

© Коллектив авторов, 2021

УДК 591.182: 612.015.6.018: 612.454: 612.741: 57.084.1

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

## Модуляция альфакальцидолом эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы белых крыс

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

283050, Донецк, ул. Щорса, д. 46;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»,

298650, Ялта, ул. Стахановская, д. 11

**Цель исследования** – изучение эффективности фармакологических доз альфакальцидола в компенсации негативных эффектов длительно вводимого дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических волокон (*m. tibial anterior*).

**Методика.** Эксперименты проводились на половозрелых крысах-самках (195-205 г), первоначально разделенных на 4 группы: контрольную ( $n=10$ , К-группа), 1-ю опытную ( $n=20$ , дексаметазон, ДМ-группа), 2-ю опытную ( $n=20$ , дексаметазон в комплексе с альфакальцидолом, ДМ+АЛФ-группа) и 3-ю опытную ( $n=20$ , получали альфакальцидол, АЛФ-группа). Препараты вводили в дозах, адекватных терапевтическим для человека, на протяжении 30 и 60 суток: дексаметазон («КРКА», Словения) – 1 раз через день, внутривенно (0,25 мг/кг), альфакальцидол (торговая марка «Альфа Д3-Тева», Catalent Germany Eberbach GmbH, Германия) – ежедневно, перорально, в дозе 0,06 мкг/кг. В последующем каждая опытная группа была разделена на 2 подгруппы ( $n=10$  в каждой) в зависимости от количества суток введения препаратов (30ДМ- и 60ДМ-подгруппы, 30ДМ+АЛФ- и 60ДМ+АЛФ-подгруппы, 30АЛФ- и 60АЛФ-подгруппы). На наркотизированных животных (тиопентал натрия, 100 мг/кг) с помощью метода стимуляционной электромиографии изучали параметры М-ответа передней большеберцовой мышцы в условиях вызванного возбуждения, которое индуцировали путем раздражения сверхпороговым электрическим током малоберцового нерва.

**Результаты.** Введение АЛФ в комплексе с ДМ предотвращало типичное для 30ДМ-группы удлинение латентного периода М-ответов и уменьшение их амплитуды и даже статистически значимо увеличивало в сравнении с контролем амплитуду М-ответов (на 85–60% в 30ДМ+АЛФ и 60ДМ+АЛФ-группах соответственно) и их длительности в 30ДМ+АЛФ-группе (на 60%) с сохранностью тенденции к удлинению М-ответов в 60ДМ+АЛФ-группе. Частота полифазных М-ответов в 30ДМ+АЛФ-группе (50%) была сопоставима с таковой 30ДМ-группы (40%), тогда как в 60ДМ+АЛФ-группе оказалась ниже таковой 60ДМ-группы (20% против 40%). Увеличение амплитуды и длительности М-ответов в 30ДМ+АЛФ-группе на фоне появления полифазных потенциалов (у 50% особей) может свидетельствовать не только о миогенном повреждении нервно-мышечного аппарата, в том числе, коллатеральном спраунтинге частично поврежденных некротическими очагами мышечных волокон, но и в пользу нейрогенной природы расстройств при длительной глюкокортикоидной терапии.

Частота полифазных М-ответов после утомляющей работы (УР) у животных ДМ-групп несколько уменьшалась относительно исходной, тогда как у крыс ДМ+АЛФ-групп полифазные М-ответы после УР не регистрировались вообще. Данный факт указывает в пользу разных причин полифазии М-ответов в ДМ- и ДМ+АЛФ-группах: в ДМ-группах основной причиной полифазии является недостаточность нормальных мышечных волокон в составе двигательных единиц (ДЕ) для формирования полноценного М-ответа, тогда как в ДМ+АЛФ-группах – уменьшение степени синхронизации возбуждения патологически измененных нервных или мышечных волокон.

АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвращал типичное для ДМ-групп уменьшение массы мышцы и количества активируемых ее ДЕ, но тенденция к уменьшению массы мышцы в случае введения животным пары препаратов всё же имела место. Спустя 30 сут введения пары препаратов (ДМ+АЛФ) характер изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы после УР был во многом аналогичен таковому 30ДМ-группы. Вместе с тем, спустя 60 сут введения пары препаратов (ДМ+АЛФ) отмечалась менее выраженная, но значимая в сравнении с контролем степень уменьшения амплитуды М-ответов после УР на фоне более выраженного увеличения их длительности, но при этом сравнимого с контролем уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы, что косвенно свидетельствует в пользу увеличения плотности ДЕ мышцы и способности АЛФ ослаблять повышенную ее утомляемость, вызванную введением ДМ. Вместе с тем, независимо от введения АЛФ у животных, получавших ДМ, имело место нетипичное для контроля удлинение латентного периода М-ответов мышцы после УР, свидетельствующее в пользу большей утомляемости синапсов и возможно сниженной надежности синаптической передачи.

**Заключение.** Полученные в модельных экспериментах на животных данные косвенно указывают в пользу менее выраженных дистрофических изменений мышечных волокон и частичной компенсации повышенной утомляемости мышцы при комплексном введении ДМ+АЛФ в сравнении с изолированным введением ДМ, что позволяет рекомендовать АЛФ как одно из средств для ослабления стероидной миопатии при длительной глюкокортикоидной терапии.

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

**Для цитирования:** Труш В.В., Соболев В.И. Модуляция альфакальцидолом эффектов дексаметазона на параметры М-ответа скелетной мышцы белых крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65 (2): 53-66.

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2021.02.53-66

**Для корреспонденции:** Труш Вера Владимировна, e-mail: ver.trush@yandex.ru

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Труш В.В., Соболев В.И.; сбор и обработка материала – Труш В.В.; статистическая обработка – Соболев В.И.; написание текста – Труш В.В.; редактирование – Соболев В.И.; утверждение окончательной версии статьи – все соавторы.

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

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

Поступила 30.09.2020

Принята к печати 25.03.2021

Опубликована 30.06.2021

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

## Alfacalcidol modulation of the dexamethazone effects on parameters of M-response of skeletal muscle of white rats

<sup>1</sup>Donetsk National University,  
Shchorsa St. 46, Donetsk 283050, Ukraine;

<sup>2</sup>V.I. Vernadsky Crimean Federal University,  
Stakhanovskaya St. 11, Yalta 298650, Republic of Crimea, Russia

**The aim** of this research was to evaluate the effectiveness of pharmacological doses of alfacalcidol (ALF, 0.06 µg/kg/day) in compensating the negative effects of chronic dexamethasone treatment (DM, 0.25 mg/kg/2 days, for 30 and 60 days) on parameters of the M-response of mixed type skeletal muscle with a predominance of glycolytic fibers (*m. tibialis anterior*).

**Methods.** The experiments were performed on sexually mature female rats (195-205 g) initially divided into four groups: 1) control group ( $n=10$ , C-group); 2) first experimental group ( $n=20$ , treated with dexamethasone, DM-group); 3) second experimental group ( $n=20$ , treated with dexamethasone in combination with alfacalcidol, DM+ALF-group); 4) third experimental group ( $n=20$ , treated with alfacalcidol, ALF-group). The drugs were administered in doses equivalent to the human therapeutic dose for 30 and 60 days: 1) dexamethasone (KRKA, Slovenia) 0.25 mg/kg once every 2 days, i.p.; 2) alfacalcidol (Alpha D3-Teva, Catalent Germany Eberbach GmbH, Germany) 0.06 µg/kg daily, p.o. Each experimental group was divided into two subgroups of 10 each, depending on the number of treatment days: 30DM- and 60DM-subgroups; 30DM+ALF- and 60DM+ALF-subgroups; 30ALF- and 60ALF-subgroups. Electromyography experiments were conducted on rats anesthetized with sodium thiopental (100 mg/kg). Parameters of the M-response of the tibialis anterior muscle were studied during suprathreshold electrical stimulation of the fibular nerve.

