

УДК 591.473.3: 577.175.53

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СРОЧНЫХ И ДОЛГОВРЕМЕННЫХ
ЭФФЕКТОВ ЕСТЕСТВЕННОГО И СИНТЕТИЧЕСКОГО
ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ НА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЕ ЗВЕНО НЕРВНО-
МЫШЕЧНОГО АППАРАТА КРЫС**

Труш В. В.¹, Соболев В. И.², Попов М. Н.², Бондаренко Н. Н.³

¹*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Донецкий государственный университет», Донецк, ДНР, Россия*

²*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского», Ялта, Республика Крым, Россия*

³*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького», Донецк, ДНР, Россия*

E-mail: ver.trush@yandex.ru

В экспериментах на крысах установлено, что эффекты экзогенных ГК на периферическое звено нервно-мышечного аппарата характеризуются определенными особенностями, зависимыми как от длительности их введения, так и от типа стероида. Положительное эрготропное действие на *m. tibialis anterior* крыс, проявляющееся в увеличении объема внешней работы и мощности сокращения, оказывает гидрокортизон (50 мг/кг; спустя 1 час после введения) на фоне укорочения периода максимальной работоспособности мышцы, через сутки после его введения наблюдается повышение устойчивости мышцы к утомлению на фоне нормализации эргометрических параметров. Дексаметазон (2 мг/кг) вызывает уменьшение максимальной работоспособности мышцы и КПД мышечной работы. Длительное введение гидрокортизона (30 суток, 3 мг/кг/сутки) приводит к существенному ухудшению сократительных и энергетических параметров мышцы, снижению возбудимости нервно-мышечного аппарата, объема внешней работы и надежности синаптической передачи, но при этом увеличению устойчивости мышцы к утомлению. Субхроническое введение дексаметазона (20 – 60 дней; 0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток) вызывает ухудшение не только эргометрических и энергетических параметров скелетной мышцы, но и ее устойчивости к утомлению.

Ключевые слова: глюкокортикоиды, гидрокортизон, дексаметазон, скелетная мышца, крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Глюкокортикоиды (ГК) и особенно гораздо более активные их фторсодержащие синтетические аналоги, несмотря на большое разнообразие побочных эффектов, по сей день остаются наиболее эффективными противовоспалительными средствами [1]. Вместе с тем, несмотря на полезные терапевтические эффекты, ГК в дозах, в десятки раз превышающих естественные физиологические их концентрации в организме, оказывают и негативное влияние на ряд его структур, в том числе опорно-двигательный аппарат [2].

Несмотря на достаточно хорошую изученность молекулярных механизмов действия ГК, срочные и долговременные их эффекты на нервно-мышечный аппарат остаются предметом дискуссии. Так, в начале века сформировалось представление о том, что однократно вводимые близкие к физиологическим и умеренно повышенные дозы ГК, аналогичные таковым при остром стрессе, оказывают позитивное влияние на функциональное состояние нервно-мышечных синапсов и самих скелетных мышечных волокон, в отличие от повреждающих их эффектов при естественном или ятрогенном гиперкортицизме. Выявлено положительное эрготропное действие ГК (дексаметазон, 8 мг/сутки для человека), проявляющееся в увеличении абсолютной силы сокращения латеральной мышцы бедра, после сравнительно непродолжительного (недельного) их введения в организм, несмотря на снижение возбудимости мышечных волокон [3].

В то же время более поздними исследованиями [4] установлено, что высокие дозы ГК, как кратковременно, так и длительно действующие на нервно-мышечный аппарат, вызывают блокирование холинорецепторов и ослабление синаптической передачи, что, в целом, негативно сказывается на функциональном состоянии скелетных мышц. Кроме того, обнаружена способность ГК, действуя негеномным путем, вызывать апоптоз мышечных волокон [5], а в клинической практике выявлены казуистические случаи острой стероидной миопатии даже после однократного приема ГК в относительно небольших дозах [6]. Известно также, что разные синтетические ГК (дексаметазон, метилпреднизолон, дефлазокорт) несколько отличаются характером влияния на скелетные мышцы, который зависит от типа мышечных волокон и доз ГК [7].

Целью настоящей работы явилось исследование срочных и долговременных эффектов естественного (гидрокортизона) и синтетического (дексаметазона) ГК на функциональное состояние периферического звена нервно-мышечного аппарата крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все эксперименты выполнены в соответствии с «Руководством по уходу и использованию лабораторных животных» (публикация Национального института здоровья № 85-23, США) и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [8].

Исследования проводились на 140 половозрелых молодых крысах-самках (виварий Республиканского лабораторного центра санитарно-эпидемиологической службы, г. Донецк) с исходной массой тела 195–205 г (возраст 18 недель на момент начала экспериментальных воздействий) в три этапа.

На *первом этапе* на 50 половозрелых крысах-самках оценивали эффекты однократных доз гидрокортизона и дексаметазона на периферическое звено нервно-мышечной системы. Животные были разделены на 5 групп (n=10 в каждой) – контрольную и 4 опытных. Животным I и II опытных групп вводили внутривентриально синтетический аналог ГК дексаметазон в дозе 2 мг/кг за 1 час (ДМ-группа, 1h) и за 24 часа (ДМ-группа, 24h) до острого опыта соответственно. Крысам III и IV опытных групп вводили внутривентриально природный ГК гидрокортизон в дозе 50 мг/кг за 1 час (Г-группа, 1h) и за 24 часа (Г-группа, 24h) до

острого опыта соответственно.

На *втором этапе* изучали эффекты длительно вводимого гидрокортизона на электрофизиологические, сократительные и энергетические параметры *m. tibialis anterior*. Для этого были сформированы 2 группы животных: контрольная (n=10) и опытная (n=10), особи которой подвергались введению гидрокортизона в дозе 3 мг/кг/сутки, на протяжении 30 дней (30Г-группа).

На *третьем этапе* исследовали влияние дексаметазона на энергетические параметры *m. tibialis anterior* в динамике 2-месячного периода его введения в организм. Для этого были первоначально сформированы 2 группы особей: контрольная (n=10) и опытная (n=60), подвергавшаяся введению дексаметазона на протяжении от 10 до 60 дней (ДМ-группа). При этом для длительного введения дексаметазон применяли в дозе 0,25 мг/кг, внутривенно, 1 раз в 2-е суток. В последующем в пределах ДМ-группы были сформированы 6 подгрупп животных (n=10 в каждой), получавших синтетический ГК на протяжении различных интервалов времени: 10 дней (10ДМ-группа), 20 дней (20ДМ-группа), 30 дней (30ДМ-группа), 40 дней (40ДМ-группа), 50 дней (50ДМ-группа) и 60 дней (60ДМ-группа).

Дексаметазон и гидрокортизон вводили внутривенно, дексаметазон – в виде водного раствора дексаметазона натрия фосфата (производство фирмы KRKA, Словения), гидрокортизон – в виде гидрокортизона ацетата (суспензия для инъекций, «Фармак», Украина).

