

© Коллектив авторов, 2019

УДК 591.473.3:612.741:615.357:616.74-007.23

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

## Оценка эффективности $\beta_2$ -адреноагониста формотерола в компенсации электрофизиологических проявлений стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных

<sup>1</sup>Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Донецкий национальный университет», 83050, г. Донецк, ул. Щорса, д. 46;

<sup>2</sup>Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, 298650, г. Ялта, Россия, ул. Стахановская, д. 11

**Цель исследования** – изучение с помощью стимуляционной электромиографии в экспериментах на крысах эффективности  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола в компенсации электрофизиологических нарушений передней большеберцовой мышцы (*m. tibialis anterior*), вызванных длительным введением дексаметазона. **Методика.** Исследования выполнены на 40 половозрелых крысах-самках в возрасте 4-5 мес массой 180-200 г. Животные были разделены на 4 группы: контрольную (К – группа, без каких-либо воздействий, n=10) и 3 экспериментальных по 10 животных в каждой. Крысы 1-й группы на протяжении 30 сут получали дексаметазон, 2-й группы – дексаметазон в комплексе с формотеролом, 3-я – получала только формотерол. Дексаметазон вводили внутривентриально (0,25 мг/кг) 1 раз в 2 сут. Формотерол (1,5 мкг/кг) вводили ежедневно под кожу. Через 30 сут на наркотизированных животных (тиопентал натрия 100мг/кг внутривентриально) проводили острый опыт. Изучали электрофизиологические параметры передней большеберцовой мышцы с помощью экспериментальной двухканальной установки, оба канала были связаны с регистрирующим устройством – запоминающим цифровым осциллографом Tektronix (TDS2004C).

**Результаты.** Установлено, что формотерол в комплексе с дексаметазоном, предотвращал уменьшение количества активируемых двигательных единиц мышцы и удлинение латентного периода М-ответов. А также обуславливал существенное повышение амплитуды М-ответов (на 115% в сравнении с контролем). Вместе с тем, формотерол в комплексе с дексаметазоном не предотвращал появление полифазных М-ответов, но компенсировал снижение их амплитуды. Введение дексаметазона с формотеролом уменьшало частоту случаев сниженной надежности синаптической передачи (до 30% против 70% в группе крыс, получавших дексаметазон изолированно). Вместе с тем, в случае комплексного введения дексаметазона с формотеролом наблюдалось удлинение латентного периода М-ответов после выполнения утомляющей работы. **Заключение.** Полученные данные указывают на высокую эффективность  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола в предотвращении электрофизиологических нарушений в мышце, вызванных длительным введением дексаметазона. Вместе с тем формотерол в комплексе с дексаметазоном, хотя и снижал частоту случаев низкой надежности синаптической передачи в группе (до 30% против 70% в группе, получавших дексаметазон изолированно), в полной мере не предотвращал данного эффекта стероидной миопатии.

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

**Для цитирования:** Труш В.В., Соболев В.И. Оценка эффективности  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола в компенсации электрофизиологических проявлений стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(3): 35-47.

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2019.03.35-47

**Для корреспонденции:** Труш Вера Владимировна, доцент, канд. мед. наук, зав. каф. физиологии человека и животных ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», e-mail: ver.trush@yandex.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила** 11.09.2018

Trush V.V.<sup>1</sup>, Sobolev V.I.<sup>2</sup>**EFFICACY OF THE  $\beta_2$ -ADRENERGIC AGONIST FORMOTEROL IN COMPENSATION OF ELECTROPHYSIOLOGICAL MANIFESTATIONS OF STEROID MYOPATHY IN ANIMAL EXPERIMENTS**<sup>1</sup>Donetsk National University,  
Shchors Str. 46, Donetsk 83050;<sup>2</sup>V.I. Vernadsky Crimean Federal University,  
Stakhanovskaya Str. 11, Yalta, Republic of Crimea, Russia

**Aim.** To study efficacy of  $\beta_2$ -adrenergic agonist formoterol (F) in compensation of electrophysiological disorders in mixed-type skeletal muscles (*m. tibialis anterior*) induced by long-term dexamethasone (D) treatment. **Methods.** Experiments were performed on sexually mature female rats (180-210 g) divided into four groups: 1) control, group C (intact rats, n=10); 2) first experimental group, 30D (30-day dexamethasone treatment, n=10); 3) second experimental group, 30D+F (30-day dexamethasone plus formoterol treatment, n=10); and third experimental group, 30F (30-day formoterol treatment, n=10). Dexamethasone (KRKA, Slovenia) was administered every two days, i.p., at a dose of 0.25 mg/kg, which was equivalent to the clinical therapeutic dose. Formoterol (Foradil, Novartis, Switzerland) was administered daily at a dose of 1.5  $\mu$ /kg, s.c. On day 30, rats were anesthetized with sodium thiopental (100 mg/kg), and stimulation electromyography was performed in an acute experiment. The anterior tibial muscle was stimulated with suprathreshold electrical current via the fibular nerve, and electrophysiological parameters of the muscle were recorded.

**Results.** Formoterol in combination with dexamethasone prevented the decrease in the number of activated muscle motor units and the prolongation of M-response latency, which were typical for the 30D group. Also, formoterol not only corrected the decreased M-response amplitude but even significantly increased it in the 30D+F group by 115% compared to the control ( $p < 0.05$ ). At the same time, formoterol in combination with dexamethasone did not prevent the emergence of polyphasic M-responses (as observed in 50% of animals in the 30D+F group and 40% of animals in the 30D group) but compensated for the decrease in their amplitude. Administration of F+D reduced the incidence of less reliable synaptic transmission (up to 30% in the 30D+F group vs. 70% in the 30D group) but did not completely prevent it. Formoterol administered together with dexamethasone did not prevent marked facilitation of synaptic transmission in 50% of rats at the optimal neuromuscular stimulation rate (30 imp/s). However, this combination increased the amplitude of the first M-response in a series, which indicated the absence of blocked synapses in the 30D+F group. Formoterol in combination with dexamethasone prevented the typical for D-group disorder of M-response, which was more pronounced than in control, and the decrease in the number of activated muscle motor units after performing a fatigable work. At the same time, the D+F treatment increased the M-response latency after performing the fatigable work, which was typical for the 30D group but was not characteristic of the control. This fact confirmed a lower reliability of synaptic transmission both in 30D and 30D+F groups. **Conclusion.** The study demonstrated a high efficacy of the  $\beta_2$ -adrenergic agonist formoterol for preventing electrophysiological disorders in the muscle induced by long-term administration of dexamethasone, which indicated myopathic alterations. At the same time, formoterol in combination with dexamethasone, although reduced the incidence of low-reliability synaptic transmission (up to 30% vs. 70% in the group receiving dexamethasone alone), did not completely prevent this manifestation of steroid myopathy.

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

**For citation:** Trush V.V., Sobolev V.I. Efficacy of the  $\beta_2$ -adrenergic agonist formoterol in compensation of electrophysiological manifestations of steroid myopathy in animal experiments. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal). 2019; 63 (3):35-47. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2019.03.35-47

**For correspondence:** Vera V. Trush, Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Physiology of Human and Animals of State Educational Institution of Higher Education «Donetsk national university», 46 Shchorsa St., Donetsk 83050, e-mail: ver.trush@yandex.ru

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Information about authors:**

Trush V.V., <http://orcid.org/0000-0001-8514-8431>

Sobolev V.I., <http://orcid.org/0000-0001-9318-5224>

**Received** 11.09.2018

## Введение

Естественные глюкокортикоиды и особенно более активные их синтетические аналоги нашли широкое применение в клинической практике при лечении аутоиммунных, аллергических и гематологических заболеваний. Вместе с тем, наряду с полезными терапевтическими эффектами эти препараты стимулируют катаболические процессы в мышечной, иммунной, костной и других системах организма, что негативно отражается на их функциональном состоянии [1]. Изменения в скелетных мышцах при гиперкортицизме носят миопатический характер и проявляются мышечной дистрофией, слабостью и повышенной утомляемостью [2]. Несмотря на достаточно хорошую изученность проявлений стероидной миопатии, в том числе ятрогенного характера, остается открытым вопрос, каковы способы ее компенсации.