**Results.** ALF in combination with DM prevented the lengthening of the latent period of the M-response and a decrease in its amplitude, as was typical for the 30DM-subgroup. ALF in combination with DM also increased the amplitude of M-responses compared to the control ( $p<0.05$ ) and by 85 and 60% in the 30DM+ALF- and 60DM+ALF-subgroups, respectively. The duration of the latent period of M-response in the 30DM+ALF-group increased by 60%, and there was a tendency to preserve the lengthening of M-response in the 60DM+ALF-subgroup. The prevalence of polyphasic M-responses in the 30DM+ALF-subgroup (50%) was comparable to that of the 30DM-subgroup (40%), while in the 60DM+ALF-subgroup, it was lower than that of the 60DM-subgroup (20% vs 40%). Increases in the amplitude and duration of M-responses in the 30DM+ALF-group with the appearance of polyphasic potentials in 50% of the rats may indicate myogenic damage of the neuromuscular apparatus, including collateral sprouting of muscle fibers partially cleaved by necrotic foci. These increases may also indicate neurogenic genesis of disorders associated with long-term glucocorticoid therapy. The frequency of polyphasic M-responses after fatigable work (FW) in animals of the DM-groups partly decreased relative to the initial value, whereas in rats of the DM+ALF-groups, polyphasic M-responses after FW were absent. This fact indicates different causes of the polyphasicity of M-responses in the DM- and DM+ALF-subgroups. The main cause of polyphasicity in the DM-groups was the failure of normal muscle fibers in motor units (MU) to generate a full-fledged M-response, whereas the main cause of polyphasicity in DM+ALF-subgroups was a decrease in the degree of excitement synchronization in pathologically altered nerve or muscle fibers. ALF, when administered in combination with DM, prevented a decrease in muscle mass and the number of activated MUs, which was typical for DM-groups. However, there was still a tendency for a decrease in muscle mass when the pair of drugs was administered. After 30 days of the DM+ALF treatment, the nature of changes in the M-response parameters and the number of activated muscle MUs after FW was similar to that of the 30DM-subgroup in many respects. At the same time, after 60 days of the DM+ALF treatment, a less pronounced but significant decrease in the amplitude of M-responses after FW was noted in comparison with the control ( $p<0.05$ ). This occurred in the presence of a more pronounced increase in the duration of M-responses, but at the same time was comparable with a decrease in the number of activated muscle MUs in the control group. These facts indirectly support an increase in muscle MU density and the ability of ALF to weaken the increased fatigability caused by DM administration. At the same time, the lengthening of the latency period of muscle M-responses after FW was typical for the animals treated with DM regardless of ALF administration, which was not typ-

ical for control rats. This fact is evidence favoring greater synaptic fatiguability or possibly reduced reliability of synaptic transmission with DM administration regardless of ALF.

**Conclusion.** The results of the model experiments provided indirect evidence that dystrophic changes in muscle fibers and increased muscle fatiguability produced by DM alone were reduced by ALF combined with DM. Thus, ALF can be recommended as a therapy to alleviate steroid myopathy during prolonged glucocorticoid therapy.

**Keywords:** skeletal muscle; dexamethasone; iatrogenic hypercorticism; steroid myopathy; alfacalcidol

**For citation:** Trush V.V., Sobolev V.I. Alfacalcidol modulation of the dexamethasone effects on parameters of M-response of skeletal muscle of white rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65 (2): 53-66. (in Russian)

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.02.53-66

**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, Ukraine, e-mail: ver.trush@yandex.ru

**Contribution:** research concept and design – Trush V.V., Sobolev V.I.; material collecting and processing – Trush V.V.; statistical processing – Sobolev V.I.; writing text – Trush V.V.; text editing – Sobolev V.I. Approval of the final version of the article – all co-authors.

**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 30.09.2020

Accepted 25.03.2021

Published 30.06.2021

## Введение

Глюкокортикоиды (ГК) и их синтетические аналоги, несмотря на достижения современной фармако-терапии, по-прежнему остаются наиболее эффективными лекарственными средствами, обладающими очень быстрым, выраженным и долго сохраняющимся противовоспалительным и иммуносупрессивным действием [1]. Наряду с полезными терапевтическими эффектами, ГК, особенно при длительном введении в организм, оказывают негативное влияние на ряд структур организма, в которых усиливают катаболические процессы, в том числе и на опорно-двигательный аппарат [2]. Нарушения в опорно-двигательной системе при гиперкортицизме проявляются в виде остеопении, остеопороза и миопатических изменений особенно в мышцах с преобладанием гликолитических мышечных волокон (МВ) [3, 4].

При достаточно хорошей изученности клиники стероидной миопатии, в том числе ятрогенного характера, многие механизмы ее развития до конца не установлены. Так, если одни специалисты [4-6] считают, что основной причиной функциональных расстройств в нервно-мышечном аппарате (НМА) при гиперкортицизме являются поражения собственно МВ, то другие [7-9] не исключают нейрогенного характера расстройств.

Еще менее изученным остается вопрос относительно эффективности различных средств в компенсации стероидных остеопороза и миопатии. В более ранних

наших исследованиях показана способность близких к физиологическим доз тиреоидных гормонов [10], терапевтических доз андрогенов [11], аминокислот таурина [12] и аргинина [13], аденоагонистов, в том числе селективного  $\beta_2$ -аденоагониста формотерола [14, 15], компенсировать некоторые негативные эффекты длительно вводимых ГК на скелетную мускулатуру.

В качестве рабочей гипотезы в настоящей работе было предположено, что относительно эффективным средством в компенсации стероидной миопатии может оказаться частично активированная форма витамина  $D_3$  – альфакальцидол (АЛФ), или пре-D-гормон – в связи с установленными его эффектами и механизмами действия.

Известно, что длительная ГК-терапия предопределяет снижение активности 25 $\alpha$ -гидроксилазы печени и соответственно нарушение образования кальцидиола и кальцитриола в организме даже при достаточном экзогенном поступлении витамина D [16], а также снижение чувствительности тканей к кальцитриолу из-за ослабления экспрессии рецепторов к нему [17]. Кроме того, ГК ослабляют абсорбцию кальция из кишечного содержимого [18] и стимулируют экскрецию кальция в канальцах почек, тем самым обуславливая резко отрицательный баланс кальция, что предопределяет мышечные спазмы в сочетании с гиперкальциурией, гипокальциемией и вторичным гиперпаратиреозом

при отсутствии гипомagneмии [19]. Гипокальциемия и собственно ГК вызывают повышение секреции паратормона и снижение уровня ИФР-I, что обуславливает развитие остеопении и остеопороза, а также нарушение анаболического действия ИФР-I на костную, хрящевую, мышечную и другие ткани [3].

АЛФ в такой ситуации является весьма эффективным средством для предотвращения витамин D-дефицита и частичной компенсации гипокальциемии, остеопении и остеопороза, в связи с его способностью повышать всасывание кальция в желудочно-кишечном тракте [20] и обратную реабсорбцию кальция в канальцах почек [21], уменьшать резорбцию кальция из костной ткани [22], стимулировать экспрессию ИФР-I в различных тканях организма [23] и повышать экспрессию рецепторов к ИФР-I [24]. Кроме того, в отличие от витаминов D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>, АЛФ превращается в гормонально активную форму – кальцитриол – в результате однократного гидроксирования в различных структурах организма [25], но при этом, в отличие от кальцитриола, более безопасен в плане возможного развития гиперкальциемии [26].

Активный метаболит АЛФ – кальцитриол – через активацию PPAR $\alpha$  вызывает снижение внутриклеточной концентрации жирных кислот и уменьшение содержания липопротеинов очень низкой плотности и триглицеридов в плазме крови [27], что предохраняет его способность замедлять развитие атеросклероза и ослаблять выраженность таких побочных явлений ГК-терапии, как гиперлипемия и гипергликемия [28]. Установлена способность кальцитриола повышать чувствительность клеток периферических тканей к инсулину [29], что также важно при длительной ГК-терапии, сопровождающейся ослаблением эффективности влияния инсулина на ткани-мишени [30].

Недавними исследованиями [31] показана способность активного метаболита АЛФ – кальцитриола – модулировать активность генов, регулирующих рост и дифференцировку МВ, особенно II типа, что может оказаться полезным для компенсации стероидной миопатии. Известно также, что дефицит витамина D может предохранять снижение синтеза мышечных белков, уменьшение поглощения кальция саркоплазматическим ретикуломом, дегенеративные изменения МВ и усиление их апоптоза [32, 33]. В модельных экспериментах на животных с сахарным диабетом II типа показана эффективность АЛФ, применяемого изолированно или в комбинации с физическими нагрузками, в предотвращении уменьшения площади поперечного сечения МВ передней большеберцовой мышцы на ранней стадии лечения, что достигалось благодаря

способности АЛФ стимулировать дифференцировку МВ и подавлять мышечные катаболические гены [34]. Наконец, в некоторых работах [35] установлена способность АЛФ ослаблять выраженность некоторых морфофункциональных нарушений в скелетных мышцах (СМ) при длительной ГК-терапии. Вместе с тем, позитивные эффекты АЛФ на мышечный аппарат признаются далеко не всеми специалистами [36, 37].

