

3. Bowes S.B. Effect of corticosterone on protein degradation in isolated rat soleus and extensor digitorum longus muscles [Text] / S.B. Bowes, N.C. Jackson, D. Papachristodoulou at al. // J. Endocrinol. – 1996. – №3. – P. 501-507.
4. Cheema I.R. Comparison of the effect of acute and chronic glucocorticoid excess on protein synthesis in rat skeletal muscles of different fibre composition [Text] / I.R. Cheema, A.M. Wadley, V. Prospere // Biomed. Lett. – 1994. – №196. – P. 303-310.
5. Kaasik P. The mechanism of action of glucocorticoids in the rat skeletal muscle [Text] / P. Kaasik, T. Seene, M. Umnova at al. // Balt. J. Lab. Anim. Sci. – 2000. – №3-4. – P. 185-193.
6. Martens M.E. In vitro effects of glucocorticoid on mitochondrial energy metabolism [Text] / M.E. Martens, P.L. Peterson, C.P. Lee // Biochim. et biophys. acta Bioenerg. – 1991. – №2. – P. 152-160.
7. Riso E.M. The effect of glucocorticoid myopathy, unloading and reloading on the skeletal muscle contractile apparatus and extracellular matrix: Dis. PhD of Exercise and Sport Sci.: 10.12.07. [Text] / E.M. Riso – Tartu, Estonia, 2007. – 114 p.
8. Savary I. Effect of glucocorticoid excess on skeletal muscle and heart protein synthesis in adult and old rats [Text] / I. Savary, E. Debras, D. Dardevet at al // Brit. J. Nutr. – 1998. – №3. – P. 297-304.
9. Southorn B.G. Inhibitors of phospholipase A2 block the stimulation of protein synthesis by insulin in L6 myoblasts [Text] / B.G. Southorn, R.M. Palmer // Biochem. J. – 1990. – Vol. 270, №3. – P. 737-739.

УДК 612.741: 612.745.1

### **ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКИ ВВОДИМОГО ДЕКСАМЕТАЗОНА НА СОСТОЯНИЕ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЕ БЕЛЫХ КРЫС**

*М.В.Пархоменко, Д.Г.Сорокина, В.И.Соболев.*

*Резюме.* В экспериментах на белых крысах показан фазный характер изменения состояния синаптической передачи в передней большеберцовой мышце в динамике хронического введения дексаметазона: спустя 5 инъекций дексаметазона латентный период возбуждения мышцы укорачивался, тогда как спустя 10 инъекций – возвращался к уровню контроля, спустя 15-25 инъекций – удлинялся, а после 30 инъекций гормона – вновь нормализовывался. Вместе с тем, надежность нервно-мышечной передачи снижалась спустя 10 инъекций дексаметазона и сохранялась сниженной на всем протяжении периода дальнейшего его введения в организм.

*Ключевые слова:* дексаметазон, гиперкортицизм, нервно-мышечная передача, латентный период возбуждения мышцы.

**Введение.** Глюкокортикоиды и их синтетические аналоги нашли широкое применение в клинической практике в связи с выраженным противовоспалительным, антиаллергическим и иммуносупрессорным эффектом [1]. Вместе с тем, наряду с позитивными для лечения воспалительных заболеваний свойствами глюкокортикоидных гормонов, они оказывают ряд вредных побочных эффектов на организм, в том числе на нервно-мышечную систему [4-6, 8]. Наиболее выраженное побочное негативное влияние оказывают более активные и длительно действующие синтетические фторсодержащие аналоги глюкокортикоидов, в частности дексаметазон [6]. Вопрос относительно влияния естественных и синтетических глюкокортикоидов на состояние нервно-мышечных синапсов, от которого во многом зависит реализация сократительной функции скелетных мышц, носит дискуссионный характер. Так, одни авторы указывают в пользу облегчающего эффекта однократно вводимых сверхфизиологических доз гидрокортизона на нервно-мышечную передачу [2, 7], тогда как другие [6] – напротив, свидетельствуют в пользу ухудшения синаптической функции при хроническом введении глюкокортикоидов или естественном гиперкортицизме.

**Целью настоящей работы** явилось исследование динамики изменений скорости нервно-мышечной передачи в скелетной мышце белых крыс при длительном введении терапевтических доз дексаметазона.