В предыдущих исследованиях [3] нами установлена эффективность продолжительного введения фармакологических доз адреналина в частичной компенсации электрофизиологических и сократительных нарушений скелетной мышцы, вызванных длительным применением гидрокортизона. Рядом авторов [4] показана эффективность селективного  $\beta_2$ -адреноагониста кленбутерола в предотвращении развития атрофии жевательной мышцы крыс, вызванной введением дексаметазона. Вместе с тем, оценки функциональных параметров скелетной мышцы в данной работе не проводилось. В то же время исследованиями последних десятилетий установлено, что в основе патологических изменений нервно-мышечного аппарата под влиянием фармакологических доз глюкокортикоидов могут лежать не только дистрофические изменения мышечных волокон особенно гликолитического типа [5, 6], но и функциональные расстройства, в том числе обусловленные нарушением работы синаптического звена [7]. В связи с этим для комплексной оценки эффективности адреноагонистов в компенсации проявлений стероидной миопатии необходимо исследование не только мышечной массы, но и ряда функциональных и в том числе электрофизиологических параметров, изменение которых может развиваться еще до существенного нарушения сократительной функции скелетной мышцы.

В качестве рабочей гипотезы в настоящей работе было предположено, что использование одного из селективных  $\beta_2$ -адреноагонистов (формотерола) может блокировать или ослаблять проявление признаков стероидной миопатии, выявляемых электрофизиологическими методами скелетной мышцы. Выбор формотерола для возможной компенсации стероидной миопатии был обусловлен следующим: во-первых, преобладаю-

щим типом адренорецепторов в скелетных мышечных волокнах являются  $\beta_2$ -адренорецепторы [8]. Кроме того, установлено наличие  $\beta_2$ -адренорецепторов на пресинаптических нервных окончаниях мотонейронов и показано, что их прямая стимуляция симпатомиметиками вызывает существенное облегчение синаптической передачи в двигательных единицах скелетной мышцы [9]. В предыдущих наших исследованиях [10], а также работах других авторов [11] получены факты, свидетельствующие в пользу нарушений синаптической передачи под влиянием фармакологических доз глюкокортикоидов. В связи с этим можно предполагать, что применение селективного  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола, характеризующегося пролонгированным действием, должно хотя бы в какой-то мере компенсировать электрофизиологические нарушения в скелетной мышце, индуцированные глюкокортикоидами, не оказывая побочного сосудосуживающего и кардиостимулирующего действия, типичного для неселективного адреноагониста адреналина. Во-вторых, исследованиями последних лет доказано анаболическое влияние  $\beta_2$ -адреноагонистов и их способность к стимуляции роста скелетных мышц [12-14]. Отмечено их защитное действие при развитии атрофии различного генеза [15-17] и способность к индукции митохондриального биоге-неза [18]. Последнее может оказаться полезным в предотвращении дистрофических изменений скелетной мускулатуры, в том числе вызванных глюкокортикоидной терапией. В-третьих, в клинической практике достаточно широко при лечении ряда бронхо-легочных заболеваний используют комплексное введение формотерола и глюкокортикоидов для достижения максимального терапевтического эффекта [19]. В связи с этим представляло немалый практический интерес выяснение вопроса о характере действия комбинации из указанных препаратов на функциональное состояние скелетной мышцы смешанного типа с преобладанием быстрых мышечных волокон, более чувствительных, в сравнении с медленными, к катаболическому действию глюкокортикоидов [5]. Наконец, в-четвертых, согласно данным клинических исследований [20], формотерол в фармакологических дозах (до 108 мкг/сутки) безопасен и хорошо переносится даже детьми, поэтому его применение с целью компенсации стероидной миопатии может быть относительно безвредным для пациентов, не имеющих абсолютных противопоказаний к приему  $\beta_2$ -адреноагонистов.

Цель – изучение в эксперименте эффективности фармакологических доз селективного  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола в компенсации электрофизиологических нарушений скелетной мышцы смешанного типа, вызванных длительным введением дексаметазона.

## Методика

Все эксперименты выполнены в соответствии с директивой Европейского совета (The European Council Directive 86/609/ЕЕС) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [21]. Работа одобрена этическим комитетом университетом. Исследования проводились на 40 половозрелых крысах-самках 4-5-ти месячного возраста с исходной массой тела 180-210 г. Животные были случайным образом разделены на 4 группы: контрольную (интактная, не подвергались никаким воздействиям,  $n=10$ , К-группа), I опытную ( $n=10$ , на протяжении 30 сут получали дексаметазон (Д), 30Д-группа), II опытную ( $n=10$ , на протяжении 30 сут получали дексаметазон в комплексе с формотеролом (Ф), 30Д+Ф-группа) и III опытную ( $n=10$ , на протяжении 30 сут получали формотерол, 30Ф-группа). Дексаметазон («KRKA», Словения) вводили внутривенно 1 раз в 2 сут в дозе, адекватной терапевтической дозе, применяемой у человека, — 0,25 мг/кг. Формотерол (торговая марка «Форадил», «Novartis», Швейцария) вводили ежедневно (1,5 мкг/кг) подкожно.

Выбор в качестве объекта исследований особей женского пола связан с большей их чувствительностью, в сравнении с особями мужского пола, к катаболическому действию глюкокортикоидов [22]. Выбор передней большеберцовой мышцы (*m. tibialis anterior*) был предопределен тем, что она относится к смешанному типу с существенным преобладанием быстрых мышечных волокон, характеризующихся, в сравнении с медленными, более высокой чувствительностью к катаболическому действию глюкокортикоидов [5]. Выбор дексаметазона для инициации стероидной миопатии был обусловлен тем, что данный препарат широко используется в клинической практике в связи с гораздо более выраженным (в 30 раз) и длительным (в 4—7 раз) противовоспалительным эффектом в сравнении с естественными глюкокортикоидами [23].

По окончании месячного периода введения препаратов на наркотизированных животных (тиопентал натрия, 100 мг/кг, внутривенно) проводили острый опыт, в ходе которого изучали электрофизиологические параметры передней большеберцовой мышцы с помощью экспериментальной установки, включающей 2 канала: канал электростимулятора (использовался для электрического раздражения малоберцового нерва) и электромиографический канал (предназначался для регистрации М-ответов мышцы). Канал электростимулятора представлен собственно

электростимулятором (построен на основе функционального генератора ICL8038CCDP), оптронной гальванической развязкой и биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным расстоянием 1 мм. Электромиографический канал представлен отводящими биполярными игольчатыми стальными электродами (с межэлектродным расстоянием 1 мм) и электромиографическим биоусилителем (построен на основе измерительного усилителя INA118). Оба канала были связаны с регистрирующим устройством — запимающим цифровым осциллографом Tektronix (TDS2004C).

*Ход опыта.* У наркотизированного животного в области бедра препаровали малоберцовый нерв и на расстоянии 1 см проксимальнее коленного сустава подводили под него раздражающие электроды, в среднюю часть передней большеберцовой мышцы вводили отводящие игольчатые электроды.

Вначале регистрировали одиночный М-ответ мышцы, индуцированный путем раздражения малоберцового нерва одиночными сверхпороговыми электрическими импульсами (длительность — 150 мкс каждый, частота — 0,2 имп/с, сила тока — 500 мкА). На основании записей одиночных М-ответов мышцы определяли их латентный период, амплитуду и длительность, а также оценивали форму (двух-, трехфазные, поли- и псевдополифазные).

Затем путем плавного (в течение 4 с) увеличения силы электрического раздражения от подпороговой до сверхпороговой (от 0,01 до 2 В) при частоте 10 имп/с записывали серию из сорока М-ответов мышцы. На основании процентного изменения амплитуды максимального М-ответа относительно амплитуды минимального определяли приблизительное количество активизируемых двигательных единиц мышцы (методика V. Galea [24]).