**Цель работы** – изучение эффективности кальцидола АЛФ (фармакологическая доза 0,06 мкг/кг/сут) в компенсации негативных эффектов длительно вводимого дексаметазона (ДМ) (0,25 мг/кг/2-е сут, на протяжении 30 и 60 сут) на параметры М-ответа скелетной мышцы СМ смешанного типа с преимущественным преобладанием гликолитических волокон (*m. tibial anterior*).

### Методика

Все эксперименты выполнены в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [38]. Животные содержались в помещении кафедры физиологии человека и животных Донецкого национального университета с температурой воздуха 22 °С и 12-часовым циклом свет/темнота, имели свободный доступ к воде и пище. Протокол эксперимента, содержание животных и выведение их из опыта были составлены в соответствии с Европейской конвенцией о защите животных, используемых в эксперименте (директива 86/609/ЕЕС). Работа одобрена этическим комитетом университета.

Исследования проводились на 70 половозрелых молодых крысах-самках 4–5-месячного возраста с исходной массой тела 195–205 г. Выбор особей женского пола в качестве объекта исследования был обусловлен большей их чувствительностью, в сравнении с особями мужского пола, к катаболическому действию ГК. Животные были случайным образом первоначально разделены на 4 группы: контрольную (интактная, К-группа,  $n=10$ ), 1-ю опытную (дексаметазон, ДМ-группа,  $n=20$ ), 2-ю опытную (дексаметазон в комплексе с альфакальцидолом, ДМ+АЛФ-группа,  $n=20$ ) и 3-ю опытную (альфакальцидол, АЛФ-группа,  $n=20$ ). Препараты вводили в дозах, адекватных терапевтическим для человека, на протяжении 30 и 60 сут. Дексаметазон (KRKA, Словения, 0,25 мг/кг) вводили внутривентриально через день, альфакальцидол (торговая марка «Альфа D3-Тева» производства фирмы Catalent Germany Eberbach GmbH, Германия) – в дозе 0,06 мкг/кг, ежедневно, перорально. Соответственно в последующем каждая опытная группа была разделена на 2 подгруппы ( $n=10$  в каждой) в зависимости от количества суток введения препара-

тов. Так, в пределах ДМ-группы были выделены 30ДМ- и 60ДМ-подгруппы, в пределах ДМ+АЛФ-группы – 30ДМ+АЛФ- и 60ДМ+АЛФ-подгруппы, АЛФ-группа была также разделена на 30АЛФ- и 60АЛФ-подгруппы. Такой подход позволил нам изучать характер функциональных изменений в скелетной мышце в динамике введения препаратов.

По окончании срока введения препаратов на наркотизированных животных (тиопентал натрия, 100 мг/кг, внутривенно) проводили острый опыт, в ходе которого изучали параметры М-ответа передней большеберцовой мышцы (*m. tibialis anterior*).

У наркотизированного животного препаровали в области бедра малоберцовый нерв и на расстоянии 1 см проксимальнее коленного сустава подводили под него раздражающие электроды, а в среднюю часть передней большеберцовой мышцы вводили отводящие биполярные игольчатые стальные электроды с межэлектродным расстоянием 1 мм.

Для регистрации М-ответа мышцы использовалась экспериментальная установка, состоящая из двух каналов: канала электростимулятора и электромиографического. Канал электростимулятора представлен собственно электростимулятором, построенным на основе функционального генератора ICL8038CCDP, оптронной гальванической развязкой и биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным расстоянием 1 мм. Электромиографический канал представлен отводящими биполярными игольчатыми стальными электродами с межэлектродным расстоянием 1 мм и электромиографическим биоусилителем, построенным на основе измерительного усилителя INA118. Оба канала были связаны с регистрирующим устройством – запоминающим цифровым осциллографом Tektronix (TDS2004C).

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

Затем путем постепенного увеличения напряжения импульсов тока от 0,01 до 2 В с частотой 10 имп/с в течение 4 с записывали серию М-ответов мышцы возрастающей амплитуды. Для нанесения раздражения на малоберцовый нерв стимулами нарастающей интенсивности использовали специальную установку, включающую 6 блоков: блок управления запуском, блок генерации оди-

ночного линейно-нарастающего импульса заданной длительности, блок генерации импульсов стимулятора с заранее установленной частотой, блок смесителя сигналов, буферный усилитель тока и цифровой запоминающий осциллограф. На основании процентного изменения амплитуды максимального М-ответа относительно амплитуды минимального определяли приблизительное количество активируемых двигательных единиц (ДЕ) мышцы (методика V. Galea [39]). После этого мышца выполняла утомляющую работу (УР), которую моделировали путем вызванного тетанического ее сокращения (частота импульсов стимуляции малоберцового нерва – 70 имп/с, длительность импульсов 0,5 мс и сила тока 1000 мкА) с внешней нагрузкой 70 г вплоть до полного ее расслабления на фоне продолжающейся электрической стимуляции малоберцового нерва.

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

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

*Статистическая обработка экспериментальных данных.* Оценку статистической значимости различий между центральными тенденциями сравниваемых групп проводили 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). С целью дополнительного анализа при сравнении вариационных рядов использовался также двухвыборочный F-тест для дисперсий, что позволило проводить оценку на независимость двух множеств с высокой вариабельностью. Во всех случаях сравнение анализируемых показателей и оценку статистической значимости различий проводили на основании проверки нулевой и альтернативной гипотез. Значения  $p < 0,05$  рассматривали как статистически значимые. Исследуемые параметры выражали в виде «среднее  $\pm$  стандартная ошибка».

## Результаты

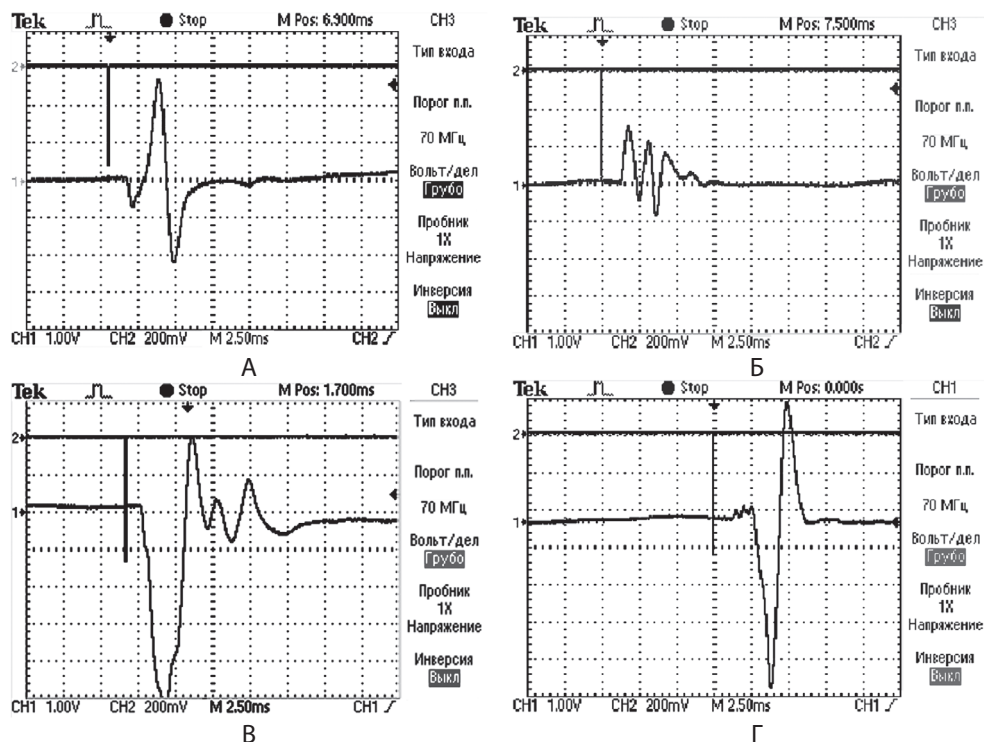
На первом этапе исследований анализировался характер изменения М-ответов мышцы животных, по-

лучавших ДМ изолированно и в комплексе с АЛФ. Образцы записей М-ответов мышцы животных разных групп приведены на рисунке.

