а также эффективность умеренной ФН и ее комбинации с аргинином в предотвращении нарушения параметров М-ответа *m. tibialis anterior* при гиперкортицизме [8].

В некоторой степени полезными в ослаблении негативных эффектов фармакологических доз ГК на организм могут оказаться и умеренные ФН, особенно аэробного характера, стимулирующие накопление в СМ  $\alpha$ -кетоглутарата, ослабляющего атрофию МВ любого генеза [9]. Между тем, некоторыми специалистами [10] показано, что ФН высокой интенсивности через 5 недель после инъекции триамцинолона вызвали атрофию как быстрых, так и медленных СМ и еще более отягощали течение стероидной миопатии, в сравнении с изолированным применением триамцинолона. В то же время в литературе существует мнение относительно способности аргинина и его активных метаболитов улучшать переносимость организмом ФН [11, 12].

Учитывая имеющиеся в литературе данные относительно способности аргинина и умеренных ФН ослаблять выраженность мышечных дистрофий различного генеза, представляло интерес выяснить, насколько эти два фактора по отдельности и в комплексе окажутся эффективными в компенсации не только дистрофических, но и функциональных, в частности, синаптических нарушений в СМ при длительном введении ГК.

В связи с этим *целью данной работы* явилось изучение эффективности фармакологических доз аргинина (100 мг/кг/сутки), умеренной динамической ФН и их комбинации в компенсации электрофизиологических проявлений стероидной миопатии в динамике ее развития.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты были выполнены на 130 половозрелых молодых крысах-самках 4–5-месячного возраста с исходной массой тела 195–205 г. Животные были первоначально случайным образом разделены на 5 групп: контрольную (интактная, не подвергались никаким воздействиям,  $n=10$ , К-группа), I опытную ( $n=30$ , получали дексаметазон, ДМ-группа), II опытную ( $n=30$ , получали дексаметазон и подвергались ежедневному плаванию, ДМ+ПЛАВ-группа), III опытную ( $n=30$ , получали дексаметазон в комплексе с аргинином, ДМ+АРГ-группа) и IV опытную

(n=30, получали дексаметазон в комплексе с аргинином и подвергались плаванию, ДМ+АРГ+ПЛАВ-группа). В последующем каждая опытная группа была разделена на 3 группы (n=10 в каждой) в зависимости от продолжительности экспериментальных воздействий (10, 30 и 60 дней). Такой подход позволил нам проследить динамику изменений в НМА в процессе насыщения организма синтетическим ГК дексаметазоном, применяемым в комплексе с введением аргинина или действием ФН или комбинацией «аргинин + ФН».

Дексаметазон (производство фирмы KRKA, Словения) вводили в виде водного раствора дексаметазона натрия фосфата в дозе 0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток, внутривентриально, аргинин (торговая марка «Кардиоаргинин», «Здоровье», Украина) – в виде водного раствора, ежесуточно, подкожно, в дозе 100 мг/кг. Физической нагрузке животных ДМ+ПЛАВ- и ДМ+АРГ+ПЛАВ-групп начинали подвергать с 1-го дня введения препаратов, ежедневно до окончания периодов их введения.

ФН моделировали путем плавания в цилиндрической емкости с гладкой поверхностью (диаметр емкости 100 см, глубина 150 см) при температуре воды  $38 \pm 1$  °С без дополнительного отягощения. Плавание начинали с 5 минут в день. Первые 5 дней крысы плавали в мелкой воде (емкости диаметром 50 см и глубиной 50 см), после чего их переводили в более глубокую емкость (диаметр 100 см, глубина 150 см), в которой они плавали вплоть до окончания периода эксперимента. Ежедневно продолжительность плавания увеличивали на 5 минут, таким образом, что на 6-й день эксперимента животные плавали уже 30 минут, на 10-й – 50 минут, а на 12-й – 1 час. После достижения 1-часового периода плавания (т.е. спустя 12 дней эксперимента) его уже не удлиняли, соответственно в оставшиеся дни плавания (до окончания 2-месячного периода) животные плавали ежедневно на протяжении 60 минут в день.

По окончании сроков экспериментальных воздействий на наркотизированных животных (тиопентал натрия, 100 мг/кг, внутривентриально) проводили острый опыт, в котором с помощью методов стимуляционной электромиографии оценивали электрофизиологические параметры передней большеберцовой мышцы.

При этом в области бедра препаровали малоберцовый нерв и на расстоянии 1 см проксимальнее коленного сустава подводили под него раздражающие электроды. Затем в среднюю часть передней большеберцовой мышцы (*m. tibialis anterior*) вводили отводящие биполярные игольчатые стальные электроды с межэлектродным расстоянием 1 мм.

Для регистрации исследуемых показателей мышечного сокращения использовалась экспериментальная установка, состоящая из двух каналов: *канала электростимулятора и электромиографического*.