После этого, раздражая малоберцовый нерв с частотой 4 имп/с сверхпороговыми электрическими импульсами (длительность — 150 мкс каждый, сила тока — 500 мкА), регистрировали в течение 5 с серию М-ответов мышцы. Для оценки надежности синаптической передачи на основании полученных записей отмечали изменение амплитуды 5-го или 10-го М-ответа относительно 1-го, принятого за 100%, [25].

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%.

На следующем этапе мышца выполняла утомляющую работу, которую моделировали путем вызванного тетанического ее сокращения с внешней нагрузкой в 70 г до тех пор, пока мышца почти полностью не расслаблялась (до уровня 10% от исходной величины) на фоне продолжающейся электрической стимуляции. Тетаническое сокращение мышцы индуцировали путем раздражения электрическим током малоберцового нерва с частотой 70 имп/с (длительность импульсов 0,5 мс и сила тока 1000 мкА). После выполнения мышцей утомляющей работы вновь регистрировали серию М-ответов при раздражении малоберцового нерва с частотой 0,2 имп/с, 4 имп/с, 30 имп/с, а также стимулами нарастающей амплитуды (от 0,01 до 2 В). На основании изменения параметров М-ответов мышцы судили об утомляемости нервно-мышечного аппарата у животных разных групп.

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

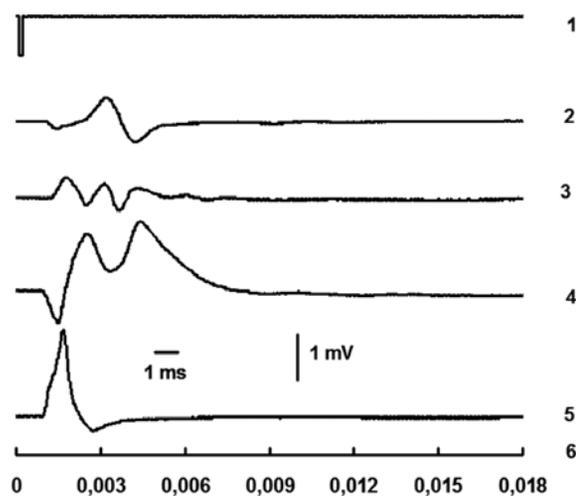
**Статистическая обработка.** Полученные экспериментальные данные обрабатывали с использованием *t*-критерия Стьюдента, предварительно убедившись в том, что распределение значений в исследуемых вариационных рядах близко к нормальному (*W*-тест Шапиро-Уилка, Statistica, 7.0), и *F*-статистики на основании проверки нулевой и альтернативной гипотез. Значения  $p < 0,05$  рассматривали как статистически значимые.

## Результаты и обсуждение

**Влияние дексаметазона, вводимого изолированно и в комплексе с формотеролом, на параметры М-ответа.** Длительное изолированное введение дексаметазона негативно отражалось на параметрах М-ответа скелетной мышцы (СМ). В частности, у животных 30Д-группы наблюдалось в сравнении с контролем (К-группа) удлинение латентного периода М-ответа (на 19%,  $p < 0,05$ ) и уменьшение его амплитуды (на 31%,  $p < 0,05$ ) на фоне неизменной длительности (табл. 1, образцы записей М-ответов СМ животных всех групп представлены на рис. 1). Эти изменения указывают на возможное замедление нервно-мышечной передачи, снижение возбудимости мышечных волокон (МВ) и десинхронизацию их возбуждения вследствие повышения гетерогенности, а также частичное выключение патологически измененных МВ из возбуждения. Кроме того, снижение амплитуды М-ответов на фоне неизменной длительности может быть следствием снижения мембранного потенциала МВ и дистрофических их изменений, сопровождающихся уменьшением их

диаметра. У 40% особей 30Д-группы регистрировались полифазные и псевдополифазные потенциалы уменьшенной амплитуды (табл. 1, рис. 1), что является еще одним свидетельством в пользу миопатических изменений в исследуемой мышце животных 30Д-группы [25]. Кроме того, в пользу миопатических изменений в СМ крыс 30Д-группы указывает хоть и не очень выраженное (на 9%), но статистически значимое в сравнении с К ( $p < 0,05$ ), уменьшение ее массы и существенное уменьшение среднего исходного количества активированных двигательных единиц (ДЕ) (на 43%,  $p < 0,05$  относительно контроля, табл. 2), которое может быть одной из причин снижения амплитуды М-ответов.

Учитывая результаты исследований других авторов, наблюдавших очаговые дистрофические изменения в СМ, особенно гликолитического типа, при длительном введении глюкокортикоидов (ГК) [5, 6], снижение возбудимости МВ [26], ослабление синаптической передачи за счет частичного блокирования ионных каналов холинорецепторов в постсинаптической мембране [27] или снижения их чувствительности к ацетилхолину [28], причинами удлинения латентного периода и уменьшения амплитуды М-ответа у крыс 30Д-группы могут служить определенные пато-



**Рис. 1.** Эффект дексаметазона, формотерола и их комбинации на параметры М-ответа передней большеберцовой мышцы белых крыс.

1 – отметка момента нанесения электрического стимула на малоберцовый нерв; 2 – М-ответ мышцы контрольного животного; 3 – М-ответ мышцы животного, получавшего дексаметазон; 4 – М-ответ мышцы животного, получавшего комбинацию дексаметазона с формотеролом; 5 – М-ответ мышцы животного, получавшего формотерол; 6 – шкала времени опыта, секунды.

логические изменения как на синаптическом уровне, так и в самих МВ.

Наряду с изменением исходных значений параметров М-ответа у крыс 30Д-группы наблюдалось более выраженное в сравнении с контролем их ухудшение после выполнения утомляющей работы (УР). Так, у животных 30Д-группы имело место не типичное для контрольных крыс статистически значимое удлинение латентного периода М-ответа (на 19% относительно исходного значения) и существенное в сравнении с контролем увеличение его длительности (на 93% отно-

сительно исходного значения) после выполнения УР (табл. 1). Кроме того, количество активируемых ДЕ мышцы крыс 30Д-группы после УР снижалось в существенно большей степени (на 34% относительно исходного уровня), чем в контроле (на 26%, табл. 2). Все эти признаки свидетельствуют в пользу более высокой утомляемости СМ крыс, подвергавшихся длительному введению синтетического ГК. Длительное изолированное применение формотерола в целом позитивно сказывалось на параметрах М-ответа СМ. Так, у животных 30Ф-группы наблюдалось не резко выраженное,

Таблица 1

**Средние значения (M±m) некоторых параметров М-ответа передней большеберцовой мышцы крыс контрольной группы (К) и животных, получавших на протяжении 30 сут дексаметазон (30Д) и формотерол (30Ф) изолированно и комплексно (30Д+Ф)**

Группа животных	Параметры М-ответа							
	Латентный период, мс		Амплитуда, мВ		Длительность, мс		% полифазных потенциалов	
	исходный	после УР	исходная	после УР	исходная	после УР	исходный	после УР
Контроль	1,20±0,05	1,30±0,06	2,60±0,22	1,70±0,25 (-36±8,4•)	5,50±0,51	7,60±0,62 (+39±3,9•)	0	0
30Д	1,50±0,06 [+19*]	1,90±0,12 (+34±6,8•) [+45*]	1,80±0,20 [-31*]	1,00±0,18 (-47±5,3•) [-43*]	5,70±0,65	11,0±0,12 (+93±1,21•) [+45*]	40	50
30Ф	1,00±0,03	1,10±0,04 [-17*]	5,10±0,38 [+95*]	4,10±0,50 [+144*]	6,50±0,53	7,60±0,54	0	0
30Д+Ф	1,20±0,07	1,40±0,07 (+22±4,7•) -27 <sup>x</sup>	5,60±0,86 [+115*], +213 <sup>x</sup>	5,20±0,98 [+214*], +451 <sup>x</sup>	6,80±0,79	8,40±0,92	50	50

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

Таблица 2

**Средние значения (M±m) массы передней большеберцовой мышцы и количества активируемых двигательных единиц у контрольных животных и крыс, получавших на протяжении 30 сут дексаметазон (30Д) и формотерол (30Ф) изолированно и комплексно (30Д+Ф)**

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

**Примечание.** \* – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %,  $p < 0,05$ ); <sup>x</sup> – указана статистически значимая разница показателя животных группы 30Д+Ф относительно соответствующего значения группы 30Д (в %,  $p < 0,05$ ); • – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя относительно исходного значения соответствующей группы (в %,  $p < 0,05$ ). Количество активируемых двигательных единиц определяли по методике V. Galea [24].