По окончании сроков экспериментальных воздействий животных наркотизировали (тиопентал натрия, 100 мг/кг) и проводили острый опыт, в ходе которого в условиях *in situ* оценивали электрофизиологические, эргометрические, миотермические и сократительные параметры *m. tibialis anterior*.

При этом для оценки функционального состояния периферического звена нервно-мышечного аппарата на различных этапах эксперимента применялись следующие методические подходы. При исследовании срочных эффектов дексаметазона и гидрокортизона на *m. tibialis anterior* в условиях острого опыта (I этап) определяли:

- хронаксию мышцы при непрямой ее электрической стимуляции;
- некоторые параметры М-ответа мышцы при раздражении малоберцового нерва с низкой частотой (0,2 имп/с);
- степень облегчения и депрессии синаптической передачи при оптимальной частоте стимуляции малоберцового нерва (30 имп/с);
- ряд энергетических параметров мышцы (внешнюю работу, мощность, температурный эффект мышечного сокращения и температурную стоимость мышечной работы (ТСМР)) на основании эрго- и термограммы 6-секундного тетанического сокращения мышцы с внешней нагрузкой 80 г;
- некоторые параметры тетанического сокращения мышцы (амплитуду, скорость его развития, продолжительность периодов максимальной и субмаксимальной работоспособности мышцы) по эргограммам высокочастотного тетануса (70 имп/с) в процессе выполнения утомляющей работы с внешней нагрузкой 80 г, на основании чего судили об устойчивости мышцы к утомлению.

При изучении эффектов длительно вводимого гидрокортизона на функциональное состояние периферического звена нервно-мышечного аппарата (II этап) определяли:

- хронаксию мышцы в условиях непрямо́й ее электрической стимуляции;
- некоторые параметры М-ответа мышцы при раздражении малоберцового нерва с низкой частотой (0,2 имп/с);
- устойчивость генерации М-ответов мышцей при низкочастотной стимуляции малоберцового нерва (4 имп/с);
- параметры одиночного сокращения мышцы (с внешней нагрузкой 20 г), энергетические ее показатели (при выполнении 6-секундных тетанусов с внешней нагрузкой 80 г) и работоспособность при выполнении высокочастотной утомляющей работы (70 имп/с, с внешней нагрузкой 70 г, вплоть до полного расслабления на фоне продолжающейся электрической стимуляции).

Для исследования эффектов длительно вводимых доз дексаметазона на энергетику мышечного сокращения (III этап) на основании 6-секундных гладких тетанусов определяли энергетические параметры мышцы – внешнюю работу, температурный эффект мышечного сокращения и ТСМР – до, в динамике и после выполнения утомляющей работы. Утомляющую работу моделировали путем 3-кратных 6-секундных гладких тетанусов с нагрузкой 80 г. В частности, эрго- и термограммы мышцы при выполнении ею 6-секундных тетанических сокращений регистрировали 4 раза по следующему алгоритму: 1-й тетанус (период «До работы», исходные значения), 2-й тетанус (после первых трех 6-секундных тетанических сокращений), 3-й тетанус (после следующих трех 6-секундных сокращений) и 4-й тетанус (после последних трех 6-секундных сокращений – период «После работы»).

В соответствии с умеренными и максимальными суточными дозами гидрокортизона и дексаметазона для человека нами были определены следующие дозы естественного и синтетического ГК для однократного и длительного введения лабораторным животным:

- эквивалентная максимальной терапевтической дозе для человека доза на 1 кг массы тела крысы составляет 2 мг для дексаметазона и 50 мг для гидрокортизона, эти дозы использовались для однократного введения животным за 1 час и 24 часа до острого опыта,

- эквивалентная умеренной терапевтической дозе для человека доза на 1 кг массы тела крысы составляет 0,25 мг для дексаметазона и 3 мг для гидрокортизона, эти дозы использовались для длительного (на протяжении 1-2 месяцев) введения лабораторным животным.

При этом для индукции системных эффектов нами были выбраны парентеральные формы ГК в связи с более высокой их биодоступностью для организма, в сравнении с пероральными формами [9], и определен внутрибрюшинный способ их введения в связи с меньшим болевым воздействием и локальным повреждающим эффектом на скелетную мышцу, типичными для внутримышечного введения.

В процессе острого опыта на разных этапах эксперимента проводили регистрацию определенных электрофизиологических, сократительных и эргометрических параметров сокращения *m. tibialis anterior* при разных режимах ее непрямо́й

электрической стимуляции с применением следующих методических подходов.

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

Регистрация одиночных М-ответов мышцы. М-ответ индуцировали 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 его латентный период, амплитуду, длительность, а также оценивали форму.

Определение количества активируемых ДЕ мышцы. Малоберцовый нерв раздражали в течение 4 с электрическими импульсами постепенно увеличивающегося напряжения (от 0,01 до 2 В) с частотой 10 имп/с. На основании записей М-ответов рассчитывали процентное изменение амплитуды максимального М-ответа относительно амплитуды минимального, по которому судили о приблизительном количестве активируемых ДЕ мышцы (методика Galea V. [10]).

Оценка надежности нервно-мышечной передачи. Для оценки надежности нервно-мышечной передачи использовали методику Гехта Б.М. [11], предполагающую раздражение нервно-мышечного аппарата с низкой частотой (4 имп/с) и последующее определение декремента амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го. При этом малоберцовый нерв раздражали сверхпороговыми электрическими импульсами длительностью 150 мкс каждый и силой тока 500 мкА. Согласно Гехту Б.М. [11], декремент амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го, превышающий 10 % при таком режиме стимуляции, указывает на сниженную надежность нервно-мышечной передачи.

Оценка степени облегчения и депрессии синаптической передачи. Для оценки степени облегчения и депрессии синаптической передачи в течение 5 с регистрировали серию М-ответов мышцы при оптимальной частоте раздражения малоберцового нерва – 30 имп/с. При этом длительность и сила электрических импульсов были такими же, как и при оценке надежности синаптической передачи – 150 мкс и 500 мкА соответственно. На основании записи серии М-ответов мышцы определяли изменение их амплитуды относительно 1-го. При этом увеличение амплитуды М-ответов более чем на 30 % относительно амплитуды 1-го при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с) указывает в пользу выраженного облегчения синаптической передачи, тогда как ее уменьшение более чем на 25 % – в пользу патологически значимой ее депрессии [11, 12].

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

Регистрация 6-секундных тетанических сокращений мышцы, оценка

амплитудных и временных параметров тетанического сокращения. С целью оценки некоторых параметров тетанического сокращения мышцы на малоберцовый нерв в течение 6 с наносили серию импульсов с плавно нарастающей частотой от 4 до 70 имп/с (длительность импульса составляла 100 мкс, сила тока 1000 мкА). М-ответы и сокращения мышцы при этом записывались дважды: с внешней нагрузкой 20 г и 70 г.

На основании полученных записей определяли максимально достижимую амплитуду тетануса и скорость его развития, а также время полурасслабления мышцы после тетануса.

