

УДК 615:616.379-008.64: 616.831-005.1

О. А. ТЕМІРОВА, Л. В. ЯНІЦЬКА, Л. О. СТЕЧЕНКО, О. І. КРИВОШЕЄВА, М. В. ХАЙТОВИЧ

/Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна/

Вплив N-ацетилцистеїну та мелатоніну на ультраструктурні зміни тканин головного мозку щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом

Резюме

Мета роботи – вивчити вплив N-ацетилцистеїну, мелатоніну та їх поєднання на ультраструктурні зміни тканин головного мозку щурів з експериментальним цукровим діабетом 1-го типу (ЦД1).

Матеріали та методи. ЦД1 моделювали шляхом введення стрептозотоцину (STZ) у дозі 50 мг/кг. Тварини були поділені на підгрупи: інтактний контроль; контрольна патологія (тварини з ЦД1, яким вводили фізіологічний розчин *per os*); НАцц (тварини з ЦД1, яким вводили N-ацетилцистеїн у дозі 1500 мг/кг *per os*); Мел (щурів з ЦД1, які отримували мелатонін у дозі 10 мг/кг *per os*); НАцц+Мел (група модельних тварин з ЦД1, яким вводили комбінацію N-ацетилцистеїну та мелатоніну *per os*). Матеріалом для електронномікроскопічних досліджень були ділянки сенсомоторної кори півкуль головного мозку.

Результати. У корі великих півкуль головного мозку щурів із експериментальним ЦД1 спостерігали порушення всіх її структурних компонентів. Більшою мірою змінювалися синаптичні з'єднання, у яких спостерігали виражений набряк як пресинаптичної, так і постсинаптичної терміналей, агрегацію синаптичних пухирців та підвищення щільності синаптичної щільності. У нейронах зміни були пов'язані із ушкодженням органел метаболічного плану, розширенням каналців ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі, накопиченням ліпофусцину та активацією аутофагосом.

Застосування N-ацетилцистеїну сприяло розвитку компенсаторно-приспосувальних змін практично у всіх структурних компонентах кори щурів з ЦД1. При цьому нейрони практично не відрізнялися від таких в інтактних тварин. Це ж стосується і кровоносних капілярів. Мелатонін дещо зменшував набряк нейрополя та забезпечував збереження більшої частини нейронів, тоді як поєднане застосування досліджуваних лікарських засобів показало збільшення кількості гліальних клітин – астроцитів.

Висновки. Отримані дані вказують на високий церебропротекторний потенціал N-ацетилцистеїну та мелатоніну при ЦД1. Поєднане використання лікарських засобів чинить нейропротекторну дію через активацію астроцитарної глії.

Ключові слова: цукровий діабет 1-го типу, енцефалопатія, стрептозотозин, N-ацетилцистеїн, мелатонін, нейропротекція

Цукровий діабет (ЦД) є однією з найактуальніших проблем сучасної медицини. У нашій країні, як і в усьому світі, значно зростає кількість дітей, хворих на ЦД [1]. Так, відповідно до даних Центру медичної статистики Міністерства охорони здоров'я України, в 2017 році хворобу зареєстровано в 9538 дітей та підлітків віком 0–18 років, з них вперше діабет діагностовано в 1368 [2]. Зокрема, наявна тенденція до розвитку захворювання на цукровий діабет 1-го типу (ЦД1) у ранньому дитячому віці, що згодом впливає на розвиток ускладнень, інвалідизацію та ранню смертність [1]. Відомо, що ЦД1 у дітей характеризується наявністю частих декомпенсацій, які спричиняють розвиток ускладнень діабетичної нейропатії, енцефалопатії, ретинопатії, нефропатії тощо [3]. Діабетична енцефалопатія (ДЕ) асоціюється переважно із раннім початком захворювання (до 5 років), лабільним характером глікемії та декомпенсацією вуглеводного обміну [4]. При ДЕ відбуваються морфологічні зміни головного мозку: дифузна дегенерація сірої та білої речовин, псевдокальциноз, атрофічні зміни та вогнищеві пошкодження білої речовини [4]. Основними клінічними проявами ДЕ є органічна неврологічна симптоматика, астеничний синдром, депресивний стан та порушення когнітивних функцій [5]. Важливим фактором розвитку когнітивного дефіциту при ЦД1 є молодий вік. Діти, у яких ЦД1 розпочався у віці до 7 років, мають більший ризик розвитку серйозних когнітивних дисфункцій [6].