но значимое относительно контроля, укорочение латентного периода М-ответа (на 18%) и существенное увеличение его амплитуды (на 82%) на фоне неизменной длительности (табл. 1).

Отмеченные изменения могут быть связаны с облегчением и ускорением синаптической передачи, повышением возбудимости МВ и, возможно, некоторой их гипертрофией, а также увеличением степени синхронизации возбуждения в СМ [25, 29]. В литературе имеются сведения относительно способности адреналина активировать  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насос в мембране МВ [30], что обуславливает некоторое повышение трансмембранного градиента для калия, гиперполяризацию мембран МВ и, как следствие, генерацию ими более высокоамплитудных потенциалов действия, что должно позитивно отражаться на общей амплитуде М-ответов СМ [29]. Кроме того, некоторыми исследователями получены факты в пользу способности катехоламинов (КА) увеличивать амплитуду токов концевой пластинки и степень их синхронизации [31], на пресинаптическом уровне повышать эффективность  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемого экзоцитоза медиатора [32], в том числе, путем цАМФ-зависимой активации электровозбудимых  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов [33], увеличивать синхронность секреции ацетилхолина [34], снижать АТФ-опосредованную степень депрессии синаптической передачи [35]. Все это предопределяет облегчение синаптической передачи, рост амплитуды потенциалов концевой пластинки и, как следствие, улучшение параметров М-ответа СМ.

Наконец, еще одной возможной причиной увеличения амплитуды М-ответа СМ животных 30Ф-группы могла служить некоторая гипертрофия МВ, в пользу которой косвенно указывает значимое относительно контроля увеличение массы СМ (на 13%) и тенденция к увеличению количества активируемых ДЕ СМ (табл. 2). Способность  $\beta_2$ -адреноагониста ( $\beta_2$ -АА), и, в частности, кленбутерола, вызвать гипертрофию СМ [12], причем оказывать более выраженный анаболический эффект на МВ гликолитического типа была установлена в исследованиях других авторов [8].

Наряду с позитивным влиянием на исходные параметры М-ответа, длительное введение Ф снижало степень их ухудшения после выполнения УР в сравнении с контролем. Так, у крыс 30Ф-группы амплитуда и длительность М-ответов после выполнения УР значимо не изменялись относительно исходного уровня, тогда как у контрольных крыс они претерпевали изменения — амплитуда статистически значимо снижалась (на 36%), а длительность увеличивалась (на 39%, табл. 1). Аналогично параметрам М-ответа количество активируемых ДЕ мышцы крыс 30Ф-группы значимо не

изменялось после УР относительно исходного уровня, тогда как у К-группы оно существенно снижалось (на 26%, табл. 2). Все это указывает в пользу более высокой устойчивости СМ животных, подвергавшихся длительной адренергической стимуляции, к утомлению, что отчасти может быть обусловлено способностью КА улучшать энергообмен как в организме в целом, так и в МВ в частности [36, 37], в том числе путем увеличения мощности митохондриального окисления [18]. Кроме того, в исследовании [38] обнаружена способность адреномиметиков оказывать синхронизирующий эффект на секрецию медиатора и, как следствие, приводить к повышению амплитуды постсинаптического ответа, сниженной в результате длительного низкочастотного непрямого раздражения двигательного нерва, что служит одним из доказательств способности КА повышать устойчивость нервно-мышечного аппарата к утомлению.

Формотерол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, несколько сглаживал негативные влияния синтетического ГК как на исходные параметры М-ответа СМ, так и на выраженность их изменений после выполнения УР. Так, в случае комплексного применения Д с Ф не наблюдалось типичного для 30Д-группы удлинения латентного периода исходных М-ответов, а их амплитуда не только не уменьшалась относительно К-группы, а даже увеличивалась (на 115%), что было отмечено и в случае длительного изолированного применения Ф (табл. 1). Вместе с тем, у 50% крыс 30Д+Ф-группы регистрировались полифазные и псевдополифазные М-ответы, но в отличие от таковых крыс 30Д-группы они были не сниженной, а увеличенной амплитуды. Данное обстоятельство указывает в пользу того, что эти полифазные М-ответы у животных 30Д+Ф-группы не являются признаком миопатических изменений в СМ, а их появление возможно связано с некоторой десинхронизацией возбуждения различных групп ДЕ СМ. Кроме того, масса СМ и количество активируемых ее ДЕ у крыс 30Д+Ф-группы значимо не отличались от К-группы, тогда как у животных 30Д-группы эти параметры были снижены (табл. 2). Эти факты, наряду с повышенной амплитудой М-ответа, косвенно свидетельствуют в пользу отсутствия выраженных дистрофических изменений СМ животных 30Д+Ф-группы, реализующейся, очевидно, благодаря установленной в исследованиях других авторов способности  $\beta_2$ -АА стимулировать анаболические процессы в МВ [12, 13] и защищать их от дистрофических изменений различного генеза [15–17].

Наряду с улучшением параметров исходных М-ответов СМ под влиянием комплексного применения Д с Ф,  $\beta_2$ -АА частично предотвратил типичное для

Д-группы более выраженное в сравнении с контролем ухудшение этих параметров после утомляющей работы. Так, в случае комплексного применения Д с Ф амплитуда и длительность М-ответов, а также количество активируемых ДЕ СМ после выполнения УР значительно не изменялись относительно исходного уровня, что было характерно и для 30Ф-группы (табл. 1, 2).

Вместе с тем, у крыс 30Д+Ф-группы сохранялось статистически значимое удлинение латентного периода М-ответов после выполнения УР относительно исходного уровня (на 22%), не типичное для К-группы и имевшее место при изолированном введении Д (табл. 1). Наблюдаемое нами удлинение латентного периода М-ответа после выполнения УР у животных 30Д- и 30Д+Ф-групп, не типичное для контрольных крыс, мышца которых выполняла такую же работу, косвенно указывает в пользу сниженной надежности синаптической передачи.

*Влияние дексаметазона, вводимого изолированно и в комплексе с формотеролом, на надежность синаптической передачи.* В связи с выявлением косвенных признаков сниженной надежности синаптической передачи у животных 30Д- и 30Д+Ф-групп на следующем этапе нашей работы мы сочли необходимым оценить эту надежность с помощью методики Б.М. Гехта [25], предполагающей определение декремента амплитуды

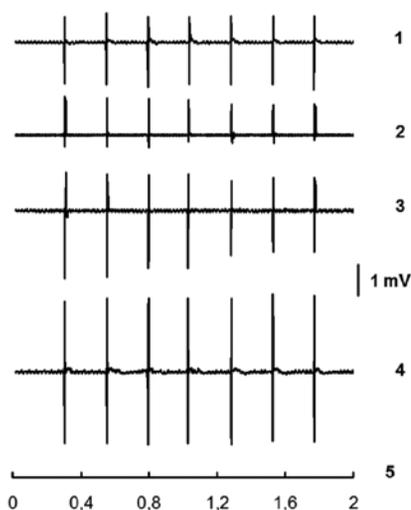
5-го М-ответа относительно 1-го при низкой частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата (4 имп/с). Именно при такой частоте и соответственно интервалами между электрическими стимулами в 300 мс, согласно Б.М. Гехту, дефицит медиатора в пресинаптическом полюсе, нарушение его ресинтеза или кальций-зависимого экзоцитоза проявляются в снижении амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го более чем на 10%.

Анализ полученных данных показал, что у животных 30Д-группы патологически значимый декремент амплитуды М-ответов наблюдался у большинства особей группы: 70% до выполнения УР и 80% после ее выполнения (табл. 3). Средний по группе декремент амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го у крыс 30Д-группы превышал 10% и статистически значимо превосходил значение контроля (табл. 3). Образцы записей серии М-ответов СМ животных разных групп при частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата 4 имп/с приведены на рис. 2.

