

**ЗМІНА ТРИВАЛОСТІ ЖИТТЯ І СТРУКТУРИ М'ЯЗІВ  
У ДИСТРОФІНОВИХ МУТАНТІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER*  
ЗА ВПЛИВУ N-АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ**

**Т. Орлов, Н. Голуб**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: natalieholub@gmail.com*

М'язові дистрофії – група захворювань, які зумовлені мутаціями у різних генах. Найважчою серед міопатій є м'язова дистрофія Дюшена (ММД), яка виникає в результаті мутацій (найчастіше делецій та інсерцій) у гені дистрофіну. Дане захворювання характеризується запаленням і некрозом м'язових волокон, а також оксидативним стресом. Прийом кортикостероїдів залишається стандартним терапевтичним методом лікування ММД [8, 15], і хоча вони призводять до незначних покращень м'язової сили та функції м'язів, численні побічні ефекти, пов'язані з тривалою стероїдною терапією, потребують проведення досліджень альтернативних методів лікування. Генно-терапевтичні методи лікування даного захворювання є дорогими та недоступними для багатьох хворих. Тому мінімізація оксидативного стресу є перспективним підходом для поліпшення м'язової функції у пацієнтів з ММД. N-ацетилцистеїн (N-АЦ) – амінокислота, яка має пряму антиоксидантну дію.

Нами досліджено вплив 2 % розчину N-ацетилцистеїну на фенотиповий прояв міопатії у мутантних ліній *Drosophila melanogaster* *DysDf/TM6,Tb* та *DysDf/DysDf*, у яких делетований ген дистрофіну. Згодовування проводили або лише на стадії імаго (група дорослого згодовування, «ДЗ»-група), або на стадіях личинки й імаго (група личинкового згодовування, «ЛЗ»-група). Показано, що у даній концентрації N-АЦ призводить до підвищення показників як середньої, так і максимальної тривалості життя у гомо- та гетерозиготних мутантів порівняно з необробленим контролем під час згодовування обома способами. При цьому згодовування лише на стадії імаго виявилось більш ефективним. Як доросле, так і личинкове згодовування 2 % N-ацетилцистеїну призводило до покращення стану пошкоджених м'язів: знижувалася вакуолізація клітин, зменшувалася кількість пошкоджених м'язів. Проте з віком кількість пошкоджених м'язів зростала як у дослідних імаго, так і у контрольних. Личинкове згодовування проявило кращий ефект у молодих гетерозиготних дистрофінових мутантів, у старшому ж віці більш ефективним було доросле згодовування. Це може свідчити про короткотривалий додатковий позитивний ефект препарату, що зберігається після метаморфозу. Для гомозигот різні способи прийому препарату статистично не відрізнялись. Отже, згодовування 2 % N-ацетилцистеїну як на стадії личинки, так і на стадії імаго проявило позитивний вплив на прояв м'язової дистрофії у *Drosophila melanogaster*, тому дрозофіла може використовуватись як модель для вивчення впливу інших хімічних сполук у лікуванні даного захворювання.

*Ключові слова:* *Drosophila melanogaster*, N-ацетилцистеїн, м'язова дистрофія, тривалість життя, структура м'язів

М'язові дистрофії – гетерогенна група із більш ніж 30 спадкових захворювань, які призводять до прогресуючої слабкості й дегенерації скелетних м'язів. М'язова дистрофія

Дюшена та м'язова дистрофія Беккера – найважчі форми дистрофій. Поступова деградація скелетних, дихальних і серцевого м'язів спричиняє передчасну смерть хворих [14]. Причиною виникнення цих міопатій є мутації в гені дистрофіну, які призводять до появи білків із вкороченою структурою або до повної відсутності білка дистрофіну. Дистрофін – невід'ємна складова дистрофін-глікопротеїнового комплексу (ДГК), що бере участь у передачі сигналу з позаклітинного матриксу до актинового цитоскелету і у стабілізації сарколеми під час скорочення м'язів [5]. Лікування таких захворювань на сьогодні відбувається кількома способами: симптоматично гормонально (що не завжди ефективно і дає певні побічні реакції) або за допомогою інструментів високоартісної генної терапії. Отже, пошук дешевих ефективних ліків – наразі особливо актуальний напрям досліджень [8, 15].