Важливим механізмом розвитку ДЕ є активація оксидативного стресу, викликаного гіперглікемією, який спричиняє надмірне утворення супероксидних радикалів та виснаження системи антиоксидантного захисту [7]. Посилення генерації супероксидних радикалів ініціює активацію 5 сигнальних шляхів, які залучені в патогенез ускладнень ЦД. До них належать: збільшення утворення кінцевих продуктів посиленого глікозилювання (advanced glycation end products, AGEs), збільшення експресії рецепторів до AGEs, функціонування поліолового шляху утилізації глюкози, активація ізоформ протеїнкінази C, гіперактивність гексозамінового патологічного шляху [8, 9]. Сигнальні шляхи активують реакції апоптозу та викликають енергетичне виснаження, що призводить до пошкодження нейронів та розвитку ДЕ.

Отже, важливим завданням медицини є пошук лікарських засобів, що виявляють церебропротекторні властивості за умов ЦД1.

Вивчається застосування N-ацетилцистеїну, який має антиоксидантні властивості, в терапії захворювань центральної нервової системи. N-ацетилцистеїн у клітинах та/або плазмі піддається деацетилюванню, перетворюючись в L-цистеїн, який, в свою чергу, йде на побудову глутатіону [10]. Глутатіон бере участь в АО захисті, детоксикації електрофільних ксенобіотиків, регуляції проліферації клітин [11]. Як антиоксидант, НАцц розщеплює гідро-

кисильний радикал, пероксид гідрогену, та хлористоводневу кислоту. Він також здатний пригнічувати реакції апоптозу [12, 13].

Останні десять років активно вивчаються антиоксидантні властивості мелатоніну. Здатність мелатоніну стимулювати антиоксидантні механізми здійснюється завдяки поглинанню гідроксильних радикалів, підвищенню активності таких антиоксидантних ферментів, як глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, супероксиддисмутаза, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, та інгібуванню прооксидантних ферментів, а саме індукцибельної NO-синтази [14]. Антиоксидантні властивості Мел роблять його ефективним компонентом програми запобігання загибелі клітин унаслідок некрозу або апоптозу під впливом різних ксенобіотиків [15].

Мета дослідження – вивчити вплив N-ацетицистеїну, мелатоніну та їх поєднання на ультраструктурні зміни тканин головного мозку щурів з експериментальним ЦД1.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на 35 статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar масою 200–260 г, вирощених у віварії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця. Усі маніпуляції були проведені відповідно до Закону України № 3447-IV Про захист тварин від жорстокого поводження [16] та згідно з Директивою Європейського Союзу 2010/10/63 EU про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [17]. Тваринам моделювали ЦД1 шляхом введення стрептозотоцину (STZ) (Sigma, США) у дозі 50 мг/кг у цитратному буферному розчині (Ph 4,5) одноразово інтраперитонеально відповідно до методичних рекомендацій [18, 19]. Через 72 год після ін'єкції STZ дослідним щурам вимірювали рівень глюкози крові хвостової вени, використовуючи глюкометр One Touch Select Simple (LifeScan, США). В експеримент включали тварин, що мали стійку гіперглікемію із рівнем глюкози більше ніж 15 ммоль/л.

Тварини були поділені на підгрупи: 1) інтактний контроль (ІК, n=7); 2) контрольна патологія (КП, тварини з ЦД1, яким вводили фізіологічний розчин, n=7); 3) NАцц (тварини з ЦД 1, яким вводили N-ацетилцистеїн (STADA) у дозі 1500 мг/кг, n=7); 4) Мел (щури з ЦД1, які отримували мелатонін (Київський вітамінний завод) у дозі 10 мг/кг *per os*, n=7); 5) NАцц+Мел (група модельних тварин з ЦД1, яким вводили комбінацію N-ацетилцистеїну та мелатоніну, n=7). Лікарські засоби вводили внутрішньошлунково протягом 5 тижнів, починаючи з 15 доби після відтворення контрольної патології, з метою виявлення ранніх проявів енцефалопатії при ЦД1.

Евтаназію здійснювали декапітацією під тіопенталовим (80 мг/кг) наркозом з метою забору біопроб (головного мозку щурів).

Матеріалом для електронномікроскопічних досліджень були ділянки сенсомоторної кори півкуль головного мозку щурів. Біологічні зразки фіксували в 2,5 % розчині глютарового альдегіду на какодилатному буфері з дофіксацією в 1 % розчині осмієвої кислоти. Зневоднювали у спиртах 70 %, 80 %, 90 %, 100 % концентрації та ацетоні. Заливали у суміш епону – аралдіт, згідно із загальноприйнятою методикою [20]. Напівтонкі та ультратонкі зрізи з блоків отримували на ультратомі LKB (Швеція). Напівтонкі зрізи забарвлювали метиленовим синім та за Науат [21]. Ультратонкі зрізи контрастували 2 % насиченим розчином уранілацетату та цитратом свинцю. Препарати досліджували під електронним мікроскопом Сумського ВО «Selmi» ПЕМ-125К на базі лабораторії електронної мікроскопії Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О. О. Богомольця.