Уменьшение надежности нервно-мышечной передачи при длительном введении ГК наблюдалось и в более ранних исследованиях, проведенных в нашей лаборатории [39]. В основе отмеченного явления могут лежать различные механизмы: уменьшение под влиянием фармакологических доз ГК амплитуды потенциалов концевой пластинки [11], блокада каналов холинорецепторов [27] и другие.

Мнения других специалистов относительно надежности нервно-мышечной передачи при гиперкортицизме противоречивы. Так, некоторые авторы [40] отмечают ее повышение под действием ГК, обусловленное усилением ресинтеза ацетилхолина в пресинаптических окончаниях мотонейронов вследствие усиления обратного захвата медиатора. Другие исследователи [11, 27], напротив, указывают на снижение надежности функционирования синапсов под действием высоких доз ГК, одним из проявлений которого служит наблюдаемое ими уменьшение амплитуды потенциалов концевой пластинки. По всей видимости, конечный эффект ГК на состояние синаптической передачи зависит не только от их дозы, но и длительности введения в организм.

Введение Ф в комплексе с Д несколько уменьшило частоту случаев патологически значимого декремента амплитуды М-ответов при низкой частоте стимуляции малоберцового нерва (до 30%, табл. 3). Кроме того, средний по 30Д+Ф-группе декремент амплитуды М-ответов не достигал патологически значимого уровня – 10% – и не отличался от значения контроля (табл. 3).



**Рис. 2.** Образцы записей серии М-ответов передней большеберцовой мышцы животных разных групп при частоте раздражения малоберцового нерва 4 имп/с.

1 – серия М-ответов мышцы контрольного животного; 2 – серия М-ответов мышцы животного, получавшего дексаметазон; 3 – серия М-ответов мышцы животного, получавшего комбинацию дексаметазона с формотеролом; 4 – серия М-ответов мышцы животного, получавшего формотерол; 5 – шкала времени опыта, с.

Таким образом, применение  $\Phi$  в комплексе с  $\Delta$  обусловило уменьшение частоты случаев патологически значимого декремента амплитуды М-ответов в сравнении с изолированным применением  $\Delta$ , но не предотвращало полностью их появление. Очевидно,  $\beta_2$ -АА (формотерол), улучшая состояние синаптической передачи путем увеличения синхронизации выброса медиатора [31] или возбудимости и степени синхронизации возбуждения в МВ [29], а также возможно интенсивности синтеза медиатора в пресинаптических структурах [41], несколько ослаблял снижение надежности нервно-мышечной передачи, вызванное длительным введением дексаметазона.

*Влияние дексаметазона, вводимого изолированно и в комплексе с формотеролом, на степень облегчения и депрессии синаптической передачи при оптимальной частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата (30 имп/с).* С целью более детального исследования состояния синаптической передачи на следующем этапе был проведен анализ характера изменения амплитуды М-ответов в динамике стимуляции нервно-мышечного аппарата с оптимальной частотой – 30 имп/с. Согласно мнению ряда авторов [25, 29], выраженное увеличение амплитуды М-ответов (более чем на 30% относительно 1-го) на фоне сниженной амплитуды 1-го М-ответа указывает в пользу заблокированности синапсов, обусловленной пресинаптическими нарушениями – дефицитом медиатора в пресинаптическом полюсе или нарушением его кальцийзависимого экзоцитоза. Выявленное снижение амплитуды М-ответов (более чем на 25% относительно амплитуды 1-го) при оптимальной частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата указывает в пользу возможных постсинаптических нарушений – блокады ионных каналов холинорецепторов или понижения их плотности или чувствительности к ацетилхолину.

Анализ изменения амплитуды М-ответов в динамике стимуляции нервно-мышечного аппарата с оптимальной частотой у крыс 30Д-группы показал, что амплитуда 1-го М-ответа в серии была значимо ниже (на 31%) уровня контроля, у 50% особей наблюдалось значимое облегчение синаптической передачи, и средняя по группе степень этого облегчения существенно превосходила 30% и соответствующее значение уровня контрольной группы (табл. 4). Патологически значимая депрессия синаптической передачи в 30Д-группе встречалась реже облегчения – у 30% особей, и средняя по группе степень этой депрессии, хоть и превосходила статистически значимо уровень контроля, но не превышала 25% (табл. 4).

Отмеченные нами у части животных 30Д-группы патологически значимое облегчение и депрессия синаптической передачи на фоне сниженной амплитуды 1-го М-ответа при оптимальной частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата были обнаружены и в более ранних наших исследованиях [10] и, по всей видимости, отражают заблокированность синапсов и возможные постсинаптические изменения. В пользу возможных синаптических нарушений при длительном введении ГК в организм указывают результаты исследований авторов, наблюдавших признаки частичного блокирования ионных каналов холинорецепторов в постсинаптической мембране [27] или снижения их чувствительности к ацетилхолину [28].

Введение  $\Phi$  в комплексе с  $\Delta$  не только предотвратило уменьшение амплитуды 1-го М-ответа в серии при стимуляции малоберцового нерва с частотой 30 имп/с, типичное для животных 30Д-группы, но даже обусловило ее существенное увеличение (на 120%

Таблица 3

**Средние значения декремента амплитуды М-ответа в мышце контрольных животных (К) и крыс, получавших на протяжении 30 сут дексаметазон (30Д) и формотерол (30Ф) изолированно и комплексно (30Д+Ф), (M±m)**

Группа животных	Значения до утомляющей работы		Значения после утомляющей работы	
	Декремент амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го, %	Процентное количество особей в группе с декрементом амплитуды М-ответов более 10%	Декремент амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го, %	Процентное количество особей в группе с декрементом амплитуды М-ответов более 10%
К	2,4±1,14	0	1,9±0,99	0
30Д	-19,5±4,02°	70	-23,8±4,09°	80
30Ф	13,3±5,62	0	15,3±6,57	0
30Д+Ф	0,3±6,12	30	3,9±2,82	30

*Примечание.* ° – разница декремента амплитуды М-ответа относительно такового контроля статистически значима ( $p < 0,05$ ); декремент амплитуды М-ответа передней большеберцовой мышцы определяли на основании снижения амплитуды 5-го М-ответа относительно 1-го (в %) при вызванной ритмической активности мышцы с частотой 4 имп/с [25].

относительно контроля (табл. 4). В то же время у 50% особей 30Д+Ф-группы наблюдалось существенное облегчение синаптической передачи (превышающее 30% от амплитуды 1-го М-ответа), хотя средняя по группе степень этого облегчения значимо не отличалась от К-группы (табл. 4). В связи с тем, что существенное облегчение синаптической передачи у животных 30Д+Ф-групп имело место на фоне не только не сниженной, напротив даже повышенной относительно К-группы амплитуды 1-го М-ответа, его нельзя рассматривать как следствие исходной заблокированности синапсов. Вероятнее всего, оно обусловлено облегчением кальцийзависимого экзоцитоза медиатора в условиях ритмической активности нервно-мышечного аппарата под действием Ф и по этой же возможной причине наблюдалось и у 10% особей 30Ф-группы (табл. 4). Наиболее вероятной причиной облегчения синаптической передачи у части особей, длительно получавших Ф, является способность  $\beta_2$ -АА потенцировать кальцийзависимый экзоцитоз медиатора в синаптическую щель вследствие цАМФзависимой активации электровозбудимых кальциевых каналов в пресинаптической мембране и обусловленного этим увеличения входа кальция в пресинапс [32–34].

Ф, вводимый в комплексе с Д, предотвратил появление случаев патологически значимой депрессии синаптической передачи у животных 30Д+Ф-группы, тогда как у крыс 30Д-группы они регистрировались у

30% особей (табл. 4). Данный факт указывает в пользу отсутствия выраженных постсинаптических нарушений в СМ животных 30Д+Ф-группы.