*Канал электростимулятора* представлен собственно электростимулятором, построенным на основе функционального генератора ICL8038CCDP, оптронной гальванической развязкой и биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным расстоянием 1 мм, которые подводились в области бедра под малоберцовый нерв. Данный канал служил для нанесения на нерв электрических раздражений определенной силы, частоты и длительности.

*Электромиографический канал* представлен отводящими биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным расстоянием 1 мм и электромиографическим биоусилителем, построенным на основе измерительного усилителя INA118. Этот канал предназначался для регистрации вызванных электрических ответов мышцы при раздражении электрическими стимулами малоберцового нерва – М-ответов. Предусматривалась соответствующая калибровка ЭМГ-канала, что позволило амплитуду ЭМГ-ответа выразить в абсолютных величинах (мВ).

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

*Ход опыта был следующим.* Вначале регистрировали одиночный М-ответ мышцы, индуцированный путем раздражения малоберцового нерва одиночными сверхпороговыми электрическими импульсами длительностью 150 мкс каждый с частотой 0,2 имп/с и силой тока 500 мкА. На основании записей одиночных М-ответов мышцы определяли их латентный период (мс), амплитуду волн (мВ) и их длительность (мс), а также оценивали форму М-ответов.

Затем путем постепенного увеличения напряжения импульсов тока от 0,01 до 2 В с частотой 10 имп/с в течение 4 секунд записывали серию М-ответов мышцы возрастающей амплитуды. Для нанесения раздражения на малоберцовый нерв стимулами нарастающей интенсивности использовали специальную установку, включающую 6 блоков: блок управления запуском, блок генерации одиночного линейно-нарастающего импульса заданной длительности, блок генерации импульсов стимулятора с заранее установленной частотой, блок смесителя сигналов, буферный усилитель тока и цифровой запоминающий осциллограф.

На основании процентного изменения амплитуды максимального М-ответа относительно амплитуды минимального определяли приблизительное количество активируемых ДЕ мышцы (методика Galea V. [13]).

После этого, раздражая малоберцовый нерв с частотой 4 имп/с сверхпороговыми электрическими импульсами длительностью 150 мкс каждый и силой тока 500 мкА, регистрировали в течение 5 с серию М-ответов мышцы. На основании полученных записей определяли декремент амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го, принятого за 100 %, по которому судили о надежности синаптической передачи [14].

Затем в течение 5 с регистрировали серию М-ответов мышцы при оптимальной частоте раздражения малоберцового нерва – 30 имп/с. При этом длительность и сила электрических импульсов оставались прежними – 150 мкс и 500 мкА. На основании записи серии М-ответов мышцы определяли изменение их амплитуды относительно 1-го, амплитуда которого принималась за 100 %. При увеличении амплитуды М-ответов мышцы, вызванных ритмическим раздражением малоберцового нерва с частотой 30 имп/с, судили об облегчении синаптической передачи, тогда как уменьшение амплитуды М-ответов указывало в пользу депрессии нервно-мышечной передачи [14, 15].

На следующем этапе на малоберцовый нерв в течение 6 с наносили серию импульсов с плавно нарастающей частотой от 4 до 70 имп/с (длительность импульса составляла 100 мкс, сила тока 1000 мкА). Для нанесения на малоберцовый нерв импульсов нарастающей частоты использовали специальный режим стимулятора с плавно нарастающей частотой генерации прямоугольных импульсов от 4 до 70 имп/с в течение 6 с. На основании полученных записей оценивали амплитуду 1-го М-ответа в серии и среднюю амплитуду М-ответов каждого животного в диапазоне частоты 70 имп/с (высокая частота). На основании этих амплитуд определяли у каждого животного изменение (в %) амплитуды М-ответа при частоте 70 имп/с к амплитуде исходного М-ответа, на основании чего судили о лабильности синаптической передачи у животных разных групп.

На основании записей М-ответов мышцы при нарастающей частоте стимуляции малоберцового нерва (от 0,2 до 70 имп/с в течение 6 с) определяли также амплитуды М-ответа мышцы до и после развития тетануса. По отношению амплитуды М-ответа до и после развития 6-секундного тетануса судили о *степени посттетанического облегчения* [15].

После этого мышца выполняла утомляющую работу (УР), которую моделировали путем вызванного тетанического ее сокращения (частота импульсов стимуляции малоберцового нерва – 70 имп/с, длительность импульсов 0,5 мс и сила тока 1000 мкА) с внешней нагрузкой 70 г вплоть до полного ее расслабления на фоне продолжающейся электрической стимуляции малоберцового нерва.

После выполнения мышцей УР вновь регистрировали одиночный М-ответ мышцы при раздражении малоберцового нерва с частотой 0,2 имп/с и серию М-ответов при раздражении малоберцового нерва стимулами нарастающей амплитуды (от 0,01 до 2 В). На основании изменения параметров М-ответа мышцы после выполнения УР относительно соответствующих исходных значений судили об утомляемости НМА и скорости его восстановления после утомления у животных разных групп.