Результати та їх обговорення

Порівняльний аналіз ультраструктурних особливостей сенсомоторної кори у щурів зі стрептозотоциновим ЦД1, а також на фоні проведеної терапії із використанням NАцц, Мел та їх поєднання, дозволив виявити зміни з боку нейронів, астроглії, нейрополя та судинної стінки. Так, через 7 тижнів з моменту моделювання ЦД1, у корі півкуль великого мозку відмічено виражені зміни її структурних елементів, порівняно з групою ІК (рис. 1, 2). Зокрема, у нейронах відмічалась зморщеність як самих клітин, так і частковий або повний пікноз ядер та фрагментація каналців гранулярної ендоплазматичної сітки з втратою ними рибосом. Останні згупувались у цитоматриці нейронів, де виявлено мітохондрії з деструктивно зміненими кристами, а деякі з них втрачали як внутрішню, так і зовнішню мембрани. В зоні їх розміщення спостерігали аутофагосоми, очевидно, як результат мітофагії.

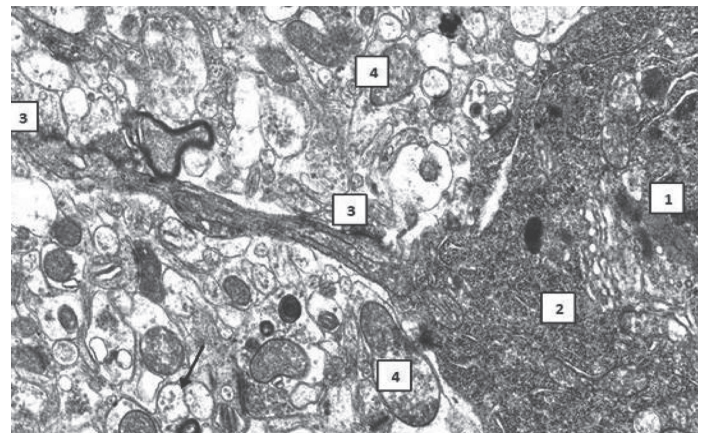


Рис. 1. Ультраструктура кори великого мозку групи щурів інтактного контролю. Електроннограма: $\times 17000$

Примітка. 1 – ядро нейрона; 2 – каналці гранулярної ендоплазматичної сітки; 3 – синапси; 4 – мітохондрії; ↑ – аутофагосоми.

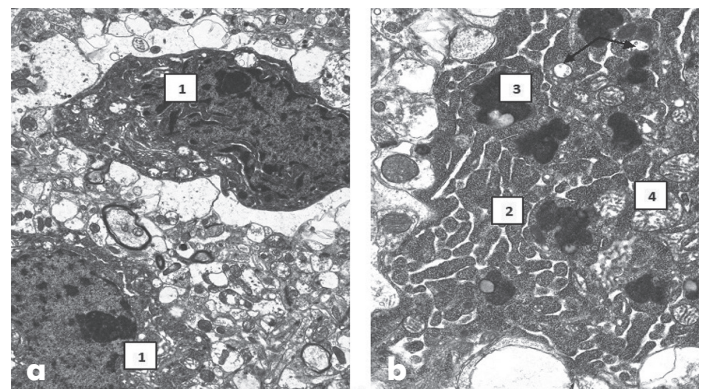


Рис. 2. Ультраструктура кори великого мозку групи щурів контрольної патології. Електроннограма: а – $\times 4400$; б – $\times 10600$

Примітка. 1 – пікнотичні нейрони та їх ядра; 2 – каналці гранулярної ендоплазматичної сітки; 3 – ліпофусцини; 4 – мітохондрії; ↑ – аутофагосоми.

У щурів з експериментальним ЦД1 в астроцитарній глії також реєструвались відмінності астроцитів, порівняно з ІК. На перше місце у морфологічних змінах слід поставити набряк цитоплазми, що полягав у її просвітленні та утворенні вакуолей. Мітохондрії таких клітин частково були гіпертрофовані, а у інших виявлено просвітлений матрикс та деструктуровані кристи (рис. 3).

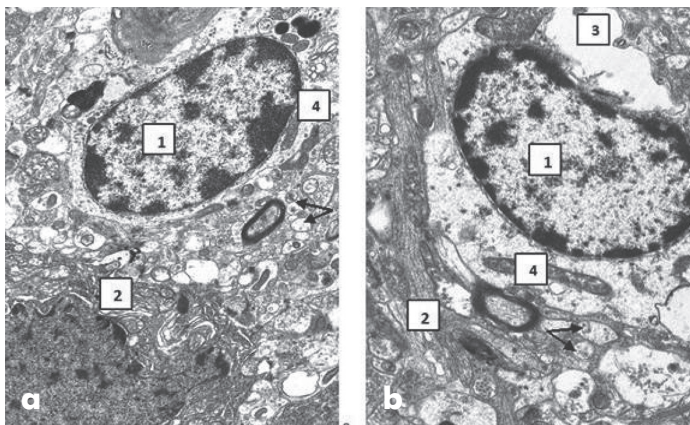


Рис. 3. Ультраструктура кори великого мозку: а – шурів групи інтактного контролю; б – шурів групи контрольної патології. Електроннограма: а – $\times 8000$; б – $\times 12000$

Примітка. 1 – ядра астроцитів; 2 – каналці гранулярної ендоплазматичної сітки; 3 – вакуоль; 4 – мітохондрії; \uparrow – аутофагосоми.