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

Моделирование утомляющей работы мышцы, определение ее эргометрических параметров. Для решения поставленных задач на разных этапах исследований применялись разные режимы утомляющей работы. Так, при изучении эффектов однократно вводимых дексаметазона и гидрокортизона и субхронического введения гидрокортизона на периферическое звено нервно-мышечного аппарата утомляющую работу моделировали путем сокращения мышцы в режиме высокочастотного тетануса (70 имп/с, длительность импульсов 0,5 мс и сила тока 1000 мкА) с большой внешней нагрузкой (70–80 г) до почти полного расслабления мышцы на фоне продолжающейся стимуляции нервно-мышечного аппарата. Работа мышцы до полного утомления продолжалась на протяжении 50–80 с.

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

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

трех 6-секундных сокращений – период «После работы»).

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

При оценке характера зависимости между продолжительностью периодов введения дексаметазона и величиной показателей энергетики мышечного сокращения на третьем этапе исследований применяли регрессионный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Срочные эффекты ГК на периферическое звено нервно-мышечного аппарата. Эффекты однократно вводимых гидрокортизона (50 мг/кг) и дексаметазона (2 мг/кг) на *m. tibialis anterior*, наряду с некоторым сходством, характеризовались и определенными отличиями. Так, естественный и синтетический ГК вызывали однонаправленные изменения электрофизиологических параметров мышцы ($p < 0,05$ относительно контроля): укорочение хронаксии (на 20–21 %) спустя 1 час после введения и латентного периода М-ответа, которое отмечалось уже спустя 1 час после введения препаратов (на 25–33 %) с сохранностью спустя сутки (на 14–20 %) после их введения (табл. 1).

Эти изменения свидетельствуют в пользу повышения возбудимости нервно-мышечного аппарата и улучшения степени синхронизации возбуждения мышечных волокон под влиянием ГК. Кроме того, как спустя 1 час, так и спустя 1 сутки после введения гидрокортизона и дексаметазона наблюдалось увеличение ($p < 0,05$ относительно контроля) скорости тетанического сокращения (на 25–63 %, табл. 2), и у большей части животных (70–80 % особей через 1 час после введения ГК и 50 % особей через сутки после введения препаратов) отмечалось выраженное облегчение синаптической передачи при оптимальном режиме стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с, табл. 1). Все эти срочные эффекты ГК должны способствовать улучшению функциональных параметров скелетной мышцы.

Вместе с тем, увеличение ($p < 0,05$ относительно контроля) внешней работы мышцы (на 51 %) и мощности тетанического сокращения (на 59 %) наблюдалось только под влиянием гидрокортизона и только спустя 1 час после его введения, тогда как дексаметазон не оказывал положительный эрготропный эффект (табл. 3).

В то же время, и гидрокортизон, и дексаметазон через 1 час после введения

обусловливали увеличение ($p < 0,05$ относительно контроля) температурного эффекта мышечного сокращения (на 68–95 %) и соответственно ТСМР (на 36–51 %, табл. 3), отражающее снижение КПД мышцы. При этом спустя сутки после введения гидрокортизона ТСМР нормализовалась, тогда как в ДМ-группе оставалась увеличенной (на 29 %, $p < 0,05$ относительно контроля).

Таблица 1
Значения электрофизиологических параметров мышцы крыс контрольной группы и животных, получивших однократные инъекции дексаметазона (2 мг/кг) или гидрокортизона (50 мг/кг) за 1 час и 24 часа до острого опыта

| Параметр | Группа животных | | | | |
|---|----------------------------|---|---|---|---|
| | Контроль | ДМ-группа | | Г-группа | |
| | | спустя 1 ч | спустя 24 ч | спустя 1 ч | спустя 24 ч |
| Хронаксия ($\bar{X} \pm m$), мкс | 20,5±0,52 | 16,5±0,38 [-20*] | 19,1±0,77 | 16,2±0,41 [-21*] | 19,4±0,72 |
| <i>Параметры одиночного М-ответа ($\bar{X} \pm m$)</i> | | | | | |
| Латентный период, мс | 1,2±0,04 | 0,9±0,01 [-25*] | 1,0±0,04 [-14*] | 0,8±0,02 [-33*], (-11 ^x) | 1,0±0,03 [-20*] |
| Амплитуда, мВ | 2,6±0,31 | 2,9±0,34 | 2,8±0,32 | 3,2±0,46 | 3,0±0,41 |
| Длительность, мс | 5,7±0,39 | 5,2±0,43 | 5,4±0,45 | 5,4±0,47 | 5,2±0,43 |
| % полифазных М-ответов | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 |
| <i>Стимуляция малоберцового нерва с оптимальной частотой (30 имп/с)</i> | | | | | |
| Амплитуда 1-го М-ответа в серии ($\bar{X} \pm m$), мВ | 2,5±0,28 | 3,1±0,36 | 2,9±0,34 | 3,4±0,44 | 3,1±0,42 |
| Степень повышения амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии (\bar{X} ; Me {1Q; 3Q}), % | 10,1; 10,6 {5,6; 14,2} | 35,2; 37,5 {23,3; 46,5} ^o | 28,2; 34,8 {17,2; 39,1} ^o | 37,4; 40,2 {27,5; 46,9} ^o | 27,8; 32,3 {16,9; 38,0} ^o |
| % особей в группах с выраженным облегчением синаптической передачи | 0 | 70 | 50 | 80 | 50 |
| Степень снижения амплитуды М-ответов относительно 1-го в серии (\bar{X} ; Me {1Q; 3Q}), % | -5,2; -4,8 {-9,7; -0,5} | -6,3; -6,5 {-10,9; -1,1} | -7,2; -6,7 {-13,1; -0,8} | -4,2; -5,6 {-8,1; -0,6} | -5,9; -6,8 {-10,8; -0,3} |
| % особей в группах с патологической депрессией синаптической передачи | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Примечания: * – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения контрольной группы (в %, $p < 0,05$); ^x – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения группы животных, получивших однократную инъекцию дексаметазона за 1 час до острого опыта ($p < 0,05$), ^o – разница в процентном изменении амплитуды М-ответов относительно 1-го М-ответа в серии статистически значима в сравнении с таковой контроля ($p < 0,05$, на основании критерия Манна-Уитни)

И дексаметазон, и гидрокортизон предопределили первоначальное укорочение ($p < 0,05$ относительно контроля) периода максимальной работоспособности мышцы

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СРОЧНЫХ И ДОЛГОВРЕМЕННЫХ ...

(на 24–43 %, табл. 2), которое в Г-группе было выражено в меньшей степени, чем в ДМ-группе ($p < 0,05$), и сочеталось с увеличением внешней работы мышцы (на 51 %, $p < 0,05$ относительно контроля, табл. 3), т.е. могло быть обусловлено положительным эрготропным действием гидрокортизона. При этом субмаксимальная работоспособность мышцы через 1 час после введения гидрокортизона существенно не изменялась, тогда как в ДМ-группе возрастала (на 38 %, $p < 0,05$ относительно контроля, табл. 2). Вместе с тем, спустя сутки после введения ГК эффекты дексаметазона и гидрокортизона на устойчивость мышцы к утомлению существенно отличались: если в Г-группе период максимальной работоспособности нормализовался, а субмаксимальной – даже удлинялся (на 45 %, $p < 0,05$ относительно контроля), то в ДМ-группе наблюдалось укорочение обоих этих периодов (на 31–40 %, $p < 0,05$ относительно контроля, табл. 2), которое на фоне относительно нормальной внешней работы мышцы, но при этом повышенной ТСМР (на 29 %, $p < 0,05$ относительно контроля, табл. 3), свидетельствует в пользу нарушения энергообеспечения в мышечных волокнах.