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

*Статистическая обработка экспериментальных данных.* Оценку статистической достоверности различий между центральными тенденциями сравниваемых групп осуществляли 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 ± стандартная ошибка».

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Для животных ДМ-групп были характерны определенные синаптические расстройства, проявляющиеся в снижении надежности синаптической передачи и повышенной утомляемости синапсов, исходной их заблокированности и сниженной лабильности.

Так, у части животных ДМ-групп наблюдался патологически значимый декремент амплитуды М-ответов при низкочастотной стимуляции малоберцового нерва (4 имп/с), свидетельствующий в пользу снижения надежности синаптической передачи. Наиболее высокая частота регистрации этого декремента была характерна для животных 30ДМ-группы (70 %), тогда как к окончанию 2-месячного периода введения ДМ она снижалась (до 40 %, см. табл. 1).

Таблица 1

**Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) декремента амплитуды М-ответа при низкочастотной стимуляции малоберцового нерва (4 имп/с) и степени посттетанического облегчения в мышце контрольных животных и крыс, получавших дексаметазон изолированно (ДМ-группа) и в комплексе с аргинином (ДМ+АРГ-группа) или плаванием (ДМ+ПЛАВ-группа) или комбинацией плавания с аргинином (ДМ+АРГ+ПЛАВ-группа)**

Группа животных	При частоте стимуляции НМА 4 имп/с		Степень посттетанического облегчения после 6-секундного тетануса	
	Декремент амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го, %	% особей с декрементом амплитуды М-ответов более 10 %	Амплитуда М-ответа исходная, мВ	% изменение амплитуды М-ответа после тетануса к исходной (посттетаническое облегчение, %)
К	2,4±1,1	0	3,1±0,24	-10,9±3,1
10ДМ	-5,7±3,9	10	1,0±0,13, [-69*]	122,4±48,2°
10ДМ+АРГ	-1,2±3,5	10	2,7±0,37	-15,2±5,4
10ДМ+ПЛАВ	6,8±4,3	0	4,6±0,31, [+45*]	-10,9±3,5
10ДМ+ПЛАВ+АРГ	-0,1±4,0	10	4,9±0,49, [+55*]	-14,4±5,1
30ДМ	-19,5±4,0°	70	1,1±0,25, [-65*]	83,9±24,6°
30ДМ+АРГ	-13,7±6,38°	40	3,0±0,34	-10,5±6,8
30ДМ+ПЛАВ	10,8±4,6	0	5,6±0,47, [+79*]	-11,2±8,9
30ДМ+ПЛАВ+АРГ	-2,9±3,9	0	4,5±0,53, [+43*]	-10,8±7,9
60ДМ	-10,4±3,2°	40	1,9±0,31, [-39*]	57,3±18,7°
60ДМ+АРГ	-12,2±4,93°	40	3,2±0,34	-9,7±8,72
60ДМ+ПЛАВ	12,6±5,8	0	6,7±0,87, [+113*]	-17,3±7,9
60ДМ+ПЛАВ+АРГ	-1,5±2,7	0	5,0±0,48, [+58*]	-8,3±5,7

*Примечание:* \* – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения контрольной группы (в %,  $p < 0,05$ ); ° – разница декремента амплитуды М-ответа или степени посттетанического облегчения статистически значима ( $p < 0,05$ ) относительно таковых контроля.

Все используемые нами компенсирующие средства отчасти уменьшили частоту встречаемости признаков сниженной надежности синаптической передачи, типичных для ДМ-групп. При этом наиболее эффективной в этом плане оказалась

умеренная ФН, применяемая в комплексе с ДМ самостоятельно или в комбинации с аргинином. Так, спустя первые 10 дней применения комбинации ДМ с плаванием или ДМ с плаванием и аргинином у 10 % особей встречался патологически значимый декремент амплитуды М-ответов при низкочастотной стимуляции НМА (4 имп/с), что было характерно и для 10ДМ-группы (см. табл. 1). Вместе с тем, спустя 30–60 дней комплексного применения ДМ с плаванием или комбинацией «плавание + аргинин» признаки сниженной надежности синаптической передачи не проявлялись вообще (см. табл. 1). При этом сама по себе умеренная ФН оказалась достаточной для предотвращения нарушения надежности синаптической передачи, вызванного введением синтетического ГК, тогда как сам по себе аргинин, применяемый в комплексе с ДМ, такого эффекта не оказывал. В частности, в случае применения ДМ с аргинином частота встречаемости патологически значимого декремента амплитуды М-ответов при низкочастотной стимуляции НМА (4 имп/с) несколько снижалась, в сравнении с ДМ-группами (до 40 % в 30ДМ+АРГ-группе против 70 % в 30ДМ-группе, см. табл. 1), но была выше таковой ДМ+ПЛАВ- и ДМ+ПЛАВ+АРГ-групп.