Таким образом, введение Ф в комплексе с Д предотвратило ухудшение исходных параметров М-ответов мышцы и более выраженное в сравнении с контролем их нарушение после УР, типичные для 30Д-группы. Вместе с тем, у животных 30Д+Ф-группы наблюдалось удлинение латентного периода М-ответов после выполнения УР, типичное для 30Д-группы и не характерное для контроля, а у 30% особей 30Д+Ф-группы – патологически значимый декремент амплитуды М-ответов при низкой частоте стимуляции нервно-мышечного аппарата (4 имп/с). Эти факты свидетельствуют в пользу меньшей надежности работы синапсов как в 30Д-, так и в 30Д+Ф-группах.

Таким образом, полученные в модельных экспериментах на белых крысах данные указывают на высокую эффективность  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола в предотвращении электрофизиологических нарушений в мышце, вызванных длительным введением дексаметазона и отражающих миопатические изменения. Вместе с тем, формотерол, вводимый в комплексе с дексаметазоном, на фоне снижения частоты фиксации случаев низкой надежности синаптической передачи (до 30% против 70% в группе животных, получавших дексаметазон изолированно), в полной мере не предотвращал проявление данного эффекта стероидной миопатии.

Таблица 4

Средние значения (M±m) степени облегчения и депрессии синаптической передачи в мышце контрольных животных (К) и крыс, получавших на протяжении 30 сут дексаметазон (30Д) и формотерол (30Ф) изолированно и комплексно (30Д+Ф)

Группа животных	Амплитуда 1-го М-ответа, мВ	Степень облегчения (в % относительно 1-го М-ответа)	Процентное количество особей в группе с облегчением более 30%	Степень депрессии (в % относительно 1-го М-ответа)	Процентное количество особей в группе с депрессией более 25%
К	2,4±0,21	11,1±2,86	0	-5,7±2,58	0
30Д	1,7±0,21 [-31*]	37,8±8,91°	50	-19,5±5,34°	30
30Ф	4,9±0,48 [+102*]	18,2±7,46	10	-7,7±3,66	0
30Д+Ф	5,3±1,08 [+120*], +220 <sup>x</sup>	42,5±18,17	50	-6,0±2,99	0

**Примечание.** \* – в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %, p<0,05); <sup>x</sup> – указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения опытной группы, получившей такое же количество инъекций дексаметазона, не сочетаемых с введением формотерола (в %, p<0,05); ° – разница степени облегчения или депрессии синаптической передачи относительно таковой контроля статистически значима (p<0,05); степень облегчения синаптической передачи оценивалась на основании максимально возможного прироста (в %) амплитуды М-ответов относительно 1-го при ритмической стимуляции нервно-мышечного аппарата с частотой 30 имп/с [25], степень депрессии синаптической передачи оценивалась на основании максимально возможного снижения (в %) амплитуды М-ответов относительно 1-го при ритмической стимуляции нервно-мышечного аппарата с частотой 30 имп/с [25].

## Литература

1. Комердус И.В., Будул Н.А., Чеканова А.В. Системное действие глюкокортикоидных препаратов: в помощь врачу общей практики (обзор литературы). *Российский медицинский журнал*. 2017; 1: 45-8.
2. Полунина А.Г., Исаев Ф.В., Демьянова М.А. Стероидная миопатия. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2012; 112 (10-2): 60-4.
3. Труш В.В., Соболев В.И. Модулирующее влияние адреналина на развитие стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением гидрокортизона. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61 (4): 104-11.
4. Umeki D., Ohnuki Y., Mototani Y., Shiozawa K., Suita K., Fujita T., Nakamura Y., Saeki Y., Okumura S. Protective Effects of Clenbuterol against Dexamethasone-Induced Masseter Muscle Atrophy and Myosin Heavy Chain Transition. *PLoS One*. 2015; 10(6): e0128263. doi: 10.1371/journal.pone.0128263.
5. Schakman O., Gilson H., Thissen J.P. Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy. *J. Endocrinology*. 2008; 197: 1-10. doi: 10.1677/JOE-07-0606.
6. Riso E.M., Ahtikoski A., Alev K., Kaasik P., Pehme A., Seene T. Relationship between extracellular matrix, contractile apparatus, muscle mass and strength in case of glucocorticoid myopathy. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 2008; 108: 117-20. doi: 10.1016/j.jsbmb.2007.06.002.
7. Камалиев Р.Р., Гришин С.Н., Фалу Ж.Ю., Зиганшин А.У. Воздействие гидрокортизона, АТФ и аденозина на скелетную мышцу крысы. *Казанский медицинский журнал*. 2009; 90(4): 556-9.
8. Ohnuki Y., Umeki D., Mototani Y., Shiozawa K., Nariyama M., Ito A. et al. Role of phosphodiesterase 4 expression in the Epac1 signaling-dependent skeletal muscle hypertrophic action of clenbuterol. *Physiol Rep*. 2016; 4(10): pii: e12791. doi: 10.14814/phy2.12791.
9. Khan M.M., Lustrino D., Silveira W.A. et al. Sympathetic innervation controls homeostasis of neuromuscular junctions in health and disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2016; 113(3): 746-50.
10. Труш В.В., Соболев В.И. Амплитудно-частотная зависимость М-ответа скелетной мышцы крыс с экспериментальным гиперкортицизмом. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2015; 101 (7): 829-42.
11. Гришин С.Н., Габдрахманов А.И., Хайруллин А.Е., Зиганшин А.У. Влияние глюкокортикоидов и катехоламинов на нервно-мышечную передачу. *Биологические мембраны*. 2017; 34(4): 251-60. doi: 10.1134/s1990747817040043.
12. Brown D.M., Jones S., Daniel Z.C.T.R., Brearley M.C., Lewis J.E., Ebling F.J.P., Parr T., Brameld J.M. Effect of sodium 4-phenylbutyrate on Clenbuterol-mediated muscle growth. *PLoS One*. 2018; 13(7): e0201481. doi: 10.1371/journal.pone.0201481.
13. Shimamoto S., Ijiri D., Kawaguchi M., Nakashima K., Tada O., Inoue H., Ohtsuka A.  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2-adrenergic receptor stimulation differ in their effects on PGC-1 $\alpha$  and atrogen-1/MAFbx gene expression in chick skeletal muscle. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2017; 211 (Sep): 1-6. doi: 10.1016/j.cbpa.2017.05.013.
14. Woodall B.P., Woodall M.C., Luongo T.S., Grisanti L.A., Tilley D.G., Elrod J.W., Koch W.J. Skeletal Muscle-specific G Protein-coupled Receptor Kinase 2 Ablation Alters Isolated Skeletal Muscle Mechanics and Enhances Clenbuterol-stimulated Hypertrophy. *J. Biol. Chem*. 2016; 291(42): 21913-24. doi: 10.1074/jbc.m116.721282.
15. Koeberl D.D., Case L.E., Smith E.C., Walters C., Han S.O., Li Y., et al. Correction of Biochemical Abnormalities and Improved Muscle Function in a Phase I/II Clinical Trial of Clenbuterol in Pompe Disease. *Mol. Ther.* 2018; Jul 5. pii: S1525-0016(18)30309-5. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.06.023.
16. Milioto C., Malena A., Maino E., Polanco M.J., Marchioretto C., Borgia D., et al. Beta-agonist stimulation ameliorates the phenotype of spinal and bulbar muscular atrophy mice and patient-derived myotubes. *Sci. Rep.* 2017; 24 (7): 41046. doi: 10.1038/srep41046.
17. Dutt V., Gupta S., Dabur R., Injeti E., Mittal A. Skeletal muscle atrophy: Potential therapeutic agents and their mechanisms of action. *Pharmacol Res.* 2015; 99 (Sep): 86-100. doi: 10.1016/j.phrs.2015.05.010.
18. Cameron R.B., Beeson C.C., Schnellmann R.G. Structural and pharmacological basis for the induction of mitochondrial biogenesis by formoterol but not clenbuterol. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 10578. doi: 10.1038/s41598-017-11030-5.
19. Лепухова О.А. Эффективность применения в терапии бронхиальной астмы комбинированных ингаляционных глюкокортикостероидов. *Вестник новых медицинских технологий*. 2014; 1. Электронный журнал. doi: 10.12737/5482.
20. Вознесенский Н.А. Формотерол (Форадил) в лечении бронхиальной астмы. *Лечебное дело*. 2006; 4: 52-6.
21. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А.Н. Миронова, Н.Д. Бунатян, ред. Москва: Минздрав РФ, ЗАО «Гриф и К»; 2012.
22. Kim J.H., Kwak M.K., Ahn S.H., Kim H., Cho Y.Y., Suh S., Kim B.J., Song K.H., Lee S.H., Koh J.M. Alteration in skeletal muscle mass in women with subclinical hypercortisolism. *Endocrine*. 2018; 61(1): 134-43. doi: 10.1007/s12020-018-1598-0.
23. Борисова Е.О. Клиническая фармакология парентеральных форм глюкокортикоидов. *Лечебное дело*. 2007; 3: 17-24.
24. Galea V., De Bruin H., Cavasin R., McComas A.J. The number and relative size of motor units estimated by computer. *Muscle and Nerve*. 1991; 14: 1123-30. doi: 10.1002/mus.880141114.
25. Гехт Б.М. *Теоретическая и клиническая электромиография*. Л.; Наука, Ленинградское отделение; 1990.
26. 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*. 2010; 95: 1663-71. doi: 10.1210/jc.2009-2161.
27. Bouzat C., Barrantes F.J. Assigning function to residues in the acetylcholine receptor channel region. *Molecular Membrane Biology*. 1997; 14: 167-77. doi: 10.3109/09687689709048179.
28. Dodt C., Keyser B., Molle M. Acute suppression of muscle sympathetic nerve activity by hydrocortisone in humans. *Hypertension*. 2000; 3: 758-63. doi: 10.1161/01.hyp.35.3.758.
29. MacIntosh B., Gardiner Ph., McComas A.J. *Skeletal muscle. Form and function*. 2th ed. Champaign: Human Kinetics; 1998.
30. Gloor S.M. Relevance of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase to local extracellular potassium homeostasis and modulation of synaptic transmission. *FEBS Lett*. 1997; 412: 1-4. doi: 10.1016/s0014-5793(97)00774-6.
31. Бухараева Э.А., Гайнулов Р.Х., Никольский Е.Е. Влияние норадреналина на амплитудно-временные характеристики многоквантовых токов концевой пластинки и кинетику вызванной секреции квантов медиатора. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2001; 87(4): 468-75.
32. Grishin S.N., Ziganshin A.U. *Synaptic organization of tonic motor units in vertebrates. Biochemistry (Moscow)*. Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology. 2015; 9(1): 13-20. doi: 10.1134/s1990747814060014.