Анализ полученных данных показал, что после 30 сут изолированного введения ДМ (у животных 30ДМ-группы) наблюдалось существенное ухудшение в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) параметров М-ответа мышцы: удлинение его латентного периода (на 25%) и уменьшение амплитуды (на 31%) на фоне неизменной длительности, а также появление у 40% особей полифазных и псевдополифазных потенциалов уменьшенной амплитуды (табл. 1). Данные факты на фоне уменьшения ( $p < 0,05$  относительно контроля) массы мышцы (на 9%) и количества активируемых ДЕ на 43% (табл. 2) косвенно указывают в пользу миопатических изменений в ней. Кроме того, удлинение латентного периода М-ответа может быть связано с замедлением синаптической передачи, а уменьшение его амплитуды на фоне неизменной длительности – с десинхронизацией возбуждения МВ вследствие повышения их гетерогенности, а также частичным выключением патологически измененных МВ из возбуждения.

Наконец, одной из причин полифазии М-ответов у животных 30ДМ-группы может быть разная скорость проведения ПД по различным нервным волокнам двигательного нерва и, в частности, ее уменьшение в волокнах, поврежденных вследствие демиелинизации или патологии осевого цилиндра [6], а не только повышение степени функциональной неоднородности собственно МВ. В пользу возможности такого предположения свидетельствуют исследования ряда специалистов [8, 9], наблюдавших частичное повреждение аксонов и соответственно замедление проведения возбуждения по ним у людей с ятрогенным гиперкортицизмом.

По окончании 2-х-месячного периода введения дексаметазона (у животных 60ДМ-группы) латентный период М-ответа оставался удлиненным относительно контроля (на 25%,  $p < 0,05$  на основании двухвыборочного F-теста для дисперсий), его амплитуда несколько возрастала (на 50% относительно контроля,  $p < 0,05$  на основании двухвыборочного F-теста для дисперсий), и длительность М-ответа существенно увеличивалась – на 64%,  $p < 0,05$  относительно контроля (табл. 1), но при этом у 40% особей регистрировались полифазные М-ответы несколько уменьшенной ам-



Образцы записей одиночных М-ответов мышцы контрольного животного (А) и крыс, получавших дексаметазон на протяжении 30 сут изолированно (Б) и в комплексе с альфакальцидолом (В), а также животного, получавшего альфакальцидол на протяжении 30 сут (Г). По каналу 2 (CH2) показана отметка времени, по каналу 1 (CH1) – запись М-ответа (усиление амплитуды М-ответа составляет 1V = 0,5 mV).

плитуды. Кроме того, обращает внимание большая, чем в контроле, дисперсия латентного периода и амплитуды М-ответа у животных 60ДМ-группы (0,12 и 4,8 соответственно против дисперсии этих параметров в 0,03 и 0,5 в контроле). Наблюдаемая нами высокая вариабельность латентного периода и амплитуды М-ответа у особей 60ДМ-группы обусловлена тем, что

у части животных эти параметры фактически возвращались к контрольному уровню, а у других — оставались измененными. Так, у 40% особей 60ДМ-группы амплитуда М-ответа оставалась уменьшенной (при том, что М-ответы у них были полифазными), а у части крыс она, напротив, превышала контрольный уровень, что на фоне удлинения М-ответов, вероятнее все-

Таблица 1

**Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) некоторых параметров М-ответа передней большеберцовой мышцы крыс контрольной группы и животных, получавших дексаметазон (ДМ) и альфакальцидол (АЛФ) изолированно и комплексно (ДМ+АЛФ)**

Группа животных (n=10)	Параметры М-ответа				
	Латентный период, мс	Амплитуда, мВ	Длительность, мс	% полифазных потенциалов	
				до УР	после УР
К	1,2±0,05	2,6±0,22	5,5±0,51	0	0
30ДМ	1,5±0,06, [+25*]	1,8±0,20, [-31*]	5,7±0,65	40	20
30АЛФ	1,3±0,06	4,0±0,38, [+53*]	6,2±0,63	0	0
30ДМ+АЛФ	1,3±0,07	4,8±0,40, [+85*]	8,8±0,39, [+60*]	50	0
60ДМ	1,5±0,11, [+25**]	3,9±0,70, [+50**]	9,0±1,02, [+64*]	40	20
60АЛФ	1,3±0,06	4,4±0,44, [+68*]	6,6±0,51	0	0
60ДМ+АЛФ	1,2±0,06	4,2±0,46, [+60*]	6,6±0,36	20	0

\* — в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения контрольной группы (в %,  $p < 0,05$ , t-критерий Стьюдента); \*\* — в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно соответствующего значения контрольной группы (в %,  $p < 0,05$  на основании двухвыборочного F-теста для дисперсий).

Таблица 2

**Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) массы передней большеберцовой мышцы и количества активируемых двигательных единиц у контрольных животных и крыс, получавших дексаметазон (ДМ) и альфакальцидол (АЛФ) изолированно и комплексно (ДМ+АЛФ)**

Группа животных	Масса мышцы, мг	Количество активируемых двигательных единиц	
		исходное (до УР)	после УР
К	399,8±6,81	14,1±1,21	10,4±0,91 (-26±2,0)
30ДМ	363,9±8,50 [-9*]	8,1±0,95 [-43*]	5,3±0,61 (-34±2,4), [-49*]
30АЛФ	399,0±8,70	17,1±1,76	12,2±1,15 (-28±2,6)
30ДМ+АЛФ	372,9±10,53	16,4±1,71	7,7±0,67 (-53±6,6), [-26*]
60ДМ	366,3±10,54 [-8*]	8,4±0,88 [-40*]	5,4±0,62 (-36±3,5), [-48*]
60АЛФ	509,0±11,31 [+27*]	16,2±1,81	11,3±1,13 (-30±2,7)
60ДМ+АЛФ	377,2±11,18	17,2±2,10	11,5±1,28 (-33±3,4)

\* — в квадратных скобках указана статистически значимая разница показателя относительно контрольной группы (в %,  $p < 0,05$ ); · — в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя после выполнения утомляющей работы (УР) относительно исходного значения соответствующей группы (в %,  $p < 0,05$ ).

го, свидетельствует в пользу повышения плотности ДЕ мышцы. Такого рода картина на определенном этапе терапии всегда имеет место при постепенной адаптации к длительному введению препарата в постоянной дозе, поскольку процесс нормализации осуществляется у разных особей с разной скоростью, что и вызывает закономерное увеличение степени вариабельности изучаемых показателей. Наконец, у животных 60ДМ-группы сохранялись уменьшенными относительно контроля ( $p < 0,05$ ) масса мышцы (на 8%) и количество активируемых ДЕ на 40% (табл. 2).

Некоторое увеличение в 60ДМ-группе амплитуды М-ответов на фоне существенного увеличения их длительности при сохранности уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы косвенно свидетельствуют в пользу возможного увеличения плотности ДЕ за счет коллатерального спраутинга фрагментов дистрофически измененных МВ, разделенных некротическим очагом.

Введение АЛФ в комплексе с ДМ предотвратило типичное для 30ДМ-группы удлинение латентного периода М-ответов и уменьшение их амплитуды и даже обусловило увеличение амплитуды М-ответов (на 85-60% в подгруппах 30ДМ+АЛФ и 60ДМ+АЛФ соответственно) на фоне значимого ( $p < 0,05$ ) относительно контроля увеличения их длительности в 30ДМ+АЛФ-группе (на 60%) с сохранностью тенденции к удлинению М-ответов в 60ДМ+АЛФ-группе (табл. 1). Следует отметить, что увеличение амплитуды М-ответов было характерно и для животных, получавших АЛФ изолированно, но в АЛФ-группах это увеличение амплитуды М-ответов не было сопряжено с их удлинением, типичным для 30ДМ+АЛФ-группы.

Кроме того, АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил типичное для ДМ-групп уменьшение массы мышцы и количества активируемых ДЕ, хотя тенденция к уменьшению массы мышцы в ДМ+АЛФ-группах все же имела место (табл. 2).