Данные факты косвенно указывают в пользу сохранности признаков сниженной надежности синаптической передачи у животных, получавших ДМ в комплексе с каким-либо из компенсирующих факторов. Но при этом наиболее эффективными в плане нивелирования негативных эффектов ДМ на надежность синаптической передачи оказались умеренная ФН и ее комбинация с аргинином.

У части животных ДМ-групп наблюдалось патологически значимое облегчение синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции НМА (30 имп/с), наибольшая частота которого на фоне сниженной амплитуды 1-го М-ответа в серии (на 36 %,  $p < 0,05$  относительно контроля) была характерна для 30ДМ-группы (см. табл. 2). Кроме того, для 30ДМ- и 60ДМ-групп было типично увеличение ( $p < 0,05$  относительно контроля) степени посттетанического облегчения мышцы на фоне сниженной относительно контроля (на 39–65 %,  $p < 0,05$ ) амплитуды исходного М-ответа (до тетануса, см. табл. 1). При этом спустя первые 10 дней изолированного введения ДМ случаи выраженного облегчения синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции НМА (30 имп/с) регистрировались на фоне относительно нормальных (соответствующих контролю) амплитуды 1-го М-ответа в серии и степени посттетанического облегчения (см. табл. 1, 2).

Данные факты указывают в пользу разных причин выраженного облегчения синаптической передачи у животных ДМ-групп на разных этапах развития гиперкортицизма. Очевидно, основной причиной этого облегчения у крыс 10ДМ-групп служило первоначальное облегчающее действие ДМ на состояние синаптической передачи, тогда как в 30ДМ- и 60ДМ-группах, в которых это облегчение отмечалось на фоне сниженной ( $p < 0,05$  относительно контроля) амплитуды 1-го М-ответа в серии и повышенной ( $p < 0,05$  относительно контроля) степени посттетанического облегчения, – частичная исходная заблокированность синапсов, отражающая наличие пресинаптических расстройств.

В случае применения в комплексе с ДМ аргинина, динамической ФН или комбинации «плавание + аргинин» – спустя 30 дней введения препаратов частота

случаев патологически значимого облегчения синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции НМА (30 имп/с) примерно в 2 раза снижалась, в сравнении с ДМ-группами (см. табл. 2). Причем относительно немногочисленные случаи выраженного облегчения синаптической передачи у животных этих групп имели место на фоне нормальной (в ДМ+АРГ-группах) или даже повышенной относительно контроля (в ДМ+ПЛАВ-, ДМ+ПЛАВ+АРГ-группах) амплитуды исходных М-ответов в серии (см. табл. 2) и нормальной степени посттетанического облегчения после 6-секундного тетануса (см. табл. 1).

В целом, относительно нормальная степень посттетанического облегчения у животных, получавших ДМ с любым компенсирующим фактором, а также нормальная или даже повышенная амплитуда 1-го М-ответа в серии при раздражении НМА с оптимальной частотой (30 имп/с) позволяют исключить заблокированность синапсов, как основную причину выраженного облегчения синаптической передачи, встречавшегося у некоторых особей этих групп. Наиболее вероятной причиной выраженного облегчения синаптической передачи при оптимальной частоте раздражения НМА (30 имп/с), отмеченного у части животных, получавших ДМ в комплексе с каким-то компенсирующим фактором, на наш взгляд, является облегчающее действие самого ДМ на синаптическую передачу, которое, очевидно проявлялось на начальных этапах изолированного его введения (в 10ДМ-группе) и не только на начальных, но и более поздних этапах введения ДМ с каким-то из компенсирующих факторов, в условиях отсутствия выраженных дистрофических изменений МВ.

Длительное изолированное введение ДМ обуславливало развитие постсинаптических расстройств в НМА. Так, у части особей ДМ-групп отмечалась патологически значимая депрессия синаптической передачи при оптимальной частоте стимуляции нерва (30 имп/с), которая встречалась в целом реже патологически значимого облегчения и с одинаковой частотой спустя 30 и 60 дней введения ГК (см. табл. 2). Кроме того, для животных 30ДМ- и 60ДМ-групп было характерно гораздо более существенное, чем у контроля ( $p < 0,05$ ), уменьшение амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии при высокой частоте стимуляции нерва (70 имп/с, см. табл. 2), что указывает в пользу сниженной лабильности синапсов.

Наиболее эффективной в плане предотвращения развития постсинаптических расстройств, вызванных введением ГК, оказалась ФН. В частности, при комплексном применении ДМ с плаванием случаев патологически значимой депрессии синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции НМА (30 имп/с) не обнаруживалось вообще, так же как и не наблюдалось снижения амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии в диапазоне высоких частот стимуляции малоберцового нерва (70 имп/с, см. табл. 2). Более того, спустя 2 месяца комплексного воздействия ДМ с плаванием, степень снижения амплитуды М-ответов в диапазоне высокочастотной стимуляции НМА (70 имп/с) относительно таковой 1-го в серии была значимо ниже, чем в контроле ( $p < 0,05$ ). Данный факт, по всей видимости, свидетельствует в пользу некоторого повышения лабильности синаптического аппарата вследствие долговременной адаптации к ФН, в том числе



возможно обусловленного не столько синаптическими перестройками, сколько увеличением мощности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса в собственно МВ.