33. Tavi P., Laine M., Weckstrom M., Ruscoabo H. Cardiac mechano-transduction: From sensing to disease and treatment. *Trends Pharm. Sci.* 2001; 22: 254-60. doi: 10.1016/s0165-6147(00)01679-5.
34. Bukharaeva E., Samigullin D., Nikolsky E., Vyskocil F. Protein kinase A cascade regulates quantal release dispersion at frog muscle endplate. *J. Physiol.* 2002; 538(Pt 3): 837-48. doi: 10.1113/jphysiol.2001.012752.
35. Gabdrakhmanov A.I., Khairullin A.E., Grishin S.N., Ziganshin A.U. ATP-induced changes in rat skeletal muscle contractility. *Int. J. Risk Saf. Med.* 2015; 27 (Suppl. 1): S82-3. doi: 10.3233/JRS-150700.
36. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Катехоламины: биохимия, фармакология, физиология, клиника. *Вопросы медицинской химии.* 2002; 48(1): 45-67.
37. Watt M.J., Stellingwerff T., Heigenhauser G.J.F., Spriet L.L. Effects of plasma adrenaline on hormone-sensitive lipase at rest and during moderate exercise in human skeletal muscle. *J. Physiol.* 2003; 550(1): 325-32. doi: 10.1113/jphysiol.2003.043133.
38. Бухараева Э.А., Ким К.Х., Никольский Е.Е., Выскочил Ф. Синхронизация вызванной секреции квантов медиатора как механизм облегчающего действия симпатомиметиков. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 1998; 84 (10): 1121-31.
39. Соболев В.И., Труш В.В. Влияние тироксина на проявление эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы белых крыс. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2013; 99(9): 1067-76.
40. Гиниатуллин А.Р., Гришин С.Н., Гиниатуллин Р.А. Влияние гидрокортизона на модулирующие эффекты пуринов в нервно-мышечном соединении. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2000; 86(10): 1293-9.
41. Nakamura Y., Nagase I., Asano A. Beta-2-adrenergic agonists up-regulates uncoupling proteins 2 and 3 in skeletal muscle of the mouse. *J. Vet. Med. Sci.* 2001; 63(3): 309-14. doi: 10.1292/jvms.63.309.
7. Kamaliev R.R., Grishin S.N., Falou Zh.Yu., Ziganshin A.U. The effect of hydrocortisone, ATP and adenosine on rat skeletal muscle contraction. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2009; 90(4): 556-9. (In Russian)
8. Ohnuki Y., Umeki D., Mototani Y., Shiozawa K., Nariyama M., Ito A., et al. Role of phosphodiesterase 4 expression in the Epac1 signaling-dependent skeletal muscle hypertrophic action of clenbuterol. *Physiol Rep.* 2016; 4(10): pii: e12791. doi: 10.14814/phy2.12791.
9. Khan M.M., Lustrino D., Silveira W.A. et al. Sympathetic innervation controls homeostasis of neuromuscular junctions in health and disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016; 113(3): 746-50.
10. Trush V.V., Sobolev V.I. Amplitude-frequency's dependence of M-response of the skeletal muscle of rats with experimental hypercorticism. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenov.* 2015; 101(7): 829-42. (In Russian)
11. Grishin S.N., Gabdrakhmanov A.I., Khairullin A.E., Ziganshin A.U. The Influence of Glucocorticoids and Catecholamines on the Neuromuscular Transmission. *Biologicheskii Membrany.* 2017; 34(4): 251-60. doi: 10.1134/s1990747817040043. (In Russian)
12. Brown D.M., Jones S., Daniel Z.C.T.R., Brearley M.C., Lewis J.E., Ebling F.J.P., Parr T., Brameld J.M. Effect of sodium 4-phenylbutyrate on Clenbuterol-mediated muscle growth. *PLoS One.* 2018; 13(7): e0201481. doi: 10.1371/journal.pone.0201481.
13. Shimamoto S., Ijiri D., Kawaguchi M., Nakashima K., Tada O., Inoue H., Ohtsuka A.  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2-adrenergic receptor stimulation differ in their effects on PGC-1 $\alpha$  and atrogin-1/MAFbx gene expression in chick skeletal muscle. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 2017; 211 (Sep): 1-6. doi: 10.1016/j.cbpa.2017.05.013.
14. Woodall B.P., Woodall M.C., Luongo T.S., Grisanti L.A., Tilley D.G., Elrod J.W., Koch W.J. Skeletal Muscle-specific G Protein-coupled Receptor Kinase 2 Ablation Alters Isolated Skeletal Muscle Mechanics and Enhances Clenbuterol-stimulated Hypertrophy. *J. Biol. Chem.* 2016; 291(42): 21913-24. doi: 10.1074/jbc.m116.721282.
15. Koeberl D.D., Case L.E., Smith E.C., Walters C., Han S.O., Li Y., et al. Correction of Biochemical Abnormalities and Improved Muscle Function in a Phase I/II Clinical Trial of Clenbuterol in Pompe Disease. *Mol. Ther.* 2018; Jul 5. pii: S1525-0016(18)30309-5. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.06.023.
16. Milioto C., Malena A., Maino E., Polanco M.J., Marchioretto C., Borgia D., et al. Beta-agonist stimulation ameliorates the phenotype of spinal and bulbar muscular atrophy mice and patient-derived myotubes. *Sci. Rep.* 2017; 24(7): 41046. doi: 10.1038/srep41046.
17. Dutt V., Gupta S., Dabur R., Injeti E., Mittal A. Skeletal muscle atrophy: Potential therapeutic agents and their mechanisms of action. *Pharmacol Res.* 2015; 99 (Sep): 86-100. doi: 10.1016/j.phrs.2015.05.010.
18. Cameron R.B., Beeson C.C., Schnellmann R.G. Structural and pharmacological basis for the induction of mitochondrial biogenesis by formoterol but not clenbuterol. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 10578. doi: 10.1038/s41598-017-11030-5.
19. Lepukhova O.A. The effectiveness use of the combined inhalation glucocorticosteroids in the therapy of bronchial asthma. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy.* 2014; 1: online journal. doi: 10.12737/5482. (In Russian)
20. Voznesenskiy N.A. Formoterolum (Foradil) in treatment of bronchial asthma. *Lechebnoe delo.* 2006; 4: 52-6. (In Russian)
21. *Guidelines for pre-clinical trials of medicines [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv].* A.N. Mironova, N.D. Bunatyan, ed. Moscow; Minzdrav RF, ZAO «Grif i K»; 2012. (In Russian)
22. Kim J.H., Kwak M.K., Ahn S.H., Kim H., Cho Y.Y., Suh S., Kim B.J., Song K.H., Lee S.H., Koh J.M. Alteration in skeletal muscle mass