Частота полифазных М-ответов в 30ДМ+АЛФ-группе (50%) была сопоставима с таковой 30ДМ-группы (40%), тогда как в 60ДМ+АЛФ-группе она оказалась существенно ниже в сравнении с 60ДМ-группой: 20% против 40% (табл. 1).

Увеличение амплитуды М-ответов на фоне возрастания их длительности и тенденции к уменьшению массы мышцы, типичные для 30ДМ+АЛФ-группы, по всей видимости, свидетельствуют в пользу увеличения плотности МВ в составе ДЕ вследствие их расщепления, а также регенерации фрагментов частично расщепленных волокон, получивших каждый самостоятельную иннервацию (на стадии, когда они были разделены некротическими участками). При этом

отсутствие у животных ДМ+АЛФ-групп значимого уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы, типичное для ДМ-групп, указывает в пользу способности АЛФ ослаблять выраженность катаболических процессов в МВ, особенно гликолитического типа, вызванных длительным введением ДМ.

Кроме того, как уже обсуждалось ранее, у крыс ДМ-групп признаки эффективного коллатерального спраутинга наблюдались только спустя 60 сут введения ДМ, о чем свидетельствовало некоторое повышение амплитуды М-ответов на фоне их удлинения, но при этом сохранности уменьшения массы мышцы и количества активируемых ее ДЕ. У животных же, получавших пару препаратов (ДМ+АЛФ), эффективный коллатеральный спраутинг частично дегенеративно измененных МВ развивался гораздо раньше (уже спустя 30 сут введения пары препаратов), и собственно степень дегенеративных изменений МВ была гораздо меньшей, чем у животных 30ДМ-группы. В пользу этого свидетельствует отсутствие значимого уменьшения относительно контроля массы мышцы (наблюдалась тенденция к ее уменьшению) и количества активируемых ДЕ. Кроме того, у крыс 30ДМ+АЛФ-группы амплитуда М-ответов не снижалась, как в 30ДМ-группе, а, напротив, повышалась, на основании чего можно предположить, что МВ характеризовались нормальной, а не сниженной амплитудой ПД, что еще раз свидетельствует в пользу отсутствия выраженных дистрофических изменений.

Вместе с тем, появление у 50% особей 30ДМ+АЛФ-группы полифазных М-ответов увеличенной амплитуды и длительности может свидетельствовать не только о миогенном повреждении НМА, в том числе, коллатеральном спраутинге частично расщепленных некротическими очагами МВ, но и в пользу нейрогенного генеза расстройств при длительной ГК-терапии.

Очевидно в условиях тяжелых миопатических нарушений, типичных для 30ДМ-группы, признаки нейрогенных нарушений не проявляются, поскольку маскируются существенным ухудшением параметров М-ответа в связи с выраженными дистрофическими изменениями МВ. При комплексном введении пары препаратов (ДМ+АЛФ) и соответственно отсутствию признаков выраженных дистрофических изменений МВ, нейрогенные нарушения, вызванные длительным введением ГК, могут проявиться.

Данный факт частично объясняет противоречивость данных литературы относительно природы нервно-мышечных расстройств при гиперкортицизме: одни авторы [4, 5] указывают на миогенную природу нарушений, другие – наблюдали признаки нейрогенных



расстройств у людей с гиперкортицизмом [7, 40] или у животных при моделировании ДМ-гиперкортицизма [41]. На самом деле и те и другие расстройства, вероятнее всего, имеют место при гиперкортицизме. Признаки одновременно и нейрогенного, и миопатического изменения в мышцах людей с гиперкортицизмом наблюдал также В.Я. Неретин и соавт. [9].

С целью более детальной оценки степени патологических изменений в передней большеберцовой мышце в динамике развития ДМ-гиперкортицизма на втором этапе исследований мы сочли необходимым проанализировать характер изменения параметров М-ответа после выполнения утомляющей работы (УР), выступающей в роли своеобразного теста на выявление скрытых патологий в НМА.

Анализ полученных данных показал, что длительное введение ДМ обуславливало большую утомляемость и меньшую, в сравнении с контролем, способность мышцы к восстановлению после УР. В пользу этого свидетельствует более выраженное в сравнении с контролем ухудшение параметров М-ответа мышцы животных ДМ-групп после выполнения УР. В частности, для ДМ-групп было характерно большее в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) снижение относительно исходного уровня амплитуды М-ответов (на 58% в 60ДМ-группе против снижения в 36% у контроля) и более выраженное увеличение их длительности (на 93% в 30ДМ-группе против удлинения в 39% у контроля), а также нетипичное для К-группы удлинение латентного периода М-ответов (на 33–36% в 30ДМ- и 60ДМ-группах) после УР (табл. 3). Кроме того, для ДМ-групп было характерно и значимо большее в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) уменьшение количества активируемых ДЕ мышцы после УР (на 34–36% в 30ДМ- и 60ДМ-группах против уменьшения в 26% у контроля) (табл. 2). Данный факт, наряду с более выраженным ухудшением параметров М-ответа после выполнения УР у животных ДМ-групп в сравнении с контролем, еще раз подтверждает более высокую утомляемость мышцы крыс с ятрогенным гиперкортицизмом.

Анализ изменения параметров М-ответа мышцы крыс ДМ+АЛФ-групп после выполнения УР выявил как некоторые общие, так и особенные черты в сравнении с ДМ-группами. Так, в случае комплексного применения ДМ+АЛФ, после 30 сут введения пары препаратов характер изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы в 30ДМ+АЛФ-группе после УР был во многом аналогичен таковому 30ДМ-группы (табл. 2, 3). В частности, для мышцы животных 30ДМ+АЛФ-группы, подобно 30ДМ-группе, было характерно нетипичное для контроля удлинение латентного периода

М-ответа после УР (на 34%), и более выраженное, чем в контроле ( $p < 0,05$ ) уменьшение количества активируемых ДЕ мышцы после УР, но при этом гораздо менее выраженное, чем в 30ДМ-группе увеличение длительности М-ответов после УР, тогда как их амплитуда уменьшалась примерно в такой же степени, как в 30ДМ-группе и в контроле.

После 60 сут введения пары препаратов отмечалась менее выраженная не только в сравнении с 60ДМ-группой, но и с контролем ( $p < 0,05$ ), степень уменьшения амплитуды М-ответов после УР на фоне более выраженного в сравнении с 60ДМ-группой и контролем ( $p < 0,05$ ) увеличения длительности М-ответов (табл. 3), но при этом сравнимого с контролем уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы (табл. 2). Вместе с тем, в 60ДМ+АЛФ-группе сохранялось типичное для 30ДМ+АЛФ- и обеих ДМ-групп удлинение латентного периода М-ответа после УР относительно исходного значения (табл. 3).

Данные факты позволяют сделать, как минимум, 2 предположения. Во-первых, менее выраженная степень уменьшения амплитуды М-ответов на фоне более выраженного увеличения их длительности, но при

Таблица 3

Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) параметров М-ответа передней большеберцовой мышцы после выполнения утомляющей работы у крыс контрольной группы и животных, получавших дексаметазон (ДМ) и альфакальцидол (АЛФ) изолированно и комплексно (ДМ+АЛФ)

Группа животных	Латентный период, мс	Амплитуда, мВ	Длительность, мс
К	1,3±0,06 (9±0,8)	1,7±0,25 (-36±8,4 •)	7,6±0,62 (+38±3,9 •)
30ДМ	1,9±0,12* (+34±6,8 • *)	1,0±0,18* (-47±5,3 •)	11,0±1,12* (+93±1,21 • *)
30АЛФ	1,5±0,11 (14±3,0)	2,6±0,29* (-34±7,1 •)	9,2±0,78* (+48±6,2 •)
30ДМ+АЛФ	1,7±0,16* (+34±8,9 • *)	2,7±0,37* (-44±8,9 •)	12,1±0,61* (+38±5,6 •)
60ДМ	2,0±0,16* (+36±7,8 • *)	1,6±0,39 (-58±3,1 • *)	12,6±1,02* (+39±4,1 •)
60АЛФ	1,4±0,09 (11±3,1)	3,1±0,34* (-29±6,1 •)	9,6±0,98 (+45±6,7 •)
60ДМ+АЛФ	1,8±0,14* (+45±7,9 • *)	3,9±0,93* (-7±2,5 • *)	11,2±1,40* (+70±9,6 • *)

\* – среднее значение параметра статистически значимо отличается от такового контроля ( $p < 0,05$ ); • – в круглых скобках указана статистически значимая разница показателя после выполнения утомляющей работы (УР) относительно исходного значения соответствующей группы (в %,  $p < 0,05$ ).