Таблица 2

Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) амплитуды 1-го М-ответа в серии и степени ее изменения при разных режимах стимуляции малоберцового нерва у контрольных животных и крыс, получавших дексаметазон изолированно (ДМ-группа) и в комплексе с аргинином (ДМ+АРГ-группа) или плаванием (ДМ+ПЛАВ-группа) или комбинацией плавания с аргинином (ДМ+АРГ+ПЛАВ-группа)

Группа животных	При частоте стимуляции НМА 30 имп/с			При стимуляции НМА стимулами плавно нарастающей частоты (от 0,2 до 70 имп/с)
	Амплитуда 1-го М-ответа, мВ	Степень облегчения (в % относительно 1-го М-ответа) / % особей в группе с облегчением более 30 %	Степень депрессии (снижение амплитуды М-ответов в % относительно 1-го) / % особей в группе с депрессией более 25 %	Изменение амплитуды М-ответов (в % относительно 1-го) при частоте стимуляции 70 имп/с
К	2,4±0,21	11,1±2,9 / 0	-5,7±2,6 / 0	-3,9±2,19
10ДМ	2,7±0,33	34,4±9,5° / 30	-12,0±4,5 / 20	-17,8±4,99°
10ДМ+АРГ	2,6±0,29	22,4±9,7 / 30	-17,7±6,4 / 30	-16,6±4,62°
10ДМ+ПЛАВ	4,2±0,46, [+60*]	10,2±4,24 / 0	-4,1±2,17 / 0	-2,5±2,80
10ДМ+ПЛАВ+АРГ	5,2±0,49, [+98*]	12,0±8,72 / 20	-9,9±4,8 / 0	-3,6±4,68
30ДМ	1,7±0,21, [-31*]	37,8±8,9° / 50	-19,5±5,3° / 30	-41,4±7,64°
30ДМ+АРГ	3,3±0,39	26,3±9,0 / 20	-2,57±1,8 / 10	-8,4±3,09
30ДМ+ПЛАВ	5,1±0,47, [+94*]	14,5±4,2 / 0	-5,29±1,8 / 0	-4,8±3,15
30ДМ+ПЛАВ+АРГ	4,4±0,67, [+67*]	9,7±3,1 / 0	-19,8±6,4 / 10	-5,8±3,94
60ДМ	2,9±0,34	8,1±4,4 / 20	-23,9±6,8° / 30	-34,6±8,77°
60ДМ+АРГ	3,3±0,37	20,3±5,5 / 20	-11,8±4,2 / 20	-6,2±3,75
60ДМ+ПЛАВ	6,4±0,68, [+146*]	14,4±5,2 / 0	-3,4±2,3 / 0	6,3±3,10°
60ДМ+ПЛАВ+АРГ	5,4±0,62, [+104*]	20,6±8,7 / 20	-9,5±4,2 / 10	4,1±2,69°

Примечание: \* – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %,  $p < 0,05$ ); ° – разница степени изменения амплитуды М-ответа относительно таковой контроля статистически значима ( $p < 0,05$ ).

Аналогично применение ФН в комплексе с ДМ и аргинином уменьшало, в сравнении с ДМ-группами, частоту встречаемости патологически значимой депрессии синаптической передачи при оптимальной (30 имп/с) частоте стимуляции НМА (до 10–20 %) и предотвращало снижение амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии в диапазоне высокочастотной стимуляции малоберцового нерва (70 имп/с, см. табл. 2).

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

Таким образом, ФН, применяемая в комплексе с ДМ, полностью предотвращала развитие постсинаптических расстройств, аргинин оказался эффективным в плане компенсации постсинаптических нарушений только при длительном применении с ДМ (на протяжении 30–60 дней), тогда как спустя первые 10 дней введения пары препаратов «ДМ + аргинин» эти нарушения отмечались.

Подводя итог, эффективности аргинина умеренной ФН и их комбинации в компенсации синаптических нарушений, вызванных ДМ, необходимо отметить следующее. Все используемые нами средства предотвратили развитие исходной заблокированности синапсов. При этом в случае применения ДМ с ФН у животных не обнаруживалось вообще случаев патологически значимого облегчения синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции НМА (30 имп/с). При применении в комплексе с ДМ аргинина частота случаев патологически значимого облегчения синаптической передачи снижалась в 2 раза, по сравнению с таковой в ДМ-группах.

Несмотря на то, что все используемые нами средства предотвратили развитие исходной заблокированности синапсов, признаки которого отмечались в ДМ-группах, не все они оказались эффективными в плане нивелирования негативных эффектов синтетического ГК на надежность и лабильность синаптической передачи. При этом наиболее эффективными средствами в плане компенсации сниженной надежности синаптической передачи и постсинаптических нарушений оказалась ФН, применяемая самостоятельно или в комплексе с аргинином, тогда как аргинин проявлял свою эффективность только в случае длительного применения в комплексе с ДМ.