**Объект и методы исследования.** Эксперименты проводились на 70 половозрелых молодых (2-4 месячных) крысах-самках с исходной массой 180-200 г, первоначально разделенных на 2 группы: контрольную (10 животных) и опытную, включавшую 60 крыс. Животные опытной группы подвергались хроническому введению синтетического аналога глюкокортикоидов дексаметазона в терапевтической дозе (0,25 мг/кг, внутривенно, через день) на протяжении от 10 до 60 дней. Таким образом, в пределах опытной группы было сформировано 6 подгрупп животных, каждая из которых получила разное количество инъекций дексаметазона: 5, 10, 15, 20, 25 и 30. Такой подход позволил нам исследовать характер функциональных изменений в скелетной мышце по мере увеличения степени насыщения животного организма дексаметазоном и воспроизвести модель хронического его применения, аналогичную таковой в клинической практике.

Критерием повышения концентрации глюкокортикоидов в крови, создаваемого путем экзогенного введения дексаметазона служило изменение массы тела и некоторых наиболее чувствительных к глюкокортикоидам органов, таких как печень, сердце, почки, скелетные мышцы, надпочечники и щитовидная железа.

Анализ изменения массы тела и глюкокортикоидчувствительных органов по мере увеличения количества инъекций дексаметазона показал следующее. Хроническое введение крысам дексаметазона вызывало первоначальное (на протяжении первых 10 дней) снижение их массы тела ( $p < 0,05$  относительно исходного уровня), после чего задерживало ее прирост (на протяжении последующих 20-40 дней) и только спустя 50-60 дней хронического введения фторсодержащего глюкокортикоидного аналога наблюдался некоторый прирост массы тела животных, оказавшийся в  $2,1 \pm 0,23$  раза меньшим, чем за 60-дневный период у интактных крыс ( $p < 0,05$ , рис.) и происходивший преимущественно за счет избыточных жировых отложений в области туловища, особенно брюшной полости.

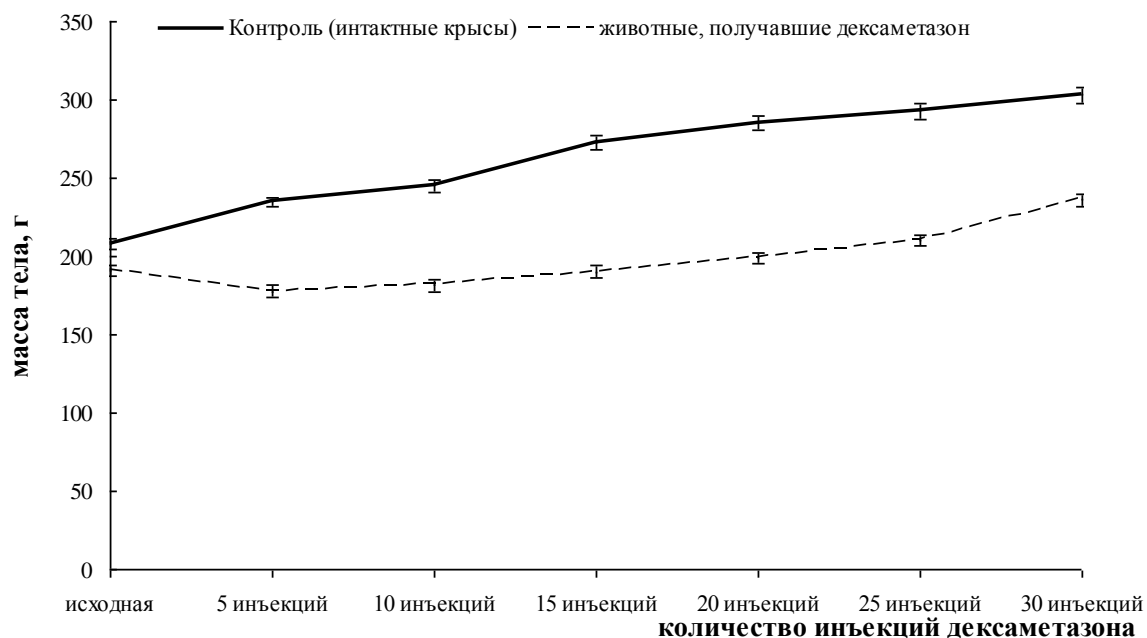


Рис.1 Характер изменения массы тела у интактных крыс в течение 2-х месячного периода и животных, получивших разное количество инъекций дексаметазона (от 5 до 30) на протяжении от 10 до 60 дней