Одними з найкращих еукаріотичних модельних об'єктів для дослідження м'язових дистрофій є дистрофінові мутанти *Drosophila melanogaster*. У дрозофіли виявлено гомологи самого дистрофіну й інших відомих компонентів ДГК людини [3, 5].

Метою нашої роботи було дослідити вплив N-ацетилцистеїну на тривалість життя і структуру м'язів у мутантних за геном дистрофіну лінії *Drosophila melanogaster DysDf//TM6,Tb* та *DysDf//DysDf*.

#### Матеріали та методи

Матеріалом досліджень слугували лабораторна лінія *Drosophila melanogaster w<sup>1118</sup>; Df (3R) Exel 6184, P {XP-U} Exel 6184/TM6,Tb* (скорочене позначення лінії – *DysDf//TM6,Tb*), яка була надана нам колегами з Інституту біофізичної хімії ім. Макса Планка (м. Геттінген, Німеччина) [16]. Дана лінія має делецію, яка повністю охоплює ген *Dys*, що локалізований у правому плечі 3-ї хромосоми (делетований фрагмент – [92A5 - 92A11]), так і в інсерції транспозону *P {XP-U}* на місці делеції (рис. 1). Делеція забезпечує відсутність експресії гена дистрофіну. У гетерозигот *DysDf//TM6,Tb* очі абрикосового кольору, лялечки округлі, крила з нормальним жилкуванням. У гомозигот *DysDf//DysDf* – очі насиченого помаранчевого кольору, наближені до яскраво-червоних, лялечки видовжені, крила з порушеним жилкуванням задньої поперечної вени крила.

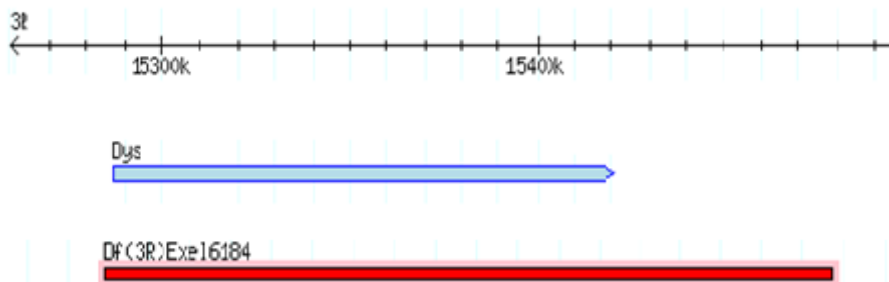


Рис. 1. Ген дистрофіну та делеція у лінії *DysDf//TM6,Tb Drosophila melanogaster* [16]

Мух утримували в термостаті за температури 25 °С, у пробірках, заповнених стандартним поживним середовищем. Для синхронізації культури через кожні три дні мух пересажували на свіже середовище. Проводили синхронізацію культури для відбору мух певного віку. Для личинкового згодовування у середовище вносили розчин аптечного препарату N-ацетилцистеїну (АЦЦ, 200 мг, виробництво фірми «Hexal AG», Німеччина) таким чином, що його остаточна концентрація становила 2 %. У контролі додавали 5 % розчин глюкози. Після цього на таке середовище висаджували по 5 самок і самців 1–2-денного віку. Для дорослого згодовування 2 % розчин препарату наносили на середовище. Для до-