Длительно вводимый (на протяжении 30–60 дней) аргинин ослаблял выраженность постсинаптических нарушений, но существенно не улучшил

надежность синаптической передачи при комплексном его введении с ДМ. На наш взгляд, основной причиной сниженной надежности синаптической передачи у животных ДМ+АРГ-групп явилось нарушение ресинтеза медиатора в процессе ритмической активности синапса, которое на фоне даже сниженной активности ацетилхолинэстеразы и относительно нормального состояния холинорецепторов в постсинаптической мембране могло обусловить ослабление активации постсинаптического полюса.

На основании наблюдаемых нами признаков синаптических расстройств у животных, получавших ДМ изолированно или в комплексе с каким-то компенсирующим фактором, можно заключить, что у ДМ-групп отмечались признаки исходной заблокированности синапсов, в том числе обусловленные исходным дефицитом медиатора в пресинаптическом окончании, а также постсинаптических нарушений и сниженной лабильности синапсов. В случае введения ДМ в комплексе с каким-то компенсирующим фактором признаки исходной заблокированности синапсов не обнаруживались, но все же в некоторых группах выявлялись постсинаптические нарушения, а также снижение лабильности синапсов и надежности синаптической передачи. Все эти нарушения у животных, получавших ДМ в комплексе с каким-то из компенсирующих факторов, указывают в пользу того, что, наряду с исходной заблокированностью синапсов, длительное введение ГК, по всей видимости, приводит и к изменению состояния холинорецепторов в постсинаптическом полюсе, снижению активности ацетилхолинэстеразы и нарушению нормального ресинтеза ацетилхолина при ритмической активности синапса.

При этом наиболее эффективной в плане компенсации всех этих расстройств оказалась умеренная ФН, тогда как аргинин эффективно предотвратил развитие исходной заблокированности синапсов и ослабил развитие постсинаптических нарушений и снижение надежности синаптической передачи, в сравнении с ДМ-группами.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Аргинин, ФН и их комбинация определенным образом модулировали влияние ДМ на состояние синаптической передачи:

1. Все эти факторы предотвратили развитие исходной заблокированности синапсов, типичное для мышцы животных 30ДМ- и 60ДМ-групп,
2. ФН и ее комбинация с аргинином существенно снизили частоту случаев сниженной надежности синаптической передачи, в сравнении с ДМ-группами (до 10 % в 10ДМ+АРГ+ПЛАВ-группе и полного их отсутствия в ДМ+ПЛАВ-группах), тогда как аргинин уменьшил (до 10–40 %) частоту этих случаев, но, в отличие от ФН, не предотвратил полностью их появление,
3. Умеренная ФН эффективно предотвратила развитие постсинаптических нарушений, вызванных ДМ, тогда как аргинин несколько уменьшил частоту возникновения признаков постсинаптических нарушений (до 10–20 %) только при длительном применении с ДМ (на протяжении 30–60 дней).