Таблица 1

Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) массы некоторых органов интактных крыс и животных, получивших от 5 до 30 инъекций дексаметазона

Группа животных	Масса органов					
	надпочечники, мг	щитовидная железа, мг	печень, г	почки, мг	сердце, мг	передняя большеберцовая мышца, мг
Контроль	28,9± 1,99	33,3± 1,74	9,0± 0,15	836,4± 28,28	869,9± 16,23	430,5± 13,25
5 инъекций дексаметазона	24,6± 1,23	22,0± 0,94*	8,6± 0,20	732,8± 24,6*	735,3± 17,24*	334,0± 7,12*
10 инъекций дексаметазона	21,0± 1,02* <sup>o</sup>	21,5± 0,63*	9,9± 0,35* <sup>o</sup>	752,0± 22,84*	718,3± 15,23*	326,9± 7,43*
15 инъекций дексаметазона	20,8± 1,09* <sup>o</sup>	20,4± 1,14*	9,8± 0,23* <sup>o</sup>	743,6± 18,32*	696,4± 14,04*	317,5± 10,84*
20 инъекций дексаметазона	19,7± 0,94* <sup>o</sup>	20,2± 0,98*	10,0± 0,16* <sup>o</sup>	703,4± 28,39*	693,2± 7,94*	308,9± 9,89*
25 инъекций дексаметазона	20,7± 1,07* <sup>o</sup>	24,0± 1,26* <sup>o</sup>	10,2 ± 0,26* <sup>o</sup>	755,9± 21,16*	759,4± 8,28* <sup>o</sup> x+	328,8± 10,15*
30 инъекций дексаметазона	20,6± 1,05* <sup>o</sup>	29,1± 1,25* <sup>o</sup> x+p	10,1± 0,29* <sup>o</sup>	830,6± 9,78* <sup>o</sup> x+p	812,0± 20,36* <sup>o</sup> x+p	375,9± 6,19* <sup>o</sup> x+p

- \* – различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно соответствующих значений контрольной группы
- – различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно соответствующих значений животных, получивших 5 инъекций дексаметазона
- – различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно соответствующих значений животных, получивших 10 инъекций дексаметазона
- <sup>x</sup> – различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно соответствующих значений животных, получивших 15 инъекций дексаметазона
- <sup>+</sup> – различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно соответствующих значений животных, получивших 20 инъекций дексаметазона
- <sup>p</sup> – различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно соответствующих значений животных, получивших 25 инъекций дексаметазона

Масса почек, сердца, передней большеберцовой мышцы и щитовидной железы после 5 инъекций дексаметазона оказалась ниже уровня контроля ( $p < 0,05$ ), тогда как спустя 30 инъекций – масса щитовидной железы, почек и сердца нормализовывалась, а масса передней большеберцовой мышцы, хоть и оставалась уменьшенной относительно контроля ( $p < 0,05$ ), но превышала таковую животных, получивших от 5 до 25 инъекций гормона ( $p < 0,05$ , табл. 1). Масса печени увеличивалась, а масса надпочечников уменьшалась относительно контроля ( $p < 0,05$ ) уже после 10 инъекций дексаметазона и оставалась измененной на протяжении всего периода введения гормона (см. табл. 1), что служит одним из наиболее ярких критериев развития гиперкортицизма у животных.

По окончании срока введения дексаметазона на животных проводили острый опыт, в котором на основании электромиограммы определяли длительность латентного периода вызванного возбуждения мышцы до ее работы (исходную) и после ритмической работы в диапазоне частот от 8 до 100 Гц с внешней нагрузкой в 20 г. При каждой частоте электрического раздражения нерва мышца работала в течение 7 секунд, после чего следовал 1-минутный отдых и дальнейшая работа мышцы при следующей частоте раздражения нерва. Электрический ответ мышцы вызывали путем электрического раздражения малоберцового нерва импульсами длительностью в 0,15 мс с частотой 4 Гц. В качестве опорного генератора использовался измерительный генератор прямоугольных импульсов ГС-3. Амплитудные параметры импульса задавались регулируемым усилителем постоянного тока с оптоэлектронной гальванической развязкой. Амплитуду импульсов электростимулятора в ходе нанесения раздражения постепенно увеличивали до тех пор, пока не появлялся электромиографический ответ. Для усиления биопотенциалов мышцы применялся дифференциальный электрометрический усилитель с режекторным гираторным фильтром (50 Гц), соединенный с цифровым интерфейсом и компьютером.