Таблица 2

Средние значения ($\bar{X} \pm m$) параметров тетанического сокращения мышцы (с внешней нагрузкой 70 г) крыс контрольной группы и животных, получивших однократные инъекции дексаметазона (2 мг/кг) и гидрокортизона (50 мг/кг) за 1 час и 24 часа до острого опыта

| Параметр | Группа животных | | | | |
|--|-----------------|---------------------|---------------------|--|--|
| | Контроль | ДМ-группа | | Г-группа | |
| | | спустя 1 ч | спустя 24 ч | спустя 1 ч | спустя 24 ч |
| Амплитуда тетанического сокращения, мм | 10,2±0,91 | 11,4±0,98 | 10,8±0,94 | 15,4±1,45 [+51*], (+35 ^x) | 11,6±1,05 |
| Средняя скорость достижения максимальной амплитуды мышечного сокращения, %/с | 40,2±1,55 | 59,5±4,61 [+48*] | 50,2±4,13 [+25*] | 65,4±5,14 [+63*] | 57,8±4,96 [+44*] |
| Продолжительность периода максимальной работоспособности, с | 4,3±0,36 | 2,4±0,31 [-44*] | 2,6±0,35 [-40*] | 3,3±0,25 [-23*], (+38 ^x) | 3,9±0,41 (+50 ^y) |
| Продолжительность периода субмаксимальной работоспособности, с | 9,8±1,03 | 13,5±1,13 [+38*] | 6,8±0,79 [-31*] | 8,8±1,05 (-35 ^x) | 14,2±1,54 [+45*], (+109 ^y) |

Примечания: * – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения контрольной группы (в %, $p < 0,05$); ^x – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения группы животных, получивших однократную инъекцию дексаметазона за 1 час до острого опыта ($p < 0,05$); ^y – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения группы животных, получивших однократную инъекцию дексаметазона за 24 часа до острого опыта ($p < 0,05$)

Таким образом, несмотря на некоторое сходство срочных эффектов гидрокортизона и дексаметазона на возбудимость нервно-мышечного аппарата и скорость тетанического сокращения мышцы, они характеризовались и принципиальными отличиями. В частности, значимый положительный эрготропный

эффект отмечался только под влиянием гидрокортизона и только через 1 час после его введения, что было сопряжено с первоначальным укорочением периода максимальной работоспособности мышцы, но при этом спустя сутки после однократной дозы гидрокортизона на фоне нормализации эргометрических параметров и ТСМР наблюдалось повышение устойчивости мышцы к утомлению. В отличие от эффекта гидрокортизона, дексаметазон не оказывал первоначального позитивного эрготропного действия, но обуславливал повышение ТСМР, которое сохранялось и через сутки после его введения на фоне укорочения периодов максимальной и субмаксимальной работоспособности мышцы, что указывает в пользу ухудшения энергообеспечения мышечных волокон.

Таблица 3

Средние значения ($\bar{X} \pm m$) параметров энергетики сокращения мышцы крыс контрольной группы и животных, получивших однократные инъекции дексаметазона (2 мг/кг) и гидрокортизона (50 мг/кг) за 1 час и 24 часа до острого опыта

| Параметр | Группа животных | | | | |
|---|-----------------|---------------------|---------------------|--|---------------------|
| | Контроль | ДМ-группа | | Г-группа | |
| | | спустя 1 ч | спустя 24 ч | спустя 1 ч | спустя 24 ч |
| Внешняя работа мышцы, мДж | 7,0±0,62 | 7,8±0,67 | 7,4±0,65 | 10,6±1,01 [+51*], (+35 ^x) | 8,0±0,72 |
| Мощность мышечного сокращения, мВт | 8,8±1,06 | 12,2±1,45 | 11,1±1,06 | 13,9±2,17 [+59*] | 11,2±1,15 |
| Прирост температуры мышцы после тетанического сокращения, °С | 0,19±0,01 | 0,32±0,02 [+68*] | 0,26±0,02 [+37*] | 0,37±0,03 [+95*] | 0,25±0,02 [+32*] |
| Температурная стоимость мышечной работы (ТСМР), °С/мДж·10 ⁻³ | 27,1±1,43 | 40,9±2,56 [+51*] | 35,0±2,84 [+29*] | 36,9±3,78 [+36*] | 31,4±2,51 |

Примечания: * – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения контрольной группы (в %, $p < 0,05$); ^x – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения группы животных, получивших однократную инъекцию дексаметазона за 1 час до острого опыта ($p < 0,05$)

Долговременные эффекты гидрокортизона и дексаметазона на функциональное состояние *m. tibialis anterior*. В отличие от однократных, длительно вводимые более низкие дозы гидрокортизона (3 мг/кг) и дексаметазона (0,25 мг/кг) оказывали негативное влияние на нервно-мышечный аппарат. В частности, под действием гидрокортизона наблюдались снижение возбудимости периферического звена нервно-мышечного аппарата, в пользу которого свидетельствует удлинение хронаксии (на 69 %, $p < 0,05$ относительно контроля), признаки сниженной надежности синаптической передачи, в пользу которой свидетельствует выраженный декремент амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го при низкочастотной стимуляции малоберцового нерва (табл. 4).

Кроме того, для мышцы животных, получивших 30 инъекций гидрокортизона, было характерно ($p < 0,05$ относительно контроля) ухудшение параметров М-ответа – удлинение его латентного периода (на 30 %) и уменьшение амплитуды (на 29 %, табл. 4), которые на фоне уменьшения массы мышцы (на 14 %) и количества активируемых ДЕ (на 42 %, табл. 5), косвенно указывают в пользу не только возможного ухудшения синхронизации возбуждения в мышце, но и дистрофических изменений мышечных волокон [11].

Субхроническое введение гидрокортизона (3 мг/кг/сутки), в отличие от однократной более высокой дозы (50 мг/кг), не оказывало эрготропного действия и, напротив, приводило к ухудшению ($p < 0,05$ относительно контроля) амплитудных и временных параметров одиночного и тетанического сокращений мышцы: уменьшению амплитуды одиночного сокращения (на 32 %), замедлению его фаз (на 19–29 %), снижению внешней работы мышцы при тетаническом сокращении (на 41 %) и ее силы (на 42 %, табл. 5). При этом ТСМР существенно возросла (на 60 %, $p < 0,05$ относительно контроля, табл. 5), что указывает в пользу ухудшения энергетического обеспечения сократительного акта и активации механизмов диссипации энергии в мышечных волокнах.