слідження параметрів тривалості життя імаго проводили тест на виживання з подальшим аналізом кривих виживання. На основі побудованих кривих виживання визначали показники середньої (СТЖ) та максимальної (МТЖ) тривалості життя. СТЖ мух визначали за такими параметрами:  $S_{75}$  – термін (у добах), на котрий залишаються живими 75 % мух,  $S_{50}$  – 50 % мух і  $S_{25}$  – 25 % мух відповідно. Для характеристики локомоторної активності проводили climbing-тест [10]. Для виготовлення та дослідження препаратів м'язів тораксу проводили парафінову заливку [1]. Із отриманих парафінових блоків виготовляли зрізи товщиною 7 мкм на ротаційному мікрометрі. Фарбування зрізів проводили гематоксилін-еозином за стандартною методикою [1]. Зрізи тораксу аналізували у видимому світлі з використанням об'єктива 40-кратного збільшення на мікроскопі *Laboval-3 Carl Zeiss Jena*. Статистичну обробку отриманих даних проводили, застосувавши пакет аналізу даних MS Excel на персональному комп'ютері. Використали основні статистичні показники по безпосередніх кількісних даних – середнє арифметичне (М), стандартна похибка середнього арифметичного (m). Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних використовували двовибірковий t-тест із різними дисперсіями (критерії Стьюдента).

#### Результати і їхнє обговорення

Антиоксидантний напрям широко досліджують як потенційне терапевтичне лікування міопатій, використовуючи *mdx*-мишей для попереднього доклінічного тестування препаратів [6, 7, 11–13]. Було показано [11], що годування модельних мишей 6-тижневого віку 2 % N-ацетилцистеїном у питній воді протягом 6 тижнів зумовлювало активізацію роботи м'язів. Для дрозофіли характерний розвиток із повним перетворенням. На стадії лялечки у неї відбувається руйнування усіх систем органів, окрім нервової та статеві. Нашим завданням було перевірити, чи впливатиме личинкове згодовування певного засобу на прояв м'язової дистрофії у дорослих особин. У своїй роботі ми використали 2 % розчин N-АЦ.

У попередніх наших дослідженнях [4] було показано, що 2 % розчин N-АЦ приводить до підвищення показника рухової активності личинок третього віку й імаго дистрофінових мутантів. Так, у личинок показник рухової активності збільшувався на 48 %. Згідно з результатами досліджень, описаними в роботі [2], N-АЦ протидіє втомі організму і м'язів зокрема, проте лише за високих концентрацій препарату. Можливо, 2 % концентрація N-АЦ є високою для дрозофіли і цим пояснюється позитивний вплив даної дози препарату на рухову активність дистрофінових личинок. Після вживання 2 % N-АЦ на стадіях личинки й імаго також зростав індекс рухової активності у гомозиготних і гетерозиготних дистрофінових мутантів порівняно з незатравленим контролем.

Надалі нами було побудовано криві виживання і проаналізовано показники середньої (СТЖ) та максимальної (МТЖ) тривалості життя досліджуваних імаго. Під час побудови кривих виживання особлива увага приділяється плато на кривій. Його наявність вважається характерною ознакою нормального старіння, а закінчення плато і перегин кривої свідчать про інтенсивне відмирання особин. Особливо важливими є показники середньої тривалості життя, високі значення яких свідчать про підтримання періоду активної життєздатності за рахунок певних власних адаптивних механізмів організму, спрямованих проти процесу старіння. Нами було закладено і проаналізовано три групи імаго: 1) група гетерозиготних (*DysDf//Tm6,Tb*) і гомозиготних (*DysDf//DysDf*) мух, що споживали 2 % розчин N-ацетилцистеїну лише в дорослому віці («ДЗ»-група); 2) група гетерозиготних мух, яку піддавали личинковому і дорослому згодовуванню («ЛЗ»-група) 2 % розчином

N-ацетилцистеїну; 3) гетеро- і гомозиготні контрольні групи. Найменші показники СТЖ і МТЖ мали гомозиготні контрольні мухи *DysDf//DysDf* (табл. 1). Середня тривалість життя таких особин становила:  $S_{75}$  – 3 дні,  $S_{50}$  – 13 днів, і  $S_{25}$  – 27 днів. Максимальна тривалість життя сягала 33 днів. Крива виживання таких імаго (рис. 2) плато не мала, спостерігали три різких періоди вимирання особин (на 4-й, 18-й і 31-й дні). Гетерозиготні контрольні мухи мали вищі від гомозигот показники як СТЖ, так і МТЖ (табл. 1), проте нижчі щодо всіх інших груп. Середня тривалість життя особин цієї групи становила:  $S_{75}$  – 12 днів,  $S_{50}$  – 19 днів і  $S_{25}$  – 34 дні. Максимальна тривалість життя досягала 43 днів. Крива виживання (рис. 2) плато не мала.