Экспериментальные данные обрабатывались с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. На всех этапах эксперимента придерживались требований "Общие этические принципы экспериментов на животных".

**Результаты исследований и их обсуждение.** Анализ полученных результатов относительно влияния хронического введения терапевтических доз дексаметазона на протяжении от 10 до 60 дней на состояние синаптической передачи в передней большеберцовой мышце, выявил определенную фазность изменений в динамике развития дексаметазонового гиперкортицизма. Так, латентный период вызванного возбуждения мышцы до ее работы (исходный) и после длительной работы, индуцированной электрическим раздражением малоберцового нерва в диапазоне разных частот (от 8 до 100 Гц), претерпевал неоднозначные изменения по мере увеличения количества инъекций дексаметазона (табл. 2). В частности, после 5 инъекций синтетического глюкокортикоида исходный латентный период вызванного возбуждения мышцы укорачивался по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ), а после длительной работы мышцы, подобно таковому у интактных животных, – не изменялся относительно исходного значения, в связи с чем оставался укороченным по сравнению с соответствующим значением контроля ( $p < 0,05$ ).

После 10 инъекций дексаметазона, вводимых на протяжении 20 дней, исходный латентный период возбуждения мышцы возвращался к контрольному уровню, но при этом после длительной работы мышцы он удлинялся и превышал значение контроля ( $p < 0,05$ , см. табл. 2). Спустя 15-25 инъекций дексаметазона исходный латентный период вызванного возбуждения мышцы превышал уровень контроля ( $p < 0,05$ ) и удлинялся после длительной работы мышцы ( $p < 0,05$ ). Спустя 30 инъекций дексаметазона исходный латентный период возбуждения мышцы возвращался к контрольному уровню, но после длительной работы – удлинялся относительно исходного значения ( $p < 0,05$ ) и превышал латентный период возбуждения мышцы интактных животных ( $p < 0,05$ ).

Первоначальное укорочение латентного периода возбуждения передней большеберцовой мышцы, имевшее место спустя 5 инъекций дексаметазона, свидетельствует в пользу облегчения нервно-мышечной передачи. В качестве же возможных причин облегчения синаптической передачи под влиянием естественных или синтетических глюкокортикоидов могут служить полученные в исследованиях других авторов факты относительно усиления выделения ацетилхолина из пресинаптических окончаний нервно-мышечных синапсов, возникающего в результате ослабления пресинаптического тормозного действия АТФ [2], улучшения условий ресинтеза медиатора по причине усиления обратного захвата холина терминалями двигательных нервных волокон [7], или возможного увеличения

амплитуды миниатюрных потенциалов концевой пластинки, наблюдаемого некоторыми специалистами [2] в условиях *in vitro*.

Таблица 2

Средние значения ( $\bar{X} \pm m$ ) латентного периода вызванного возбуждения передней большеберцовой мышцы интактных крыс и животных, получивших от 5 до 30 инъекций дексаметазона

Группа животных	Латентный период возбуждения мышцы, мс	
	исходный	после работы мышцы
Контроль	2,3±0,10	2,3±0,11
5 инъекций дексаметазона	1,9±0,10*	1,9±0,11*
10 инъекций дексаметазона	2,2±0,12	2,7±0,12* <sup>θ</sup>
15 инъекций дексаметазона	2,7±0,11* <sup>о</sup>	3,1±0,13* <sup>оθ</sup>
20 инъекций дексаметазона	2,7±0,11* <sup>о</sup>	3,1±0,15* <sup>оθ</sup>
25 инъекций дексаметазона	2,6±0,10* <sup>о</sup>	3,2±0,18* <sup>оθ</sup>
30 инъекций дексаметазона	2,3±0,07* <sup>оx+p</sup>	2,7±0,08* <sup>оx+pθ</sup>

Примечания те же, что и в таблице 1.  $\theta$  – различия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) относительно исходного значения латентного возбуждения мышцы соответствующей группы.