Таблица 4
Значения хронаксии и некоторых параметров М-ответа и одиночного сокращения *m. tibialis anterior* при разных режимах стимуляции малоберцового нерва у животных контрольной и 30Г-групп

| Показатель | Группа животных | |
|--|---------------------|------------------------------|
| | Контроль | 30Г-группа |
| Хронаксия ($\bar{X} \pm m$), мкс | 20,9±0,53 | 35,4±3,40, [+69 %*] |
| Параметры М-ответа при частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата 4 имп/с | | |
| Средняя амплитуда первых десяти М-ответов ($\bar{X} \pm m$) | 2,52±0,02 | 0,99±0,04, [-61 %*] |
| Дисперсия амплитуды М-ответов | 0,03 | 0,11• |
| Декремент амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го (\bar{X} ; Me {1Q; 3Q}), % | 2,8; 2,5 {1,8; 4,0} | -24,3; -25,7 {-42,0; -5,9} ° |
| Дисперсия декремента амплитуды М-ответов | 22 | 729• |
| Параметры одиночного М-ответа ($\bar{X} \pm m$) (при частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата 0,2 имп/с) | | |
| Латентный период, мс | 2,0 ± 0,05 | 2,6 ± 0,06, [+30 %*] |
| Амплитуда, мВ | 1,7 ± 0,11 | 1,2 ± 0,09, [-29 %*] |
| Длительность, мс | 4,99 ± 0,39 | 4,66 ± 0,33, [-7 %] |

Примечания – * – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %, $p < 0,05$); • – дисперсия определенного параметра статистически значимо отличается от таковой контрольных животных ($p < 0,05$, на основании двухвыборочного F-теста для дисперсий); ° – разница в процентном изменении амплитуды М-ответов относительно 1-го М-ответа в серии статистически значима в сравнении с таковой контроля ($p < 0,05$, на основании критерия Манна-Уитни)

Вместе с тем, продолжительность периодов максимальной и субмаксимальной работоспособности мышцы при выполнении высокочастотной утомляющей работы

после длительного введения гидрокортизона значимо удлинялась относительно контроля (на 41 % и 48 % соответственно, $p < 0,05$, табл. 5). В то же время, поскольку такое удлинение периодов работоспособности мышцы у животных 30Г-группы имело место на фоне уменьшения ее массы и количества активируемых ДЕ, а также ухудшения амплитудных и временных параметров одиночного сокращения, силы мышцы и величины внешней работы, но при этом увеличения ТСМР, наиболее вероятной его причиной являлось не улучшение энергообеспечения мышечных волокон, как спустя сутки после однократной дозы гидрокортизона, а увеличение удельной доли медленных окислительных мышечных волокон, задействованных в сокращении, в связи с частичной дистрофией быстрых гликолитических мышечных волокон.

Таблица 5

Средние значения ($\bar{X} \pm m$) сократительных и энергетических параметров мышцы крыс контрольной и 30Г-групп

| Показатель | Группа животных | |
|---|-----------------|--------------------|
| | Контроль | 30Г-группа |
| Масса мышцы, мг | 399,8±6,81 | 344,2±12,9, [-14*] |
| Количество активируемых двигательных единиц | 14,1±1,21 | 8,2±0,72, [-42*] |
| Параметры одиночного сокращения (с внешней нагрузкой 20 г) | | |
| Амплитуда, мм | 2,9±0,17 | 1,9±0,18, [-32*] |
| Латентный период, мс | 8,7±0,35 | 11,9±0,52, [+37*] |
| Продолжительность фазы укорочения, мс | 30,1±1,18 | 38,7±1,54, [+29*] |
| Продолжительность фазы расслабления, мс | 74,1±4,17 | 88,0±4,18, [+19*] |
| Энергетические параметры мышцы при выполнении 6-ти секундного гладкого тетануса с внешней нагрузкой 80 г | | |
| Внешняя работа, мДж | 10,6±0,84 | 6,3±0,75, [-41*] |
| Температурный эффект мышечного сокращения, °С | 0,3±0,01 | 0,26±0,04 |
| ТСМР, (°С/мДж) · 10 ³ | 25,9±2,14 | 41,4±4,82, [+60*] |
| Параметры тетанического сокращения при выполнении мышцей утомляющей работы с внешней нагрузкой 70 г до полного расслабления | | |
| Сила тетанического сокращения, мН | 0,9±0,09 | 0,5±0,08, [-42*] |
| Удельная сила тетанического сокращения, мН/100 мг массы мышцы | 0,21±0,02 | 0,14±0,02, [-33*] |
| Период максимальной работоспособности мышцы, с | 3,7±0,40 | 5,2±0,49, [+41*] |
| Период субмаксимальной работоспособности мышцы, с | 9,6±0,99 | 14,2±1,32, [+48*] |

Примечания – * – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %, $p < 0,05$)

Длительно вводимый дексаметазон (0,25 мг/кг, 1 раз в 2 суток, на протяжении 10–60 дней), подобно гидрокортизону, обуславливал ухудшение параметров энергетики мышечного сокращения ($p < 0,05$ относительно контроля): уменьшение объема внешней работы мышцы (на 45–41 % спустя 20–50 дней введения) и повышение энергетической ее стоимости (на 26–82 % спустя 10–40 дней применения). В то же время к окончанию 2-месячного периода применения дексаметазона наблюдалась нормализация внешней работы мышцы и температурной ее стоимости,

что указывает в пользу возможного развития адаптации нервно-мышечного аппарата к длительному введению ГК в фиксированной дозе. Между тем, на протяжении всего 2-месячного периода введения дексаметазона сохранялись более выраженные, в сравнении с контролем ($p < 0,05$), снижение объема внешней работы мышцы (на 70–79 % против снижения в 56 % у контроля) и повышение ТСМР (на 104–230 % против повышения в 28 % у контроля) в процессе выполнения утомляющих тетанусов (рис.), отражающие высокую патофизиологическую активность синтетического ГК в отношении работоспособности скелетной мышцы.

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

Обсуждая результаты исследований, отметим, что дексаметазон (2 мг/кг), даже после однократного применения, оказывал более выраженное негативное влияние на энергетику мышечного сокращения, в сравнении с гидрокортизоном (50 мг/кг), который, в отличие от дексаметазона, приводил к повышению устойчивости скелетной мышцы к утомлению спустя сутки после введения. Данный факт отчасти согласуется с результатами исследований других специалистов, выявивших способность однократно вводимого гидрокортизона повышать содержание гликогена, глюкозы и жирных кислот в мышечных волокнах, крови и многих других тканях [13], тогда как дексаметазон, напротив, вызывает нарушение всех трех типов транспорта глюкозы в мышечные волокна – инсулинзависимого, регулируемого ИФР-I и базального [14], что может обуславливать наблюдаемые нами признаки нарушения энергообеспечения сократительного акта. В основе различных эффектов гидрокортизона и дексаметазона на работоспособность мышцы может лежать активация под влиянием различных ГК разных сигнальных биохимических путей в мышечных волокнах, отмеченная в исследованиях других авторов [7].