Порівняння структурної організації кровососних капілярів кори півкуль великого мозку шурів з ЦД1 свідчить про виражений периваскулярний набряк та незначне розширення базальної мембрани. В основному ендотеліальне вистелення збережене, проте у венулярному відділі гемомікроциркуляторного русла відмічено стоншення периферійної зони до розміру плазматичної мембрани (рис. 4). На всіх вище вказаних електронномікроскопічних фото спостерігається пошкодження синаптичних з'єднань за світлим типом у групі КП, порівняно з тваринами ІК. У передсинаптичній частині синаптичні пухирці відсутні повністю або частково, а в деяких синапсах пухирці мілі та формують клубочок біля синаптичної щілини, тому сама синаптична терміналь світла; також не спостерігалось ущільнення постсинаптичної мембрани.

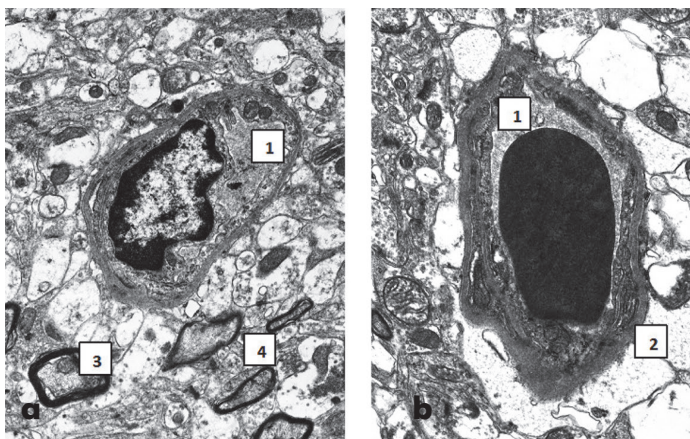


Рис. 4. Ультраструктура кори великого мозку: а – шурів групи інтактного контролю; б – шурів групи контрольної патології. Електроннограма: а – $\times 12000$; б – $\times 10000$

Примітка. 1 – просвіт кровососного капіляра; 2 – периваскулярний набряк; 3 – мієлінові волокна; 4 – синапси.

При застосуванні НАцц відмічалися компенсаторно-приспосувальні процеси, які проявлялись у рівномірному розміщенні еухроматину (активного), що сприяло активації функції ядра, як у транспорті різних типів рибонуклеїнової кислоти (РНК), так і активації ядерця для вироблення субодиноць рибосом. Останнє сприяло відновленню гранулярної ендоплазматичної сітки для

вироблення нейротрансмітерів. У більшості нейронів вона мала таку ж структуру, як і в тварин ІК (рис. 5). Астроцити у більшій своїй кількості за будовою не відрізнялись від групи тварин ІК та були розміщені по всій корі і біля капілярів (рис. 6 а). У кровососному руслі, більшість ендотеліальних клітин гемокапілярів містили ядра з рівномірно розподіленим еухроматином, у цитоплазмі цих клітин виявлялась значна кількість мікропіноцитозних везикул, що свідчить про активність метаболічних процесів. Спостерігались ендотеліоцити, які мали суттєво стоншену цитоплазму, що пов'язано з підсиленням трансендотеліального переносу речовин (рис. 6). Синаптичні з'єднання частково були змінені за світлим типом, а частково добре збережені (рис. 6).

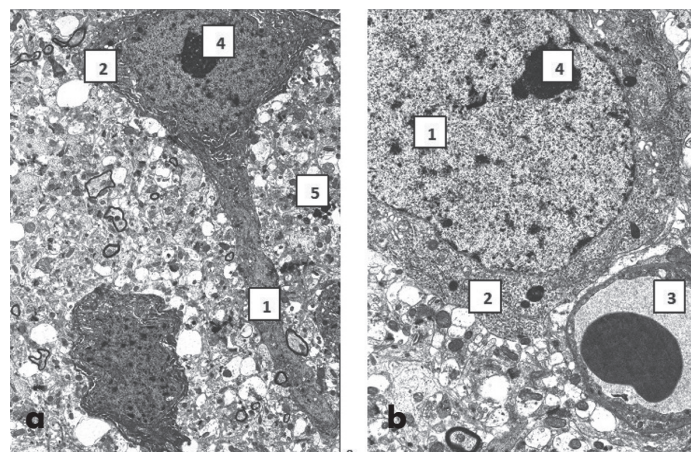


Рис. 5. Ультраструктура кори великого мозку шурів з експериментальним цукровим діабетом, яким вводили N-ацетилцистеїн (у дозі 1500 мг/кг). Електроннограма: а – $\times 3000$; б – $\times 6000$

Примітка. 1 – нейрони та їх відростки; 2 – каналці гранулярної ендоплазматичної сітки; 3 – просвіт кровососного капіляра; 4 – ядра нейронів; 5 – лізосоми.