Таблиця 1

Параметри тривалості життя дослідних ліній (у днях)

| Параметр тривалості життя | Контроль <i>DysDf/TM6,Tb</i> , M±m | <i>DysDf/TM6,Tb</i> , 2% NAC, M±m | Контроль <i>DysDf/DysDf</i> , M±m | <i>DysDf/DysDf</i> , 2% NAC, M±m | <i>Dys Df/TM6</i> , личинкове згодкування 2% NAC, M±m |
|---------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---|
| $S_{75}$                  | 11,52±0,23                         | 33,55±0,19***                     | 3,31±0,21                         | 18,44±0,22***                    | 21,95±0,24***   |
| $S_{50}$                  | 18,97±0,27                         | 41,98±0,26***                     | 12,52±0,31                        | 20,61±0,23***                    | 31,64±0,27***   |
| $S_{25}$                  | 33,85±0,14                         | 48,68±0,22***                     | 27,41±0,29                        | 40,97±0,19***                    | 36,25±0,22***   |
| $S_{max}$                 | 43,5±0,24                          | 54,53±0,29***                     | 32,97±0,33                        | 47,86±0,26***                    | 43,75±0,28**  |

Примітка: \*\*\*  $p \geq 0,999$  – дуже висока ймовірність наявності ефекту

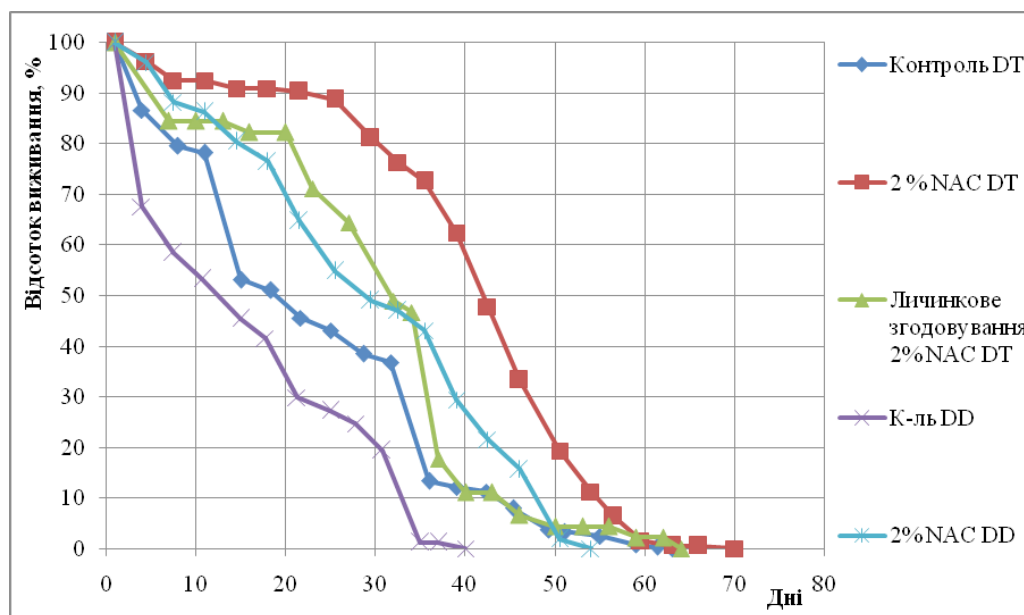


Рис. 2. Криві виживання досліджуваних і контрольних груп дистрофінових мутантів *Drosophila melanogaster*