Подобная закономерность в отношении эффектов естественного и синтетического ГК на работоспособность мышцы была получена и при исследовании долговременных эффектов гидрокортизона (3 мг/кг/сутки, на протяжении 30 дней) и дексаметазона (0,25 мг/кг, 1 раз в 2-е суток, на протяжении от 10 до 60 дней). В частности, установлены более выраженные негативные эффекты дексаметазона на работоспособность *m. tibialis anterior*, в сравнении с эффектами естественного ГК. Показано, что длительное введение гидрокортизона приводило к уменьшению возбудимости скелетной мышцы, снижению устойчивости генерации ей М-ответов, ухудшению сократительных и энергетических параметров, но при этом повышению ее устойчивости к утомлению, которое, вероятнее всего, было обусловлено увеличением окислительной активности исследуемой быстрой скелетной мышцы,

поскольку сочеталось с ухудшением временных параметров одиночного ее сокращения. Длительно вводимый дексаметазон, наряду с типичным для гидрокортизона, ухудшением ($p < 0,05$ относительно контроля) эргометрических параметров мышцы и КПД мышечной работы, обуславливал и снижение ее устойчивости к утомлению, признаки которого отмечались и спустя сутки после однократного его введения.

Известно, что в скелетных мышечных волокнах, как и в большинстве других соматических клеток экспрессируются два типа рецепторов к кортикостероидам: GR, проявляющие низкую аффинность к ГК, но при этом связывающиеся с синтетическими ГК, и MR, проявляющие аффинитет не только к минерало-, но и естественным глюкокортикоидам [15, 16]. Причем сродство MR к ГК гораздо выше такового минералокортикоидов [17], поэтому в большинстве клеток (кроме канальцев нефрона, где имеется фермент, метаболизирующий ГК) естественные ГК при нормальном их уровне в плазме крови связываются преимущественно с MR, и только при повышении их концентрации в крови наблюдается и насыщение GR глюкокортикоидами. Дексаметазон, как синтетический ГК, не образует связи с MR, а насыщает только GR.

Экспрессия GR и MR в клетках и соответственно соотношение между ними может изменяться при различных функциональных состояниях. Так, например, хронический стресс и соответственно естественные ГК подавляют экспрессию GR в большинстве клеток [18], тогда как длительное введение дексаметазона, напротив, стимулирует экспрессию GR [19]. Соответственно, у животных, субхронически получавших гидрокортизон, можно предположить ослабление экспрессии GR в мышечных волокнах, тогда как у крыс, получавших дексаметазон, напротив, повышение экспрессии GR.

Вопрос, касающийся активации определенных сигнальных путей с участием GR и MR в различных типах клеток до конца не решен. Известно, в частности, что в эпителиальных клетках ГК действуют как агонисты GR и MR [20], тогда как в кардиомиоцитах и, возможно, скелетных мышечных волокнах естественные ГК выступают агонистами GR, но при этом антагонистами MR [21]. При этом гидрокортизон способен связываться и с GR, и с MR, тогда как дексаметазон – только с GR [22, 23]. Установлено, что активация процессов мышечной дистрофии под действием ГК преимущественно обусловлена реализацией их эффектов через GR, потому что мышцы с нокаутом гена GR оказываются устойчивыми к дексаметазон-индуцированной мышечной дистрофии [24].

В то же время показано, что блокада MR в мышечных волокнах сопровождается улучшением функциональных параметров скелетных мышц, в том числе повышением мышечной силы на моделях мышечной дистрофии Дюшенна (при этом уменьшается и повреждение мембран мышечных волокон) [25]. В связи с этим блокаторы MR рассматриваются как новый терапевтический путь при дистрофических изменениях скелетных мышц, возникающих как за счет внутреннего воздействия на миофибрилярный аппарат и мышечную силу, так и за счет последующего фиброза и внешних функций, влияющих на стабильность мембраны [26]. Острое воздействие гидрокортизона в наших исследованиях, очевидно, обуславливало частичную блокаду MR, что и могло послужить причиной повышения мышечной силы, тогда как

введение дексаметазона сопровождалось только активацией GR без параллельной блокады MR, что обусловило отсутствие его эргогенных эффектов при остром воздействии и более выраженные функциональные проявления миопатии при субхроническом введении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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

Список литературы

1. Madamsetty V. S. Dexamethasone: Insights into Pharmacological Aspects, Therapeutic Mechanisms, and Delivery Systems / V. S. Madamsetty, R. Mohammadinejad, I. Uzieliene, N. Nabavi, A. Dehshahri, J. Garcia-Couce, Sh. Tavakol, S. Moghassemi, A. Dadashzadeh, P. Makvandi, A. Pardakhty, A. A. Afshar, A. Seyfoddin // ACS Biomater Sci Eng. – 2022. – V. 8, № 5. – P. 1763–1790.
2. Swarbrick M. Mechanisms in endocrinology: Local and systemic effects of glucocorticoids on metabolism: new lessons from animal models / M. Swarbrick, H. Zhou, M. Seibel // Eur. J. Endocrinol. – 2021. – V. 185, № 5. – P. R113–R129.
3. Minetto M. A. Muscle fiber conduction slowing and decreased levels of circulating muscle proteins after short-term dexamethasone administration in healthy subjects / M. A. Minetto, A. Botter, F. Lanfranco, M. Baldi, E. Ghigo, E. Arvat // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2010. – V. 95, № 4. – P. 1663–1671.
4. Гришин С. Н. Влияние глюкокортикоидов и катехоламинов на нервно-мышечную передачу / С. Н. Гришин, А. И. Габдрахманов, А. Е. Хайруллин, А. У. Зиганшин // Биологические мембраны. – 2017. – Т. 34, № 4. – С. 251–260.
5. Lee M.-C. Apoptosis of skeletal muscle on steroid-induced myopathy in rats / M.-C. Lee, G.-R. Wee, J.-H. Kim // J. Nutr. – 2005. – V. 135, № 7. – P. 1806S–1808S.
6. Sun L.-Y. Acute myopathy following intra-muscular injection of compound betamethasone: A case report / L.-Y. Sun, X.-L. Chu // Medicine (Baltimore). – 2017. – V. 96, № 34. – P. e7474.
7. Fappi A. Skeletal Muscle Response to Deflazacort, Dexamethasone and Methylprednisolone / A. Fappi, J. C. Neves, L. N. Sanches, P. V. Massaroto e Silva, G. Yu. Sikusawa, Th. P. Correa Brandão, G. Chadi, E. Zanoteli // Cells. – 2019. – V. 8, № 5. – P. 406.
8. 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.