Вместе с тем, облегчающий эффект дексаметазона на синаптическую передачу в нервно-мышечных синапсах проявлялся только после первых 5-ти инъекций гормона, тогда как после 10-ти инъекций – исходный латентный период возбуждения мышцы нормализовывался, а латентный период возбуждения мышцы после ее работы удлинялся относительно исходного уровня. Удлинение латентного периода возбуждения мышцы после длительной ее работы, не характерное для интактных животных, мышца которых выполняла работу такой же длительности, свидетельствует в пользу снижения надежности нервно-мышечной передачи, которое начинало проявляться уже после 10 инъекций дексаметазона и сохранялось на протяжении всего периода введения гормона (вплоть до 30 инъекций, см. табл. 1). Ухудшение надежности нервно-мышечной передачи после длительной работы мышцы может быть связано с уменьшением запасов готового к высвобождению ацетилхолина или снижением чувствительности холинорецепторов к ацетилхолину и является следствием постепенно развивающегося утомления синапса [3]. В связи с тем, что у контрольных крыс работа мышцы такой же длительности, что и у животных, получивших от 10 до 30 инъекций дексаметазона, не вызывала удлинения латентного периода возбуждения мышцы относительно исходного уровня, можно констатировать, что главным фактором, обусловившим уменьшение надежности синаптической передачи после работы синапса, а значит и более раннее, по сравнению с контрольными животными, развитие процессов утомления в нем, служит хроническое введение дексаметазона. И, действительно, в литературе имеются сообщения [2, 6], согласно которым дексаметазон или естественные глюкокортикоиды в случае длительного введения в организм приводят к нарушению условий синтеза и ресинтеза медиатора в митохондриях, вызывают десенситизацию холинорецепторов или понижение возбудимости внесинаптической мембраны мышечных волокон. Вместе с тем, все отмеченные эффекты длительно вводимых глюкокортикоидов должны сказываться не только на латентном периоде возбуждения мышцы после длительной работы синапса (т.е. обуславливать не только более ранние процессы его утомления), но и на исходной скорости синаптической передачи. Как показали результаты наших исследований, спустя 10 инъекций дексаметазона первоначальное облегчение нервно-мышечной передачи, имевшее место после 5 инъекций гормона, проходит, и исходный латентный период возбуждения мышцы нормализуется, но при этом уже наблюдается уменьшение надежности нервно-мышечной передачи (удлинение латентного периода возбуждения после длительной работы мышцы). Спустя 15-25 инъекций дексаметазона отмечаются уже не только признаки снижения надежности синаптической передачи после работы мышцы, но и удлинение исходного латентного периода возбуждения мышцы, свидетельствующее в пользу усиления изменений в синапсе, вызванных длительным введением дексаметазона. Вместе с тем, спустя 30 инъекций дексаметазона, несмотря на то, что надежность нервно-мышечной передачи остается сниженной, исходный латентный период возбуждения мышцы возвращается к контрольному уровню. Возможной причиной нормализации исходного латентного периода возбуждения мышцы после 30 инъекций дексаметазона, вводимых на протяжении 2-ух месячного периода, может служить постепенная адаптация животного организма в целом и нервно-мышечного аппарата в частности, к хроническому введению глюкокортикоидов, обусловленная постепенным усилением метаболизма глюкокортикоидов в печени и периферических тканях и десенситизацией глюкокортикоидных рецепторов в органах-мишенях.

Таким образом, хроническое введение дексаметазона в животный организм сопровождалось неоднозначными изменениями массы тела и ряда чувствительных к глюкокортикоидам органов, а также состояния синаптической передачи по мере увеличения количества инъекций гормона. В частности, после первых 5 инъекций дексаметазона масса тела снижалась, тогда как после 10-20 инъекций гормона она возвращалась к исходному уровню, а после 25-30 инъекций гормона наблюдался некоторый ее прирост. Масса почек, сердца,

передней большеберцовой мышцы и щитовидной железы после 5 инъекций дексаметазона уменьшалась, тогда как спустя 30 инъекций – масса щитовидной железы, почек и сердца нормализовывалась, а масса передней большеберцовой мышцы, хоть и оставалась уменьшенной относительно контроля, но превышала таковую животных, получивших от 5 до 25 инъекций гормона. Спустя 5 инъекций дексаметазона латентный период возбуждения мышцы укорачивался, тогда как спустя 10 инъекций – возвращался к уровню контроля, спустя 15-25 инъекций – удлинялся, а после 30 инъекций гормона – вновь нормализовывался. Вместе с тем, надежность нервно-мышечной передачи снижалась спустя 10 инъекций дексаметазона и сохранялась сниженной на всем протяжении периода дальнейшего его введения в организм.