этом сравнимого с контролем уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы после УР, типичная для крыс 60ДМ+АЛФ-группы, не свидетельствует о более высокой устойчивости мышцы к утомлению в сравнении с контролем, поскольку количество активируемых ДЕ уменьшалось в такой же степени, как и в контроле. В то же время, за счет некоторого увеличения плотности МВ в составе ДЕ наблюдалась меньшая степень снижения амплитуды и более выраженное удлинение М-ответов после УР в сравнении с контролем.

Во-вторых, меньшая степень ухудшения параметров М-ответа у крыс 60ДМ+АЛФ-группы в сравнении с 60ДМ-группой, для которой было характерно более выраженное снижение амплитуды М-ответов в сравнении с таковым в контроле, позволяет предположить, что введение АЛФ в комплексе с ДМ несколько ослабило повышенную утомляемость мышцы, характерную для изолированного применения ДМ. При этом АЛФ, вводимый изолированно, не привел к повышению устойчивости мышцы к утомлению, о чем свидетельствует аналогичный контролю характер изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы после УР относительно исходного уровня в обеих АЛФ-группах (табл. 2, 3). В то же время АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, ослабил повышенную утомляемость мышцы, типичную для длительного применения ДМ.

Вместе с тем, удлинение латентного периода М-ответа мышцы после выполнения УР, типичное для животных, получавших ДМ, независимо от применения АЛФ, и не характерное для контроля, свидетельствует в пользу большей утомляемости синапсов и возможно сниженной надежности синаптической передачи.

Учитывая, что длительный гиперкортицизм обуславливает развитие недостаточности кальцитриола в организме [16] и затруднение реализации его эффектов на ткани-мишени [17], а также факт улучшения под действием АЛФ функциональных возможностей СМ только при исходном дефиците кальцитриола, но при этом отсутствие значимых позитивных его эффектов в норме [42], становится отчасти понятной некоторая компенсация под действием АЛФ признаков повышенной утомляемости мышцы, имевшая место в условиях нашей модели эксперимента после 60 сут введения пары препаратов (ДМ+АЛФ).

Полученные факты указывают в пользу того, что введение АЛФ в комплексе с ДМ полностью не компенсирует миопатические изменения, вызванные ДМ, хотя, по-видимому, ускоряет развитие и эффективность коллатерального спраунга. Как следствие, амплитуда и длительность М-ответов у крыс 30ДМ+АЛФ-

группы увеличивались в сравнении с контролем, тогда как утомляемость, оцениваемая по степени изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы после выполнения УР, была сопоставима с таковой 30ДМ-группы. Вместе с тем, после 60 сут введения пары препаратов АЛФ отчасти компенсировал повышенную утомляемость мышцы, обусловленную ДМ.

Еще один интересный факт в ДМ- и ДМ+АЛФ-группах состоял в характере изменения частоты полифазных М-ответов после УР. Так, частота полифазных потенциалов у животных ДМ-групп после УР несколько уменьшалась относительно исходной, тогда как у крыс ДМ+АЛФ-групп полифазные М-ответы, встречавшиеся у части животных до УР, после УР не регистрировались вообще (табл. 1). Данный факт указывает в пользу разных причин полифазии М-ответов в ДМ- и ДМ+АЛФ-группах. В частности, в ДМ-группах основной причиной полифазии является недостаточность числа нормальных МВ в составе ДЕ для формирования полноценного М-ответа вследствие выраженных дистрофических изменений МВ. Соответственно после УР причина полифазии (недостаточное для формирования полноценного М-ответа количество МВ) сохраняется, но частота полифазных М-ответов, также как и их амплитуда, несколько уменьшаются. Это уменьшение частоты полифазных М-ответов после УР, очевидно, обусловлено исключением части патологически измененных МВ из возбуждения после утомления, которое предопределяло, как минимум, две особенности изменения характера М-ответов после УР. Во-первых, уменьшение количества фаз в М-ответе после УР и соответственно его превращение из полифазного в нормальный и даже иногда в монофазный. Во-вторых, гораздо более выраженное уменьшение амплитуды М-ответа после УР в сравнении с контролем, поскольку часть МВ, участвовавших в формировании М-ответа до УР, переставала участвовать в нем после УР.

При комплексном применении ДМ+АЛФ полифазные М-ответы характеризовались существенно повышенной амплитудой ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем (табл. 1). Данный факт, как обсуждалось ранее, косвенно указывает в пользу того, что основной причиной полифазии в ДМ+АЛФ-группе могли быть как десинхронизация возбуждения МВ, так и существенное изменение скорости проведения по патологически измененным нервным волокнам (в том числе дистальным внутримышечным их участкам). Но поскольку плотность ДЕ очевидно была повышена (в пользу чего свидетельствует увеличение амплитуды и удлине-

ние М-ответов), амплитуда исходных М-ответов, несмотря на полифазию, не только не снижалась, а даже превышала контрольные значения (табл. 1). После УР, очевидно, патологически измененные мышечные или нервные волокна выключаются из возбуждения, вследствие чего полифазия не регистрируется вовсе. Таким образом, основной причиной полифазии в ДМ+АЛФ-группах являлось уменьшение степени синхронизации возбуждения патологически измененных нервных или мышечных волокон, которые после УР выключались из возбуждения, что и обуславливало нормализацию полифазных М-ответов.

Подводя итог изложенному, необходимо заключить, что введение АЛФ в комплексе с ДМ частично, но не полностью, нивелировало негативные эффекты синтетического ГК на НМА. В пользу этого свидетельствуют отсутствие в ДМ+АЛФ-группах значимого относительно контроля уменьшения количества активируемых ДЕ и массы мышцы, хотя тенденция к уменьшению массы мышцы всё же имела место. Кроме того, у животных 60ДМ+АЛФ-группы наблюдалось отсутствие типичного для ДМ-групп и контроля уменьшения амплитуды М-ответов после УР, что косвенно свидетельствует в пользу способности АЛФ нивелировать повышенную утомляемость мышцы, вызванную введением ДМ.

В то же время, для животных ДМ+АЛФ-групп было характерно типичное для ДМ-групп и не характерное для контроля удлинение латентного периода М-ответа мышцы после выполнения УР. Данный факт указывает в пользу сохранности признаков повышенной утомляемости синапсов или сниженной надежности нервно-мышечной передачи при длительном введении ДМ, независимо от применения АЛФ.

Кроме того, спустя 30 сут введения пары препаратов имело место типичное для 30ДМ-группы более выраженное, в сравнении с контролем, уменьшение количества активируемых ДЕ после УР, отчетливая тенденция уменьшения массы мышцы, значимое относительно контроля удлинение М-ответов на фоне повышения их амплитуды и достаточно высокая встречаемость полифазных М-ответов повышенной амплитуды (у 50% особей). Все эти факты косвенно указывают в пользу того, что через 30 сут как изолированного, так и комплексного с АЛФ введения ДМ определенные миопатические и возможно нейрогенные нарушения в НМА возникали. Но при введении АЛФ очевидно выраженность дистрофических изменений МВ была менее выраженной, вследствие чего масса мышцы имела лишь тенденцию к снижению, а количество активируемых ДЕ значимо не отличалось

от контроля. Кроме того, у животных ДМ+АЛФ-групп, по всей видимости, быстрее развивался компенсаторный спраунтинг дистрофически измененных фрагментов МВ, что обуславливало увеличение плотности ДЕ и в связи с этим отсутствие уменьшения амплитуды М-ответа, типичное для 30ДМ-группы.

Учитывая полученные нами факты, относительную безопасность АЛФ [27], а также данные относительно дефицита витамина D в организме, нарушения его метаболизма и понижения чувствительности периферических тканей к кальцитриолу при длительной ГК-терапии [16, 17], можно рекомендовать АЛФ как одно из средств для ослабления выраженности не только гипокальциемии и остеопороза [19, 43], но и стероидной миопатии.

### Выводы

1. АЛФ, вводимый в комплексе с ДМ, предотвратил типичное для ДМ-групп уменьшение массы мышцы и количества активируемых ее ДЕ, но тенденция к уменьшению массы мышцы в случае введения животным пары препаратов всё же имела место.