9. Katzung B. G. *Greenspan's Basic and Clinical Pharmacology* / B. G. Katzung (ed.). – 14th ed. – New York: McGraw-Hill Medical, 2018. – 1264 p
10. Galea V. The number and relative size of motor units estimated by computer / V. Galea, H. De Bruin, R. Cavašin, A. J. McComas // *Muscle and Nerve*. – 1991. – V. 14. – P. 1123–1130.
11. Гехт Б. М. Теоретическая и клиническая электромиография / Б. М. Гехт. – Л.: Наука, Ленинградское отделение, 1990. – 229 с.
12. MacIntosh B. R. *Skeletal muscle. Form and function* / B. R. MacIntosh, Ph. F. Gardiner, A. J. McComas. – 2th ed. – Champaign: Human Kinetics, 2006. – 423 p.
13. Fernandez-Sola J. Patients with chronic glucocorticoid treatment develop changes in muscle glycogen metabolism / J. Fernandez-Sola, R. Cusso, C. Picado, M. Vernet, J. M. Grau, A. U.-Marquez // *J. Neurol. Sci.* – 1993. – V. 117, № 1-2. – P. 103–106.
14. Gong H. Dexamethasone rapidly inhibits glucose uptake via non-genomic mechanisms in contracting myotubes / H. Gong, L. Liu, C. X. Ni, Y. Zhang, W.-J. Su, Y.-J. Lian, W. Peng, J.-P. Zhang, Ch.-L. Jiang // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2016. – V. 603. – P. 102–109.
15. Cruz-Topete D. One hormone, two actions: anti- and pro-Inflammatory effects of glucocorticoids / D. Cruz-Topete, J. A. Cidlowski // *Neuroimmunomodulation*. – 2015. – V. 22, № 1-2. – P. 20–32.
16. John K. The glucocorticoid receptor: cause of or cure for obesity? / K. John, J. S. Marino, E. R. Sanchez, T. D. Hinds // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2016. – V. 310, № 4. – P. 249–257.
17. Edwards H. E. The impact of corticosteroids on the developing animal / H. E. Edwards, W. M. Burnham // *Pediatr. Res.* – 2001. – V. 50. – P. 433–440.
18. Karandrea D. Forced swimming differentially affects male and female brain corticosteroid receptors / D. Karandrea, C. Kittas, E. Kitraki // *Neuroendocrinol.* – 2002. – V. 75. – P. 217–226.
19. Shishkina G. T. Behavioral effects of glucocorticoids during the first exposures to the forced swim stress / G. T. Shishkina, V. V. Bulygina, N. N. Dygalo // *Psychopharmacology (Berl.)*. – 2015. – V. 232. – P. 851–860.
20. Есаян А. М. Минералкортикоидные рецепторы: структура, механизмы активации / А. М. Есаян, И. Г. Каюков, А. Ж. Карабаева // *Нефрология*. – 2006. – Т. 10, №2. – С. 28–32.
21. Chadwick J. A. Gene expression effects of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor agonists and antagonists on normal human skeletal muscle / J. A. Chadwick, J. S. Hauck, C. E. Gomez-Sanchez, E. P. Gomez-Sanchez, J. A. Rafael-Fortney // *Physiol. Genomics*. – 2017. – V. 49, №6. – P. 277–286.
22. Борисова Е. О. Клиническая фармакология парентеральных форм глюкокортикоидов / Е. О. Борисова // *Лечебное дело*. – 2007. – №3. – С. 17–24
23. Rogerson F. M. Mineralocorticoid action / F. M. Rogerson, P. J. Fuller // *Steroids*. – 2000. – V. 65, №2. – P. 61–73.
24. Watson M. L. A cell-autonomous role for the glucocorticoid receptor in skeletal muscle atrophy induced by systemic glucocorticoid exposure / M. L. Watson, L. M. Baehr, H. M. Reichardt, J. P. Tuckermann, S. C. Bodine, J. D. Furlow // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2012. – V. 302, № 10. – P. E1210–E1220.
25. Howard Z. M. Mineralocorticoid receptor signaling in the inflammatory skeletal muscle microenvironments of muscular dystrophy and acute injury / Z. M. Howard, Ch. K. Gomatam, A. B. Piepho, J. A. Rafael-Fortney // *Front Pharmacol.* – 2022. – V. 13. – P. 942660.
26. Howard Z. M. Myeloid mineralocorticoid receptors contribute to skeletal muscle repair in muscular dystrophy and acute muscle injury / Z. M. Howard, N. Rastogi, J. Lowe, J. S. Hauck, P. Ingale, Ch. Gomatam, C. E. Gomez-Sanchez, E. P. Gomez-Sanchez, Sh. S. Bansal, J. A. Rafael-Fortney // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2022. – V. 322, № 3. – P. C354–C369.

COMPARATIVE EVALUATION OF IMMEDIATE AND LONG-TERM EFFECTS OF NATURAL AND SYNTHETIC GLUCOCORTICOIDS ON THE PERIPHERAL UNIT OF THE NEUROMUSCULAR APPARATUS OF RATS

Trush V. V.¹, Sobolev V. I.², Popov M. N.², Bondarenko N. N.³

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Donetsk State University", Donetsk, DPR, Russia

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky", Yalta, Republic of Crimea, Russia

³Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Donetsk State Medical University named after M. Gorky", Donetsk, DPR, Russia
E-mail: ver.trush@yandex.ru

The aim of this work was to study the immediate and long-term effects of glucocorticoids – natural (hydrocortisone) and synthetic (dexamethasone) – on the functional state of the peripheral neuromuscular system of rats.

Method. Evaluation the immediate effects of glucocorticoids on functional parameters of *m. tibialis anterior* was performed after 1 hour and 24 hours of their parenteral administration in doses equivalent to the maximum daily therapeutic for humans (2 mg/kg for dexamethasone and 50 mg/kg for hydrocortisone). Study of the effects of subchronically administered of glucocorticoids on *m. tibialis anterior* was performed after 30 days of hydrocortisone administration and 10, 20, 30, 40, 50 and 60 days of dexamethasone administration in doses equivalent to moderate therapeutic doses for humans (3 mg/kg daily for hydrocortisone and 0.25 mg/kg, once every 2 days for dexamethasone).

A number of functional parameters of *m. tibialis anterior* were studied in anesthetized animals (sodium thiopental, 100 mg/kg) using electrophysiological methods (electromyography, ergography and myotherapy).

Results. Positive ergotropic effect on *m. tibialis anterior* of rats, which manifests itself in an increase in the volume of external work of the muscle and the power of contraction, is exerted by hydrocortisone (50 mg/kg; 1 hour after administration) against the background of a shortening of the period of maximum muscle performance. One day after a single dose of hydrocortisone, an increase in muscle resistance to fatigue is observed against the background of normalization of ergometric parameters.

A single dose of dexamethasone (2 mg/kg) causes a decrease in maximum muscle performance and muscle efficiency.

Long-term administration of hydrocortisone (30 days, 3 mg/kg/day) leads to a significant deterioration in the contractile and energy parameters of the muscle, a decrease in the excitability of the neuromuscular system, the volume of external work and the reliability of neuromuscular transmission, but at the same time an increase in muscle resistance to fatigue.

Subchronic administration of dexamethasone (20–60 days; 0.25 mg/kg, once every 2 days) causes a deterioration not only of the ergometric and energy parameters of skeletal muscle, but also of its resistance to fatigue.

Conclusion. The synthetic glucocorticoid dexamethasone, even after a single application, had a more pronounced negative effect on the energy of muscle contraction, in comparison with hydrocortisone, which, unlike dexamethasone, led to an increase in the resistance of skeletal muscle to fatigue both a day after administration and in the case of subchronic applications.