### Литература

1. Борисова Е.О. Клиническая фармакология парентеральных форм глюкокортикоидов [Текст] / Е.О. Борисова // Лечебное дело. – 2007. – №3. – С. 17-24.
2. Гиниатуллин А.Р. Влияние гидрокортизона на модулирующие эффекты пуринов в нервно-мышечном соединении [Текст] / А.Р. Гиниатуллин, С.Н. Гришин, Р.А. Гиниатуллин // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86, №10. – С. 1293-1299.
3. Матюшкин Д.П. Функциональные клеточные взаимодействия в нервно-мышечном аппарате [Текст] / Д.П. Матюшкин. – Л.: Наука, 1980. – 184 с.
4. Резников А.Г. Эндокринологические аспекты стресса: Обзор [Текст] / А.Г. Резников // Международный эндокринологический журнал. – 2007. – №4. – С. 103-112.
5. Сергеев П.В. Влияние глюкокортикоидов на поперечно-полосатые мышцы [Текст] / П.В. Сергеев, М.В. Неженцев // Фармакология и токсикология. – 1981. – №6. – С. 737-742.
6. Темин П.А. Стероидные миопатии: Обзор [Текст] / П.А. Темин, О.И. Герасимова // Журн. невропат. и психиат. им. С.С. Корсакова. – 1980. – №11. – С. 1734-1737.
7. Bouzat C. Assigning function to residues in the acetylcholine receptor channel region [Text] / C. Bouzat, F.J. Barrantes // Mol. Membr. Biol. – 1997. – №14. – P. 167-177.
8. Savary I., Debras E., Dardevet D. at al. Effect of glucocorticoid excess on skeletal muscle and heart protein synthesis in adult and old rats [Text] / I. Savary, E. Debras, D. Dardevet [at al.] // Brit. J. Nutr. – 1998. – №3. – P. 297-304.

УДК 543.422

### НИКЕЛЬВУГЛЕЦЕВИЙ МОДИФІКАТОР ПРИ ЕЛЕКТРОТЕРМІЧНОМУ АТОМНО-АБСОРБЦІЙНОМУ ВИЗНАЧЕННІ СЛІДІВ СТИБІЮ У ШАХТНИХ ВОДАХ

*Д.В. Свириденко, А.С. Алемасова*

*Резюме.* В роботі досліджено ефективність дії нікельвуглецевого модифікатору при ЕТААС визначенні стибію. Розроблено чутливу та експресну методику визначення валового вмісту стибію в шахтних водах з межею виявлення, що в 50 разів нижче від ГДК. Встановлено вміст сполук Sb(III,V) в водах шахт «Щегловська глибока» та «Південнодонбаська». Відносне стандартне відхилення  $S_r$  не перевищує 0,1.

Метою даної роботи була розробка принципово нового нікельвуглецевого хімічного модифікатора у вигляді суспензії при електротермічному атомно-абсорбційному спектрометричному (ЕТААС) визначенню стибію та розробка на цій основі експресної та точної методики визначення валового вмісту розчинених та завислих форм стибію у мінералізованих шахтних водах з метою їх екологічного моніторингу.

Наявність стибію в шахтних водах обумовлена його присутністю в підземних водах вугленосних відкладень та процесами, пов'язаними з його міграцією з гірських порід у шахтні води [1]. Сполуки стибію(III,V) токсичні і проявляють дратівну й кумулятивну дію, при накопиченні стибію в організмі людини відбувається порушення обміну речовин, нервової системи, роботи серцевого м'язу [2].

В природних водах сполуки стибію перебувають в розчиненому і завислому станах. В окислювально-відновних умовах, характерних для поверхневих вод, можливе існування як тривалентного, так і п'ятивалентного стибію. У табл. 1 представлені форми існування стибію у водах.

Таблиця 1

Форми існування стибію в водах [3].

Водні об'єкти	Форма існування стибію
Природні води	аніони $SbO_3^-$ , $SbS_3^{3-}$
Безсульфідні води	$SbO_3^-$ , $HSbO_2$ , $Sb(OH)_3$
Сульфідні води	$Sb_2S_3$ , $SbS_3^{3-}$