## References

1. Komerdu I.V., Budul N.A., Chekanova A.V. Systemic effects of glucocorticoid drugs: a guide for the General practitioner (literature review). *RMJ.* 2017; 1: 45-8. (In Russian)
2. Polunina A.G., Isaev F.V., Dem'ianova M.A. Steroid myopathy. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova.* 2012; 112(10-2): 60-4. (In Russian)
3. Trush V.V., Sobolev V.I. The modulating influence of adrenaline on the development of the steroid myopathy induced by long application of hydrocortisone at white rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal).* 2017; 61(3): 104-11. (In Russian)
4. Umeki D., Ohnuki Y., Mototani Y., Shiozawa K., Suita K., Fujita T., Nakamura Y., Saeki Y., Okumura S. Protective Effects of Clenbuterol against Dexamethasone-Induced Masseter Muscle Atrophy and Myosin Heavy Chain Transition. *PLoS One.* 2015; 10(6): e0128263. doi: 10.1371/journal.pone.0128263.
5. Schakman O., Gilson H., Thissen J.P. Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy. *J. Endocrinology.* 2008; 197: 1-10. doi: 10.1677/JOE-07-0606.
6. Riso E.M., Ahtikoski A., Alev K., Kaasik P., Pehme A., Seene T. Relationship between extracellular matrix, contractile apparatus, muscle mass and strength in case of glucocorticoid myopathy. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology.* 2008; 108: 117-20. doi: 10.1016/j.jsbmb.2007.06.002.

- in women with subclinical hypercortisolism. *Endocrine*. 2018; 61(1): 134-143. doi: 10.1007/s12020-018-1598-0.
23. Borisova E.O. Clinical pharmacology of parenteral forms of glucocorticoids. *Lechebnoe delo*. 2007; 3: 17-24. (In Russian)
  24. Galea V., De Bruin H., Cavasin R., McComas A.J. The number and relative size of motor units estimated by computer. *Muscle and Nerve*. 1991; 14: 1123-30. doi: 10.1002/mus.880141114.
  25. Geht B.M. *Theoretical and clinical electromyography [Teoreticheskaya i klinicheskaya elektromiografiya]*. Leningrad; Nauka; 1990. (In Russian)
  26. 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*. 2010; 95: 1663-71. doi: 10.1210/jc.2009-2161.
  27. Bouzat C., Barrantes F.J. Assigning function to residues in the acetylcholine receptor channel region. *Molecular Membrane Biology*. 1997; 14: 167-77. doi: 10.3109/09687689709048179.
  28. Dodt C., Keyser B., Molle M. Acute suppression of muscle sympathetic nerve activity by hydrocortisone in humans. *Hypertension*. 2000; 3: 758-63. doi: 10.1161/01.hyp.35.3.758.
  29. MacIntosh B., Gardiner Ph., McComas A.J. *Skeletal muscle. Form and function*. 2th ed. Champaign: Human Kinetics; 1998.
  30. Gloor S.M. Relevance of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase to local extracellular potassium homeostasis and modulation of synaptic transmission. *FEBS Lett*. 1997; 412: 1-4. doi: 10.1016/s0014-5793(97)00774-6.
  31. Buharaeva Eh.A., Gajnulov R.H., Nikol'skij E.E. Influence of noradrenaline on amplitude-time characteristics of multiquantum currents of the trailer device and kinetics of the caused secretion of quanta of mediator. *Rossiyskiy fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenov*. 2001; 7(4): 468-75. (In Russian)
  32. Grishin S.N., Ziganshin A.U. Synaptic organization of tonic motor units in vertebrates. *Biochemistry (Moscow)*. Suppl. Ser. A: *Membrane and Cell Biology*. 2015; 9(1): 13-20. doi: 10.1134/s1990747814060014.
  33. Tavi P., Laine M., Weckstrom M., Ruscoabo H. Cardiac mechanotransduction: From sensing to disease and treatment. *Trends Pharm. Sci*. 2001; 22: 254-60. doi: 10.1016/s0165-6147(00)01679-5.
  34. Bukharaeva E., Samigullin D., Nikolsky E., Vyskocil F. Protein kinase A cascade regulates quantal release dispersion at frog muscle endplate. *J. Physiol*. 2002; 538(Pt 3): 837-48. doi: 10.1113/jphysiol.2001.012752.
  35. Gabdrakhmanov A.I., Khairullin A.E., Grishin S.N., Ziganshin A.U. ATP-induced changes in rat skeletal muscle contractility. *Int. J. Risk Saf. Med*. 2015; 27 (Suppl. 1): S82-3. doi: 10.3233/JRS-150700.
  36. Kulinskiy V.I., Kolesnechenko L.S. Catecholamine: biochemistry, pharmacology, physiology, clinic. *Voprosy Meditsinskoy khimii*. 2002; 48(1): 45-67. (In Russian)
  37. Watt M.J., Stellingwerff T., Heigenhauser G.J.F., Spriet L.L. Effects of plasma adrenaline on hormone-sensitive lipase at rest and during moderate exercise in human skeletal muscle. *J. Physiol*. 2003; 550(1): 325-32. doi: 10.1113/jphysiol.2003.043133.
  38. Bukharaeva E.A., Kim K.K., Nikolskiy E.E., Vyskocil F. Synchronization of secretion of the evoked transmitter quanta as mechanism of the facilitating action of sympathomimetics. *Rossiyskiy fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenov*. 1998; 84(10): 1121-31. (In Russian)
  39. Sobolev V.I., Trush V.V. Influence of Thyroxine on Display of Dexamethasone's Effects on M-response's Parameters of Skeletal Muscle of White Rats. *Rossiyskiy fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenov*. 2013; 99(9): 1067-76. (In Russian)
  40. Giniatullin A.R., Grishin S.N., Giniatullin R.A. Influence of hydrocortisone on the modulating effects of purin in neuromuscular connection. *Rossiyskiy fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenov*. 2000; 86(10): 1293-9. (In Russian)
  41. Nakamura Y., Nagase I., Asano A. Beta-2-adrenergic agonists up-regulates uncoupling proteins 2 and 3 in skeletal muscle of the mouse. *J. Vet. Med. Sci*. 2001; 63(3): 309-14. doi: 10.1292/jvms.63.309.

#### Сведения об авторах:

**Труш Вера Владимировна**, канд. мед. наук, доцент, зав. каф. физиологии человека и животных ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет», e-mail: ver.trush@yandex.ru;

**Соболев Валерий Иванович**, доктор биол. наук, проф., каф. здоровья и реабилитации Института педагогики, психологии и инклюзивного образования Гуманитарно-педагогической академии (филиал) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», e-mail: v.sobolev@mail.ru