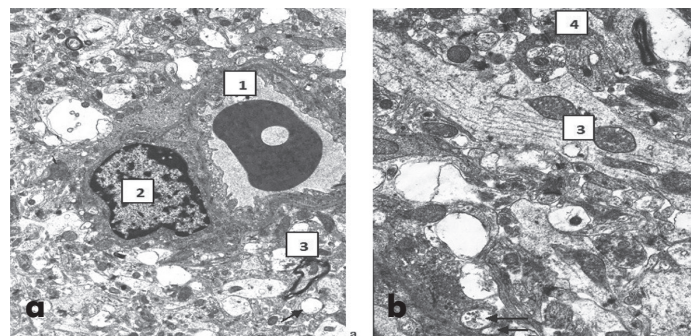


Рис. 6. Ультраструктура кори великого мозку шурів з експериментальним цукровим діабетом, яким вводили N-ацетилцистеїн (у дозі 1500 мг/кг). Електроннограма: а – $\times 5000$; б – $\times 11000$

Примітка. 1 – просвіт кровососного капіляра; 2 – астроцити; 3 – синапси; 4 – мітохондрії; \uparrow – аутофагосоми.

Електронномікроскопічне дослідження кори півкуль великого мозку тварин з ЦД1 при застосуванні Мел також показало значне збереження нейронів (рис. 7) на тлі незначного ушкодження клітин і вигляді пікнозу їх ядра та власне і самої клітини, але такі клітини виявлялись не так часто, як у групі КП. Однак, при терапії Мел у більшій мірі спостерігались зміни у гемокапілярах. Окрім проявів гіпоксії, що проявлялись обтурацією просвітів судин форменими елементами та плазмою крові, ендотеліальне вистелення цих судин стоншувалось, а в деяких ділянках плазматична мембрана

заснавала лізису. У частині судин ці зміни супроводжувались периваскулярним набряком. Нейропіль при застосуванні Мел не відрізнявся від інтактного контролю.

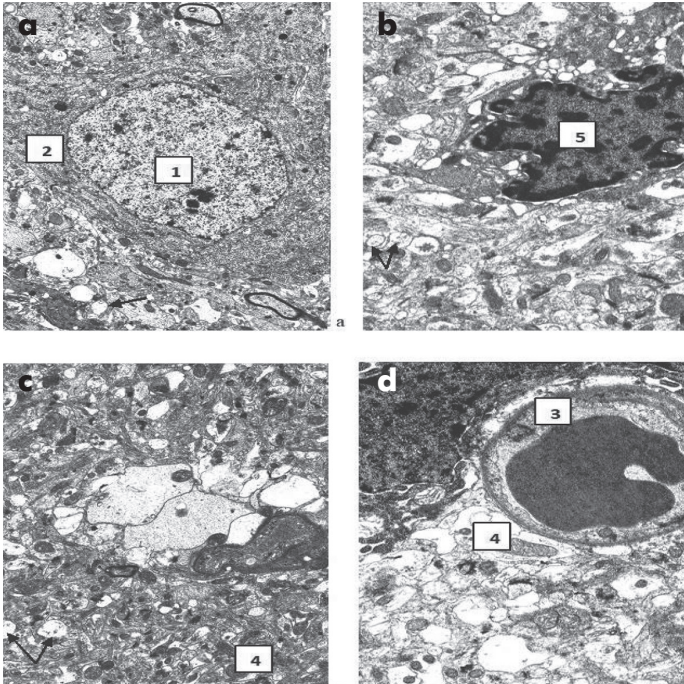


Рис. 7. Ультраструктура кори великого мозку щурів з експериментальним цукровим діабетом, яким вводили мелатонін (у дозі 10 мг/кг). Електронорама: а – $\times 4000$; б – $\times 8000$; с – $\times 4800$; д – $\times 8000$

Примітка. 1 – ядро нейрона; 2 – канальці гранулярної ендоплазматичної сітки; 3 – просвіт кровоносного капіляра; 4 – мітохондрії; 5 – пікноз ядра нейронів; \uparrow – аутофагосоми.