Список литературы

1. Ильичева А. С. Оценка корректирующего воздействия аргинина и карнитина на активность и распределение катепсинов L, H скелетной и гладкой мышц при выраженной гипергомоцистеинемии / Ильичева А. С., Фомина М. А., Исаков С. А. // Пермский медицинский журнал. – 2016. – Т. 33, №2. – С. 82–89.
2. Ломоносова Ю. Н. Сигнальные эффекты субстратной стимуляции pNOS в скелетной мышце крысы после эксцентрической нагрузки / Ломоносова Ю. Н., Шенкман Б. С., Немировская Т. Л. // Доклады академии наук. – 2013. – Т. 452, № 6. – С. 685–689.
3. Sandbakk S. B. Effects of acute supplementation of L-arginine and nitrate on endurance and sprint performance in elite athletes / Sandbakk S. B. // Nitric Oxide. – 2015. – V. 48. – P. 10–15.
4. Ломоносова Ю. Н. Защитное и сигнальное действие оксида азота на волокна скелетных мышц при различных уровнях сократительной активности: автореф. дис. на соискание учен. степени канд. биол. наук: спец. 03.03.01 и 03.01.04 «Физиология» и «Биохимия» / Ю. Н. Ломоносова. – М., 2012. – 27 с.
5. Sakai H. Dexamethasone exacerbates cisplatin-induced muscle atrophy / Sakai H., Kimura M., Tsukimura Y., Yabe S., Isa Y., Kai Y., Sato F., Kon R., Ikarashi N., Narita M., Chiba Y., Kamei J. // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2019. – V. 46, №1. – P. 19–28.
6. Shin K. Fbxw7 $\beta$  is an inducing mediator of dexamethasone-induced skeletal muscle atrophy in vivo with the axis of Fbxw7 $\beta$ -myogenin-atrogenes / Shin K., Ko Y. G., Jeong J., Kwon H. // Mol. Biol. Rep. – 2018. – V. 45, №4. – P. 625–631.
7. Труш В. В. Оценка эффективности аргинина в компенсации стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением дексаметазона / Труш В. В., Соболев В. И., Попов М. Н. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. – Т.62, №4. – С. 120–129.
8. Труш В. В. Модуляция аргинином, умеренной физической нагрузкой и их комбинацией эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы крыс / Труш В. В., Соболев В. И. // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского Биология. Химия. – 2022. – Т. 8 (74), № 4. – С. 259–274.
9. Cai X.  $\alpha$ -Ketoglutarate prevents skeletal muscle protein degradation and muscle atrophy through PHD3/ADRB2 pathway / Cai X., Yuan Y., Liao Z., Xing K., Zhu C., Xu Y., Yu L., Wang L., Wang S., Zhu X., Gao P., Zhang Y., Jiang Q., Xu P., Shu G. // FASEB J. – 2018. – V. 32, №1. – P. 488–499.
10. Uchikawa K. Strenuous exercise-induced alterations of muscle fiber cross-sectional area and fiber-type distribution in steroid myopathy rats / Uchikawa K., Takahashi H., Hase K., Masakado Y., Liu M. // Am. J. Phys. Med. Rehabil. – 2008. – V. 87, №2. – P. 126–133.
11. Liu J. The pharmabiotic approach to treat hyperammonemia / Liu J., Lkhagva E., Chung H.-J., Kim H.-J., Hong S.-T. // Nutrients. – 2018. – V. 10, №2. – P. 140.
12. Poortmans J. R. Nitrate supplementation and human exercise performance: too much of a good thing? / Poortmans J. R. // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2015. – V. 18, № 6. – P. 599–604.
13. Galea V. The number and relative size of motor units estimated by computer / Galea V., De Bruin H., Cavasin R., McComas A. J. // Muscle and Nerve. – 1991. – V. 14, №11. – P. 1123–1130.
14. Гехт Б. М. Теоретическая и клиническая электромиография / Б. М. Гехт – Л.: Наука, Ленинградское отделение, 1990. – 229 с.
15. MacIntosh B. R. Skeletal Muscle: Form and Function / MacIntosh B. R., Gardiner P. F., McComas A. J. – Champaign: Human Kinetics, 2006. – 423 p.

**EFFECTIVENESS OF ARGININE, MODERATE PHYSICAL ACTIVITY AND THEIR COMBINATION IN COMPENSATION OF SYNAPTIC TRANSMISSION DISTURBANCES CAUSED BY DEXAMETHASONE ADMINISTRATION**

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

<sup>1</sup>*Donetsk national university, Donetsk, DPR, Russia*

<sup>2</sup>*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Republic of Crimea, Yalta, Russia*

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

The **aim** of the of the research occurs in the studying of the effectiveness of pharmacological doses of arginine (100 mg/kg/day), moderate dynamic physical activity (FA) and their combination in compensating of synaptic transmission disorders caused by the administration of dexamethasone (DM, 0.25 mg/kg/2 days, for 10 to 60 days), in the dynamics of iatrogenic hypercortisolism development.

**Method.** The experiments were held on sexually mature female rats (195–205 g), divided into 5 groups: control (n=10, C-group), the I-st experienced (n=30, received dexamethasone, DM-group), the II-nd experienced (n=30, received dexamethasone and daily swimming, DM+SWIM-group), III-rd experienced (n=30, received dexamethasone in combination with arginine, DM+ARG-group) and the IV-th experienced (n=30, received dexamethasone in combination with arginine and swimming, DM+ARG+SWIM-group). Subsequently, each experimental group was divided into 3 groups (n=10 in each) depending on the duration of the experimental exposure (10, 30 and 60 days).

Dexamethasone (KRKA, Slovenia) was administered at a dose of 0,25 mg/kg, once in 2 days, intraperitoneally, arginine ("Cardioarginine", "Zdorovye", Ukraine) – daily, subcutaneously, at a dose of 100 mg/kg. Animals of DM+SWIM- and DM+ARG+SWIM-groups began to be subjected to physical activity from the 1-st day of medications administration, daily until the end of their administration periods. Physical activity was modeled by swimming in a cylindrical container with a smooth surface (tank diameter 100 cm, depth 150 cm) at a water temperature of 38±1 °C without additional weights. Swimming had been started with 5 minutes per day, its duration was then being increased by 5 minutes daily until reaching a 1-hour exposure.

On anesthetized animals (sodium thiopental, 100 mg/kg), using the method of stimulating electromyography, a series of M-responses of the *m. tibialis anterior* were recorded under different modes of stimulation of the peroneal nerve with superthreshold electric current.