2. Введение АЛФ в комплексе с ДМ предотвратило типичное для 30ДМ-группы удлинение латентного периода М-ответов и уменьшение их амплитуды и даже обусловило увеличение в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) амплитуды М-ответов (на 85–60% в 30ДМ+АЛФ- и 60ДМ+АЛФ-группах соответственно) и их длительности в 30ДМ+АЛФ-группе (на 60%) с сохранностью тенденции к удлинению М-ответов в 60ДМ+АЛФ-группе.

3. Частота полифазных М-ответов в 30ДМ+АЛФ-группе (50%) была сопоставима с таковой 30ДМ-группы (40%), после УР у животных ДМ-групп она несколько уменьшалась относительно исходной, тогда как у крыс ДМ+АЛФ-групп полифазные М-ответы после УР не регистрировались вообще. Данный факт указывает в пользу разных причин полифазии М-ответов в ДМ- и ДМ+АЛФ-группах: в ДМ-группах основной причиной полифазии является недостаточность нормальных МВ в составе ДЕ для формирования полноценного М-ответа, тогда как в ДМ+АЛФ-группах – уменьшение степени синхронизации возбуждения патологически измененных нервных или мышечных волокон.

4. Увеличение амплитуды и длительности М-ответа в 30ДМ+АЛФ-группе на фоне появления полифазных потенциалов (у 50% особей) может свидетельствовать не только о миогенном повреждении нервно-мышечного аппарата, в том числе, коллатеральном спраунтинге частично расщепленных некротическими очагами МВ, но и в пользу нейрогенного генеза расстройств при длительной ГК-терапии.

5. Через 30 сут введения пары препаратов (ДМ+АЛФ) характер изменения параметров М-ответа и количества активируемых ДЕ мышцы после УР был во многом аналогичен таковому 30ДМ-группы. Вместе с тем, после 60 сут введения пары препаратов (ДМ+АЛФ), отмечалась менее выраженная в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ) степень уменьшения амплитуды М-ответов после УР на фоне более выраженного увеличения их длительности, но при этом сравнимого с контролем уменьшения количества активируемых ДЕ мышцы, что косвенно свидетельствует в пользу увеличения плотности ДЕ мышцы и способности АЛФ ослаблять повышенную ее утомляемость, вызванную введением ДМ.

6. Независимо от введения АЛФ у животных, получавших ДМ, имело место нетипичное для контроля удлинение латентного периода М-ответа мышцы после УР, свидетельствующее в пользу большей утомляемости синапсов и возможно сниженной надежности синаптической передачи.

### Литература

(п.п. 1; 2; 4; 5; 7; 8; 10; 18-23; 25; 27-29; 31; 33-37; 39; 42 см. References)

3. 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.
6. Гехт Б.М. *Теоретическая и клиническая электромиография*. Л.: Наука, Ленинградское отделение; 1990.
9. Неретин В.Я., Котов С.В., Сапфинова В.А. *О генезе неврологических изменений при болезни Иценко-Кушинга и синдроме Кушинга*. В кн. *Вопросы эндокринологии: Республиканский сборник научных работ*. М.; 1983: 35-9.
11. 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.
12. 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. <https://doi.org/10.25557/IGPP.2017.4.8530>
13. Труш В.В., Соболев В.И. Модуляция таурином стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением дексаметазона. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2017; 7(2): 108-18.
14. Труш В.В., Соболев В.И., Попов М.Н. Оценка эффективности аргинина в компенсации стероидной миопатии у белых крыс, индуцированной длительным введением дексаметазона. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2018; 62(4): 120-9. <https://doi.org/10.25557/0031-2991.2018.04.120-129>
15. Труш В.В., Соболев В.И. Оценка эффективности  $\beta_2$ -адреноагониста формотерола в компенсации электрофизиологиче-

ских проявлений стероидной миопатии в модельных экспериментах на животных. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2019; 63(3): 35-47.

16. Башкова И.Б., Мадянов И.В. Принципы ведения пациентов с глюкокортикоидным остеопорозом. *РМЖ*. 2018; 12(II): 99-102.
17. Шиманский И.О., Лісаковська О.О., Великий М.М. Молекулярно-клітинні механізми захисної дії вітаміну D3 при експериментальному преднізолон-індукованому остеопорозі. *Біль. Суглоби. Хребет*. 2017; 7(3): 93-101.
24. Лукьянова Е.М., Антипкин Ю.Г., Омельченко Л.И., Апуховская Л.И. *Витамин D и его роль в обеспечении здоровья детей и беременных*. Киев: Аврора-принт; 2005.
26. Крюкова И.В. Возможности альфакальцидола в профилактике и лечении различных форм остеопороза. *РМЖ*. 2016; 20: 1359-63.
30. Нуруллина Г.И. Пульс-терапия глюкокортикоидами и состояние углеводного обмена при ревматических заболеваниях. *Казанский медицинский журнал*. 2013; 94(6): 920-3.
32. Салухов В.В., Ковалевская Е.А., Курбанова В.В. Костные и внекостные эффекты витамина D, а также возможности медикаментозной коррекции его дефицита. *Медицинский совет*. 2018; 4: 90-9. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-4-90-99>.
38. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунатян, ред. Москва: Минздрав РФ, ЗАО «Гриф и К»; 2012.
40. Агафонов Б.В., Лагутина Т.С., Деянова А.Ф. К механизму развития нервно-мышечных расстройств при болезни Иценко-Кушинга. *Проблемы эндокринологии*. 1982; 28(6): 22-6.
41. Скворцов И.А., Сепп Е.К., Авакян Г.Н. Электромиографическое изучение экспериментальных стероидных миопатий у кроликов. *Журн. эксперим. и клин. мед.* 1979; 57(3): 72-8.
43. Никитинская О.А., Добровольская О.В., Торопцова Н.В. Альфакальцидол в лечении больных остеопорозом в современной клинической практике. *РМЖ*. 2017; 7: 452-6.

### References

1. Ha Y., Lee K.H., Jung S. Glucocorticoid-induced diabetes mellitus in patients with systemic lupus erythematosus treated with high-dose glucocorticoid therapy. *Lupus*. 2011; 20(10): 1027-34. <https://doi.org/10.1177/0961203311402246>
2. Gardner D., Shoback D. *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*. 9th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2011.
3. Komerdus I.V., Budul N.A., Chekanova A.V. Systemic effects of glucocorticoid medicines: a guide for the General practitioner (literature review). *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 1: 45-8. (In Russian)
4. Schakman O., Gilson H., Thissen J.P. Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy. *J. Endocrinology*. 2008; 197(1): 1-10. <https://doi.org/10.1677/joe-07-0606>
5. David W.S., Roehr C.L., Leatherman J.W. EMG findings in acute myopathy with status asthmaticus, steroids and paralytics: clinical and electrophysiologic correlation. *Electroencephalography and Clin. Neurophysiol.* 1995; 97(4): S214. [https://doi.org/10.1016/0924-980X\(95\)93232-I](https://doi.org/10.1016/0924-980X(95)93232-I)
6. Geht B.M. *Theoretical and clinical electromyography. [Teoreticheskaya i klinicheskaya elektromiografiya]*. Leningrad: Nauka; 1990. (In Russian)
7. Mitsui T., Umaki Y., Nagasawa M., Akaike M., Ohtsuka S., Odomi M., et al. Motor neuron involvement in a patient with long-term corticosteroid administration. *Internal Medicine*. 2003; 42(9): 862-6. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.42.862>