Поєднане застосування НАцц та Мел показало, що на тлі збережених нейронів певна їх частина пікнотично змінена. Останні невеликих розмірів, з щільною цитоплазмою, у якій виявляються розширені канальці ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі та мітохондрії з деструктивними кристами. У відростках цитоплазми спостерігаються аутофагосоми (рис. 8). Привертає увагу підвищення кількості астроцитів різних розмірів, від малих до доволі великих. У цитоплазмі цих клітин міститься велика кількість вільних рибосом та дрібних мітохондрій. Кровоносні капіляри та нейропіль практично не відрізнялись від тварин ІК.

Таким чином, встановлено що тривала гіперглікемія у щурів спричиняє суттєві зміни сенсомоторної кори головного мозку. В основі пошкоджувальної дії може бути як прямий пошкоджувальний вплив гіперглікемії на нейрони та астроцити, так і непрямий – пов'язаний з порушенням функцій гематоенцефалічного бар'єру [22].

При експериментальному ЦД1 ми виявили зміну синаптичних з'єднань, у яких спостерігався виражений набряк як пресинаптичної, так і постсинаптичної терміналей, агрегацію синаптичних пухирців та підвищення щільності синаптичної щільності. У нейронах зміни були пов'язані як із ушкодженням органел метаболічного плану, розширенням канальців ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі, накопиченням ліпофусцину (пігменту старіння), так і активацією аутофагосом. Характерними були зміни у вигляді периваскулярного набряку, ущільнення базальної мембрани кровоносних капілярів та цитонабряку астроцитів.

Застосування у якості корегуючого засобу НАцц сприяло розвитку компенсаторно-приспосувальних змін практично у всіх структурних компонентах кори. При цьому нейрони практично не відрізнялись від таких у ІК тварин. Це ж стосується і до кровоносних капілярів. Мел дещо зменшував набряк нейрополя та забезпечував збереження більшої частини нейронів.

Поєднане застосування НАцц та Мел показало збільшення кількості гліальних клітин – астроцитів, які були різних розмірів, з великим світлим ядром, з великою кількістю рибосом у цитоплазмі, що вказує на їх інтенсивне розмноження. Відомо, що астроцити відіграють важливу роль у підтриманні гомеостазу ЦНС, зокрема, в забезпеченні позаклітинного іонного балансу, регуляції нейротрансмітерів, контролі обміну речовин, переміщенні води між клітинами та позаклітинними структурами, мозковому кровообігу, антиоксидантному захисті [23, 24]. Астроглія важлива для розвитку, дозрівання та протекції нейронів [25]. У ряді робіт вказано, що астрогліоз може бути механізмом захисту нейронів гліальними клітинами від ексайтотоксичної загибелі [26]. Астрогліоз зумовлює обмеження розміру пошкодження, активує нейропротекцію та регуляцію гомеостазу ЦНС у період гострого ішемічного, осмотичного або інших видів стресу [25]. Рактивні астроцити контактують з усіма клітинами ЦНС, що сприяє нейро- та ангиогенезу, регуляції запалення [24]. Астроцити відіграють ключову роль у модуляції ішемічної толерантності, що забезпечує надійну і тривалу нейропротекцію проти ішемії [26]. Таким чином, використання ЛЗ, що сприяють активації астроглії, є важливою стратегією нейропротекції.

Висновки

Експериментальний ЦД1 призводить до суттєвих змін у структурі нейронів, глії та синаптичного апарату кори великих півкуль щурів. Отримані дані вказують на високий церебропротекторний потенціал НАцц та Мел при ЦД1. Сумісне використання досліджуваних ЛЗ сприяє активації астроцитарної глії, що свідчить про нейропротекторну дію даної схеми терапії. Результати проведеного дослідження є експериментально-теоретичним обґрунтуванням доцільності проведення церебропротекторної терапії з використанням НАцц, Мел та їх поєднання у пацієнтів з ЦД1, з метою проведення профілактики когнітивних розладів.

Список використаної літератури

1. Руденко Л. Дослідження емоційних порушень у дітей молодшого шкільного віку, хворих на цукровий діабет 1 типу / Дослідження емоційних порушень у дітей // Науковий вісник МНУ імені В. О. Сухомлинського. – 2016. – № 1. – С. 176–180.
2. Зелінська Н. Б. Хвороби ендокринної системи в дітей України у 2017 році: показник поширеності й захворюваності та їх динаміка / Н. Б. Зелінська, Н. Г. Руденко, З. Г. Крушинська // Український журнал дитячої ендокринології. – 2018. – № 2. – С. 5–15.
3. Абедимова Р. А. Клинико-функциональная характеристика состояния центральной нервной системы у детей с сахарным диабетом 1 типа г. Алматы / Р. А. Абедимова // Эндокринология. – 2015. – № 1. – С. 420–424.
4. Мителев Д. А. Новые возможности в терапии цереброваскулярных нарушений у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа / Д. А. Мителев // Український журнал дитячої ендокринології. – 2015. – № 3 (4). – С. 36–41.
5. Смирнова И. О. Влияние комплексного физиотерапевтического лечения на динамику клинической симптоматики при диабетической энцефалопатии / И. О. Смирнова, В. А. Болдырев // Символ науки. – 2016. – № 5. – С. 198–201.
6. Diabetes mellitus and cognitive impairments / E. Saedi [et al.] // World Journal of Diabetes. – 2016. – DOI:10.4239/wjcd.v7.i17.412/.
7. Physiological targets for the treatment of diabetic encephalopathy / L. L. Vieira [et al.] // Central nervous system agents in medical chemistry. – 2016. – Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27121380>.
8. Паньків В. І. Патогенетичне лікування діабетичної нейропатії: комплексний підхід / В. І. Паньків // International journal of endocrinology. – 2012. – № 7 (47). – С. 55–60.