Keywords: glucocorticoids, hydrocortisone, dexamethasone, skeletal muscle, rats.

References

1. Madamsetty V. S., Mohammadinejad R., Uzieliene I., Nabavi N., Dehshahri A., García-Couce J., Tavakol Sh., Moghassemi S., Dadashzadeh A., Makvandi P., Pardakhty A., Afshar A. A., Seyfoddin A. Dexamethasone: Insights into Pharmacological Aspects, Therapeutic Mechanisms, and Delivery Systems, *ACS Biomater Sci Eng.*, **8** (5), 1763-90 (2022). DOI: 10.1021/acsbomaterials.2c00026
2. Swarbrick M., Zhou H., Seibel M. Mechanisms in endocrinology: Local and systemic effects of glucocorticoids on metabolism: new lessons from animal models, *Eur. J. Endocrinol.*, **185** (5), R113-29 (2021). DOI: 10.1530/eje-21-0553
3. Minetto M. A., Botter A., Lanfranco F., Baldi M., Ghigo E., Arvat E. Muscle fiber conduction slowing and decreased levels of circulating muscle proteins after short-term dexamethasone administration in healthy subjects, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **95** (4), 1663-71 (2010). DOI: 10.1210/jc.2009-2161
4. Grishin S. N., Gabdrakhmanov A. I., Khairullin A. E., Ziganshin A. U. The Influence of Glucocorticoids and Catecholamines on the Neuromuscular Transmission, *Biologicheskie membrany (Biological membranes)*, **34** (4), 251-60 (2017). DOI: 10.7868/S0233475517040016 (In Russian)
5. Lee M.-C., Wee G.-R., Kim J.-H. Apoptosis of skeletal muscle on steroid-induced myopathy in rats, *J. Nutr.*, **135** (7), 1806S-8S (2005). DOI: 10.1093/jn/135.7.1806s
6. Sun L.-Y., Chu X.-L. Acute myopathy following intra-muscular injection of compound betamethasone: A case report, *Medicine (Baltimore)*, **96** (34), e7474 (2017). DOI: 10.1097/md.00000000000007474
7. Fappi A., Neves J. C., Sanches L. N., Massaroto E., Silva P. V., Sikusawa G. Y., Brandão T. P. C., Chadi G., Zanoteli E. Skeletal Muscle Response to Deflazacort, Dexamethasone and Methylprednisolone, *Cells*, **8** (5), 406 (2019). DOI: 10.3390/cells8050406
8. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv, A. N. Mironova, N. D. Bunatyan, reds. Moscow: Minzdrav RF, ZAO «Grif i K»; 2012 (In Russian).
9. Katzung B. G. *Greenspan's Basic and Clinical Pharmacology*. B. G. Katzung (ed.). 14th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2018.
10. 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: 10.1002/mus.880141114
11. Geht B. M. *Teoreticheskaya i klinicheskaya elektromiografiya (Theoretical and clinical electromyography)*. Leningrad: Nauka; 1990 (In Russian)
12. 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
13. Fernandez-Sola J., Cusso R., Picado C., Vernet M., Grau J. M., Marquez A. U. Patients with chronic glucocorticoid treatment develop changes in muscle glycogen metabolism, *J. Neurol. Sci.*, **117** (1-2), 103-6 (1993). DOI: 10.1016/0022-510x(93)90161-q
14. Gong H., Liu L., Ni C. X., Zhang Y., Su W.-J., Lian Y.-J., Peng W., Zhang J.-P., Jiang Ch.-L. Dexamethasone rapidly inhibits glucose uptake via non-genomic mechanisms in contracting myotubes, *Arch. Biochem. Biophys.*, **603**, 102-9 (2016). DOI: 10.1016/j.abb.2016.05.020
15. Cruz-Topete D., Cidlowski J. A. One hormone, two actions: anti- and pro-inflammatory effects of glucocorticoids, *Neuroimmunomodulation*, **22** (1-2), 20-32 (2015). DOI: 10.1159/000362724
16. John K., Marino J. S., Sanchez E. R., Hinds T. D. The glucocorticoid receptor: cause of or cure for obesity? *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **310** (4), 249-57 (2016). DOI: 10.1152/ajpendo.00478.2015
17. Edwards H.E., Burnham W.M. The impact of corticosteroids on the developing animal, *Pediatr. Res.*, **50**, 433-40 (2001). DOI: 10.1203/00006450-200110000-00003

18. Karandrea D., Kittas C., Kitraki E. Forced swimming differentially affects male and female brain corticosteroid receptors, *Neuroendocrinol.*, **75**, 217-26 (2002). DOI: 10.1159/000054713
19. Shishkina G. T., Bulygina V. V., Dygalo N. N. Behavioral effects of glucocorticoids during the first exposures to the forced swim stress, *Psychopharmacology (Berl.)*, **232**, 851-60 (2015). DOI: 10.1007/s00213-014-3718-8
20. Essaian A. M., Kayukov I. G., Karabaeva A. Zh. Mineralocorticoid receptors: structure, mechanisms of activation, *Nephrology (Nefrologiya)*, **10** (2), 28-32 (2006). DOI: 10.1007/springerreference_33341 (In Russian)
21. Chadwick J. A., Hauck J. S., Gomez-Sanchez C. E., Gomez-Sanchez E. P., Rafael-Fortney J. A. Gene expression effects of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor agonists and antagonists on normal human skeletal muscle, *Physiol. Genomics*, **49** (6), 277-86 (2017). DOI: 10.1152/physiolgenomics.00128.2016.
22. Borisova E. O. Clinical pharmacology of parenteral forms of glucocorticoids, *Lechebnoe delo (Treatment)*, 3, 17-24 (2007) (In Russian)
23. Rogerson F. M., Fuller P. J. Mineralocorticoid action, *Steroids*, **65** (2), 61-73 (2000). DOI: 10.1016/s0039-128x(99)00087-2
24. Watson M. L., Baehr L. M., Reichardt H. M., Tuckermann J. P., Bodine S. C., Furlow J. D. A cell-autonomous role for the glucocorticoid receptor in skeletal muscle atrophy induced by systemic glucocorticoid exposure, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **302** (10), E1210-20 (2012). DOI: 10.1152/ajpendo.00512.2011
25. Howard Z. M., Gomatam Ch. K., Piepho A. B., Rafael-Fortney J. A. Mineralocorticoid receptor signaling in the inflammatory skeletal muscle microenvironments of muscular dystrophy and acute injury, *Front Pharmacol.*, **13**, 942660 (2022). DOI: 10.3389/fphar.2022.942660
26. Howard Z. M., Rastogi N., Lowe J., Hauck J. S., Ingale P., Gomatam Ch., Gomez-Sanchez C. E., Gomez-Sanchez E. P., Bansal Sh. S., Rafael-Fortney J. A. Myeloid mineralocorticoid receptors contribute to skeletal muscle repair in muscular dystrophy and acute muscle injury, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **322** (3), C354-69 (2022). DOI: 10.1152/ajpcell.00411.2021