8. Minetto M.A., Lanfranco F., Botter A., Motta G., Mengozzi G., Giordano R., et al. Do muscle fiber conduction slowing and decreased levels of circulating muscle proteins represent sensitive markers of steroid myopathy? A pilot study in Cushing's disease. *Eur J Endocr.* 2011; 164(6): 985-93. <https://doi.org/10.1530/EJE-10-1169>
9. Neretin V.Ya., Kotov S.V., Sapfirova V.A. *On the genesis of neurological changes. In Isenko-Cushing's disease and Cushing's syndrome. Endocrinology issues: Republican digest of treatises. [In: Voprosy endokrinologii: Respublikanskiy sbornik nauchnykh rabot].* Moscow; 1983: 35-9. (In Russian)
10. Trush V.V., Sobolev V.I. Modulation of Dexamethasone-Induced Effects on the Rat Skeletal Muscles by Testosterone. *International Journal of Physiology and Pathophysiology.* 2013; 4(4): 285-95. <https://doi.org/10.1615/IntJPhysPathophys.v4.i4.20>
11. 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 fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova.* 2013; 99(9): 1067-76. (In Russian)
12. Trush V.V., Sobolev V.I. The modulatory effect of adrenaline on development of steroid myopathy induced by chronic administration of hydrocortisone in white rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2017; 61(4): 104-11. (in Russian) doi: 10.25557/IGPP.2017.4.8530
13. Trush V.V., Sobolev V.I. The modulation by taurine of the steroid myopathy at white rats induced by long application of dexamethasone. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny.* 2017; 7(2): 108-18. (in Russian)
14. Trush V.V., Sobolev V.I., Popov M.N. Evaluation of arginine efficacy in control of steroid myopathy induced by long-term dexamethasone treatment in white rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2018; 62(4): 120-9. (in Russian) doi: 10.25557/0031-2991.2018.04.120-129
15. Trush V.V., Sobolev V.I. Beta-2-adrenergic agonist formoterol efficiency evaluation in compensation of the electrophysiological manifestations of steroid myopathy in model experiments on the animals. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya.* 2019; 63(3): 35-47. (in Russian) doi: 10.25557/0031-2991.2019.03.35-47
16. Bashkova I.B., Madyanov I.V. Principles of management of patients with glucocorticoid osteoporosis. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal.* 2018; 12(II): 99-102. (in Russian)
17. Shimans'kij I.O., Lisakovs'ka O.O., Velikij M.M. Molecular cell mechanisms of the protective action of vitamin D3 in experimental prednisolone-induced osteoporosis. *Bil'. Suglobi. Hrebet.* 2017; 7(3): 93-101. (in Ukrainian)
18. Mazziotti G., Angeli A., Bilezikian J.P., Canalis E., Giustina A. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update. *Trends Endocrinol. Metab.* 2006; 17(4): 144-9. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2006.03.009>
19. Kinoshita Y., Masuoka K., Miyakoshi S., Taniguchi S., Takeuchi Y. Vitamin D insufficiency underlies unexpected hypocalcemia following high dose glucocorticoid therapy. *Bone.* 2008; 42(1): 226-8. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.09.042>
20. Bianco S.D.C., Peng J.-B., Takanaga H., Suzuki Yo, Crescenzi A., Kos C.H., et al. Marked disturbance of calcium homeostasis in mice with targeted disruption of the Trpv6 calcium channel gene. *J. Bone Miner. Res.* 2007; 22(2): 274-85. <https://doi.org/10.1359/jbmr.061110>
21. Hoenderop J.G.J., van Leeuwen J.P.T.M., van der Eerden B.C.J., Kersten F.F.J., van der Kemp A.W.C.M., Mérrillat A.-M., et al. Renal Ca<sup>2+</sup> wasting, hyperabsorption, and reduced bone thickness in mice lacking TRPV5. *J. Clin. Invest.* 2003; 112(12): 1906-14. <https://doi.org/10.1172/jci200319826>
22. Takahashi N., Udagawa N., Suda T. Vitamin D endocrine system and osteoclasts. *Bonekey Rep.* 2014; 3: 495. <https://doi.org/10.1038/bonekey.2014.17>
23. Zheng J.S., Parnell L.D., Smith C.E., Lee Y.C., Jamal-Allial A., Ma Y., et al. Circulating 25-Hydroxyvitamin D, IRS1 variant rs2943641, and insulin resistance: replication of a gene-nutrient interaction in 4 populations of different ancestries. *Clin. Chem.* 2014; 60(1): 186-96. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.215251>
24. Luk'yanova E.M., Antipkin Yu.G., Omel'chenko L.I., Apuhovskaya L.I. *Vitamin D and its role in the health of children and pregnant women. [Vitamin D i ego rol' v obespechenii zdorov'ya detey i beremennykh].* Kiev: Avrora-print; 2005. (in Russian)
25. Bikle D.D. Extracellular actions of vitamin D. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2016; 1376(1): 29-52. <https://doi.org/10.1111/nyas.13219>
26. Kryukova I.V. Alfacalcidol for the prevention and treatment of osteoporosis. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal.* 2016; 20: 1359-63. (In Russian)
27. Elattar S., Estaphan S., Mohamed E.A., Elzainy A., Naguib M. The protective effect of 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and metformin on liver in type 2 diabetic rats. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2017; 173: 235-44. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.11.012>
28. Majak P., Rychlik B., Stelmach I. The effect of oral steroids with and without vitamin D on early efficacy of immunotherapy in asthmatic children. *Clin. Exp. Allergy.* 2009; 39(12): 1830-41. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2009.03357.x>
29. Vaidya A., Williams J.S. Vitamin D and insulin sensitivity: Can gene association and pharmacogenetic studies of the vitamin D receptor provide clarity? *Metabolism.* 2012; 61(6): 759-61. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2011.12.009>
30. Nurullina G.I. Glucocorticoid pulse therapy and carbohydrate metabolism in rheumatic diseases. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2013; 94(6): 920-3. (In Russian)
31. Gröber U., Holick M.F. Vitamin D – Die Heilkraft des Sonnenvitamins. *Zeitschrift für Orthomolekulare Medizin.* 2020; 18(02): 30-1. <https://doi.org/10.1055/a-1207-4076>
32. Salukhov V.V., Kovalevskaya E.A., Kurbanova V.V. Osteal and extraosteal effects of vitamin D and its opportunities of medication correction of its deficiency. *Meditsinskiy sovet.* 2018; 4: 90-9. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2018-4-90-99>. (In Russian)
33. Ceglia L. Vitamin D and its role in skeletal muscle. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2009; 12(6): 628-33. <https://doi.org/10.1097/mco.0b013e328331c707>
34. Akagawa M., Miyakoshi N., Kasukawa Y., Ono Y., Yuasa Y., Naga-hata I., et al. Effects of activated vitamin D, alfacalcidol, and low-intensity aerobic exercise on osteopenia and muscle atrophy in type 2 diabetes mellitus model rats. *PLoS One.* 2018; 13(10): e0204857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204857>
35. Miyakoshi N., Sasaki H., Kasukawa Y., Kamo K., Shimada Y. Effects of a vitamin D analog, alfacalcidol, on bone and skeletal muscle in glucocorticoid-treated rats. *Biomed Res.* 2010; 31(6): 329-36. <https://doi.org/10.2220/biomedres.31.329>
36. Vervloet M. Clinical uses of 1-alpha-hydroxycholecalciferol. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2014; 12(2): 300-5. <https://doi.org/10.2174/1570161113119990132>
37. Testerink J., Degens H., Rittweger J., Shiraishi A., Jaspers R.T., de Haan A. Effects of alfacalcidol on the contractile properties of the gastrocnemius medialis muscle in adult and old rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 2011; 62(1): 111-8.

38. *Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv].* A.N. Mironova, N.D. Bunatyan, eds. Moscow: Minzdrav RF, ZAO «Grif i K»; 2012. (In Russian)
39. Galea V., De Bruin H., Cavasin R., McComas A.J. The number and relative size of motor unites estimated by computer. *Muscle and Nerve.* 1991; 14(11): 1123-30. <https://doi.org/10.1002/mus.880141114>
40. Agafonov B.V., Lagutina T.S., Deyanova A.F. On the mechanism of development of neuromuscular disorders in Itsenko-Cushing's disease. *Problemy endokrinologii.* 1982; 28(6): 22-6. (In Russian)
41. Skvorcov I.A., Sepp E.K., Avakyan G.N. Electromyographic study of experimental steroid myopathies in rabbits. *Zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny.* 1979; 57(3): 72-8. (In Russian)
42. Stockton K.A., Mengersen K., Paratz J.D., Kandiah D., Bennell K.L. Effect of vitamin D supplementation on muscle strength: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporosis International.* 2011; 22: 859-71. <https://doi.org/10.1007/s00198-010-1407-y>
43. Nikitinskaya O.A., Dobrovolskaya O.V., Toroptsova N.V. Alfacalcidol in the treatment of patients with osteoporosis in modern clinical practice. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal.* 2017; 7: 452-6. (in Russian)

**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](mailto:ver.trush@yandex.ru);

**Соболев Валерий Иванович**, доктор биол. наук, проф., каф. здоровья и реабилитации ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», e-mail: [v.sobolev@mail.ru](mailto:v.sobolev@mail.ru)