9. Study of superoxide- and NO-dependent protective mechanisms of N-acetylcysteine and Losartan in rat's aorta and liver under streptozotocin – induced type 1 diabetes mellitus / I. Sytnyk, A. Burlaka, A. Vovk, M. Khaitovych // ScienceRise: Pharmaceutical Science. – 2017. – № 6. – С. 25–31.
10. A minireview on N-acetylcysteine: An old drug with new approaches / I. E. Dhouib [et al.] // Life Sciences. – 2016. DOI: 10.1016/j.lfs.2016.03.003.
11. Shahripour R. B. N acetylcysteine (NAC) in neurological disorders: mechanisms of action and therapeutic opportunities / R. B. Shahripour, M. R. Harrigan, A. V. Alexandrov // Brain and Behavior. – 2014. DOI: 10.1002/brb3.208.
12. Kamboj S. S. N-acetylcysteine inhibits hyperglycemia-induced oxidative stress and apoptosis markers in diabetic neuropathy / S. S. Kamboj, R. K. Vasishta, R. Sandhir // Journal of neurochemistry. – 2010. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2009.06435.x
13. N-acetylcysteine reduces oxidative stress, nuclear factor-Kb activity and cardiomyocyte apoptosis in heart failure / Xiao-Yan Wu [et al.] // Molecular medicine reports. – 2014. DOI: 10.3892/mmr.2014.2292.
14. Іванків Я. І. Застосування мелатоніну при експериментальному цукровому діабеті I типу / Я. І. Іванків, О. М. Олещук // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2016. – № 3 (49). – С. 41–47.
15. Квантово-фармакологический прогноз биологических свойств мелатонина как обоснование рациональности его использования в спорте / Л. М. Гунина, Т. Ю. Небесная, Р. В. Головащенко [и др.] // Современные здоровьесберегающие технологии. – 2016. – № 3. – С. 24–31.
16. Про захист тварин від жорстокого поводження [Електронний ресурс]: Постанова Кабінету Міністрів України від 12.02.2006 р. № 3447-IV. – Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>.
17. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>.
18. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / за ред. Член. кор. АМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
19. Animal Models of Diabetic Complications Consortium (AMDCC) Protocols. The University of Michigan Medical Center // Low-Dose Streptozotocin Induction Protocol (Mouse), 2003. – 5 p.
20. Ультраструктурна характеристика неокортекса крис с аллоксановой гипергликемией в условиях применения цитоклина / В. И. Жилко, В. И. Мамчур, И. В. Твердохлеб, Н. С. Петрук // Морфология. – 2013. – Т. 7, № 4. – С. 30–36.
21. Hayat M. A. Principles and techniques of electron microscopy: biological applications / M. A. Hayat. – Cambridge: Cambridge University Press, 2000. – 543 p.
22. Astrocyte Signaling in the Neurovascular Unit After Central Nervous System Injury / L. Huang, Y. Nakamura, E. Lo, K. Hayakawa – 2019. DOI: 10.3390/ijms20020282.
23. Liu B. Neuroprotective potential of astroglia / B. Liu, A. Teschemacher, S. Kasparov. – 2017. DOI: 10.1002/jnr.24140.
24. Кириченко С. В. Вплив десинхронізації на маркери окисного стресу та стан гліальних проміжних філаментів головного мозку щурів / С. В. Кириченко, Н. Ю. Чернишенко // Вісн. Дніпропетр. Univ. – 2016. – № 24 (2). – С. 540–545.
25. Даченко А. В. Выявление аргирофильных клеток астроцитарной глии для определения гипоксических изменений нервной ткани / А. В. Даченко // Saratov Journal of Medical Scientific Research. – 2015. – Vol. 11, № 4. – С. 649–652.
26. Hirayama Y. Astrocytes and ischemic tolerance / Y. Hirayama, S. Koizumi // Neuroscience research. – 2018. DOI: 10.1016/j.neures.2017.11.013.