**Results.** Arginine, FA, and their combination in a certain way modulated the effect of DM on the state of synaptic transmission. All these factors prevented the development of initial blockage of synapses, which is typical for the muscles of animals of the 30DM- and 60DM-groups. FA and its combination with arginine significantly reduced the incidence of reduced reliability of synaptic transmission, compared with DM-groups (up to 10 % in 10DM+ARG+FA-group and their complete absence in DM+FA-groups), while arginine decreased (up to 10–40 %) the frequency of these cases, but, unlike FA, did not completely prevent their occurrence. Moderate FA effectively prevented the development of postsynaptic disorders caused by DM, while arginine somewhat reduced the incidence

of signs of postsynaptic disorders (up to 10–20 %) only with long-term use with DM (for 30–60 days).

**Keywords:** skeletal muscle, dexamethasone, steroid myopathy, arginine, physical activity, rats.

### References

1. Ilyicheva A. S., Fomina M. A., Isakov S. A. Assessment of correcting arginine and carnitine effects on activity and distribution of skeletal and smooth muscle L, H cathepsins in marked hyperhomocysteinemia, *Permskiy meditsinskiy zhurnal (Perm Medical Journal)*, **33** (2), 82-8 (2016). (In Russian)
2. Lomonosova Yu. N., Shenkman B. S., Nemirovskaya T. L. Signal effects of substrate stimulation of nNOS in rat skeletal muscle after eccentric exercise, *Doklady akademii nauk (Reports of the Academy of Sciences)*, **452** (6), 685-9 (2013). (In Russian). DOI: 10.7868/S0869565213310216
3. Sandbakk S. B. Effects of acute supplementation of L-arginine and nitrate on endurance and sprint performance in elite athletes, *Nitric Oxide*, **48**, 10-5 (2015). DOI: 10.1016/j.niox.2014.10.006
4. Lomonosov Yu. N. *Protective and signaling effect of nitric oxide on skeletal muscle fibers at different levels of contractile activity: abstract of the dissertation for the scientific degree of Candidate of Biological Sciences: spec. 03.03.01 and 01.03.04 "Physiology" and "Biochemistry"*. – M., 2012. (In Russian)
5. 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), 19-28 (2019). DOI: 10.1111/1440-1681.13024
6. Shin K., Ko Y. G., Jeong J., Kwon H. Fbxw7 $\beta$  is an inducing mediator of dexamethasone-induced skeletal muscle atrophy in vivo with the axis of Fbxw7 $\beta$ -myogenin-atrogenes, *Mol. Biol. Rep.*, **45** (4), 625-31 (2018). DOI: 10.1007/s11033-018-4185-9
7. 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 (Pathological physiology and experimental therapy)*, **62** (4), 120-9 (2018). (In Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2018.04.120-129
8. Trush V. V., Sobolev V. I. Modulation by arginine, moderate physical activity and their combination of the dexamethasone effects on parameters of the M-response of rat skeletal muscle, *Uchenyye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo Biologiya. Khimiya (Scientific notes of the Crimean Federal University named after V. I. Vernadsky. Biology. Chemistry)*, **8(74)** (4), 259-74 (2022). (In Russian).
9. Cai X., Yuan Y., Liao Z., Xing K., Zhu C., Xu Y., Yu L., Wang L., Wang S., Zhu X., Gao P., Zhang Y., Jiang Q., Xu P., Shu G.  $\alpha$ -Ketoglutarate prevents skeletal muscle protein degradation and muscle atrophy through PHD3/ADRB2 pathway, *FASEB J.*, **32** (1), 488-99 (2018). DOI: 10.1096/fj.201700670R
10. Uchikawa K., Takahashi H., Hase K., Masakado Y., Liu M. Strenuous exercise-induced alterations of muscle fiber cross-sectional area and fiber-type distribution in steroid myopathy rats, *Am. J. Phys. Med. Rehabil.*, **87** (2), 126-33 (2008). DOI: 10.1097/PHM.0b013e31815869d0
11. Liu J., Lkhagva E., Chung H.-J., Kim H.-J., Hong S.-T. The pharmabiotic approach to treat hyperammonemia, *Nutrients*, **10** (2), 140 (2018). DOI: 10.3390/nu10020140
12. Poortmans J. R. Nitrate supplementation and human exercise performance: too much of a good thing? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **18** (6), 599-604 (2015). DOI: 10.1097/mco.0000000000000222
13. Galea V., De Bruin H., Cavasin R., McComas A. J. The number and relative size of motor unites estimated by computer, *Muscle and Nerve*, **14** (11), 1123-30 (1991). DOI: <https://doi.org/10.1002/mus.880141114>
14. Geht B. M. *Teoreticheskaya i klinicheskaya elektromiografiya (Theoretical and clinical electromyography)*. Leningrad: Nauka; 1990. 228 p. (In Russian)
15. MacIntosh B. R., Gardiner Ph. F., McComas A. J. *Skeletal muscle. Form and function*. 2th ed. Champaign: Human Kinetics; 2006. 423 p. DOI: 10.5040/9781492596912