Резюме

Влияние N-ацетилцистеина и мелатонина на ультраструктурные изменения тканей головного мозга крис со стрептозотоциновым сахарным диабетом

Е. А. Темирова, Л. В. Яницкая, Л. А. Стеченко, О. И. Кривошеева, Н. В. Хайтович

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Киев, Украина

Цель работы – изучить влияние антиоксидантных лекарственных средств: N-ацетилцистеина, мелатонина и их сочетания, на ультраструктурные изменения тканей головного мозга крис с экспериментальным сахарным диабетом 1-го типа (СД1), с целью оптимизации лекарственной терапии диабетической энцефалопатии.

Материалы и методы. Животным моделировали СД1 путем введения стрептозотоцина (STZ) в дозе 50 мг/кг. Животные были поделены на подгруппы: интактный контроль; контрольная патология (животные с СД1, которым вводили физиологический раствор); NAC (животные с СД1, которым вводили N-ацетилцистеин в дозе 1500 мг/кг *per os*); Mel (крысы с СД1, которые получали мелатонин в дозе 10 мг/кг *per os*); NAC + Mel (группа модельных животных с СД1, которым вводили комбинацию N-ацетилцистеина и мелатонина). Материалом для электронномикроскопических исследований были участки сенсомоторной коры полушарий головного мозга.

Результаты. В коре больших полушарий головного мозга крис с экспериментальным СД1 наблюдались нарушения всех ее структурных компонентов. В большей степени изменялись синаптические соединения, в которых наблюдался выраженный отек, как пресинаптической, так и постсинаптической терминалей, агрегация синаптических пузырьков и повышение плотности синаптической щели. В нейронах изменения были связаны как с повреждением органелл метаболического плана, расширением канальцев эндоплазматической сети, комплекса Гольджи, накоплением липофусцина и активацией аутофагосом.

Применение N-ацетилцистеина способствовало развитию компенсаторно-приспособительных изменений практически во всех структурных компонентах коры крис с СД1. При этом нейроны практически не отличались от таковых интактных животных. Это же относится и к кровеносным капиллярам. Мелатонин несколько уменьшал отек нейрополя и обеспечивал сохранность большей части нейронов, тогда как совместное применение лекарственных средств показало увеличение количества глиальных клеток – астроцитов.

Выводы. Полученные данные указывают на высокий церебропротекторный потенциал N-ацетилцистеина и мелатонина при СД1. Совместное использование АС способствует активации астроцитарной глии, что также свидетельствует о нейропротекторном действии данной схемы терапии.

Ключевые слова: сахарный диабет 1-го типа, энцефалопатии, стрептозотоксин, N-ацетилцистеин, мелатонин, нейропротекция

Summary

Influence of N-acetylcysteine and melatonin on ultrastructural changes in brain tissues of streptozotocin-diabetic rats

O. A. Temirova, L. V. Yanicka, L. O. Stechenko, O. I. Krivosheyeva, M. V. Khaitovych

O. O. Bohomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

The purpose of the research work – to study the effect of antioxidant medicines such as N-acetylcysteine, melatonin and their combination on ultrastructural changes in brain tissues of rats with experimental type 1 diabetes mellitus (DM1) to optimize medicine therapy for diabetic encephalopathy.

Materials and methods. Type 1 diabetes mellitus was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) for animals at dose of 50 mg/kg. Animals were randomly divided in subgroups: intact control; control pathology (animals with DM1 supplemented with normal saline); NAC (animals with DM1 treated with N-acetylcysteine at a dose 1500 mg/kg *per os*); Mel (animals with DM1 treated with melatonin at a dose 10 mg/kg *per os*); NAC+Mel (diabetic rats treated with combination of N-acetylcysteine and melatonin *per os*). The sensorimotor cortex of the cerebral were the material of the electromicroscopical research studies.

Results. The disturbances of all structural components were found in the cerebral cortex of rats with experimental DM1. The synaptic connections which exhibited pronounced edema of both presynaptic and postsynaptic terminals, aggregation of synaptic vesicles and increased synaptic cleft density were found out. Metabolic type structural changes, widening of the endoplasmic reticulum tubules, the Golgi complex, accumulation of lipofuscin and activation of autophagosomes were found out in the neurons.

The use of N-acetylcysteine contributed to the development of compensatory-adaptive changes in almost all structural components of the rats of CD1. The use of N-acetylcysteine contributed to the development of compensatory-adaptive changes in almost all structural components of the rats' cortex with DM1. Thus, the neurons were practically no different such intact animals. The same applies to blood capillaries. Melatonin something reduced the swelling of the neuropole and preserved most of the neurons. While the combined use of the investigational medicines showed the increasing in the number of glial cells - astrocytes.

Summary. The obtained data showed high cerebroprotective potential of N-acetylcysteine and melatonin in DM1. Co-administration of medicines promotes the activation of astrocytic glia, which also indicates the neuroprotective effect of this regimen.

Key words: type 1 diabetes mellitus, encephalopathy, streptozotocin, N-acetylcysteine, melatonin, neuroprotection