У гетерозигот *DysDf/TM6,Tb*, яким згодували 2% розчин N-ацетилцистеїну лише в дорослому віці («ДЗ»-група), спостерігали найвищі показники середньої та максимальної тривалості життя (табл. 1), а саме:  $S_{75}$  – 34 дні,  $S_{50}$  – 42 дні,  $S_{25}$  – 49 днів, а максимальна тривалість життя становила 55 днів. Спостерігали плато тривалістю приблизно 20 днів, перегин кривої виживання наставав після 27-го дня життя імаго. Крива мала плавні переходи – різких періодів вимирання не було (рис. 2). У гомозигот, яким згодували 2%

розчин N-ацетилцистеїну лише в дорослому віці, показники СТЖ і МТЖ (табл. 1) були вищими від показників гомозиготних контрольних мух, проте нижчими від показників оброблених гетерозигот. Середня тривалість життя особин цієї групи становила:  $S_{75}$  – 18 днів,  $S_{50}$  – 21 день, і  $S_{25}$  – 41 день. Максимальна тривалість життя сягала 48 днів. Крива виживання (рис. 2) плато не мала, проте не було і різких періодів вимирання.

У табл. 1 представлено показники тривалості життя мух, яких піддавали личинковому та дорослому згодовуванню 2 % розчином N-АЦ («ЛЗ»-група). Як видно з представлених даних, показники СТЖ вищі, ніж у обидвох контрольних груп, проте нижчі, ніж показники СТЖ групи гетерозигот, яким згодовували препарат лише в дорослому віці. МТЖ була такою ж, як і у контролі. Крива виживання мала плато, менше (тривалістю 13 днів) від аналогічного у гетерозигот, що споживали N-АЦ лише в дорослому віці, перегин кривої наставав на 20-й день життя імаго (рис. 2). На 34-й день спостерігали різкий період відмирання. Можна припустити, що N-ацетилцистеїн у мух проявляє негативні побічні наслідки, аналогічні до таких у *mdx*-мишей [9], проте механізми такого ефекту ми не вивчали.

Надалі було виготовлено і проведено аналіз гістологічних зрізів непрямих літальних м'язів тораксу мух лінії дикого типу *Oregon* і ліній дистрофінових мутантів *DysDf/TM6,Tb* і *DysDf/DysDf*, що вживали 2 % N-ацетилцистеїн на стадіях личинки й імаго («ЛЗ»-група) або ж лише на стадії імаго («ДЗ»-група). Зрізи мух виготовляли на 1–3-й і 10–12-й день після вильоту імаго. Аналізували за кількістю сегментів із нормальною та дефектною структурою. Аналіз зрізів показав, що у контролі у 1–3-денних (молодих) мутантів за геном дистрофіну порушена структура м'язів, спостерігається вакуолізація і зниження щільності, що прогресує з віком. У гомозиготних мутантів, відповідно до важчого фенотипу, ступінь порушення м'язів є вищим як візуально, так і статистично, і кількість порушених сегментів у таких мух сягає від 93,8 % в молодому віці до 100 % в 10–12-денному (табл. 2, рис. 3). У гетерозиготних мутантів цей показник становить відповідно 68,5 % (у 1–3-денних) і 75 % (у 10–12-денних імаго) (табл. 2, рис. 3). У лінії *Oregon* показник ступеня пошкодження м'язів у молодих мух дорівнював 6,4 %, а у старих – 20,6 % (табл. 2, рис. 3). Підвищення цього показника у старшої вікової групи, навіть у мух дикого типу, можна пояснити природною дегенерацією м'язів, характерною для процесів старіння.

Таблиця 2

## Результати аналізу гістологічних зрізів м'язів тораксу контрольних груп мух

| Лінія                             | К-ть проаналізованих сегментів | К-ть сегментів із виявленими порушеннями структури м'язів | Ступінь пошкодження м'язів, %<br>M±m |
|-----------------------------------|--------------------------------|---|--------------------------------------|
| <i>Dys Df/TM6,Tb</i> (1-3 дні)    | 54                             | 37  | 68,5±1,7                             |
| <i>Dys Df/TM6,Tb</i> (10-12 днів) | 40                             | 30  | 75,0±2,9                             |
| <i>Dys Df/Dys Df</i> (1-3 дні)    | 32                             | 30  | 93,8±2,4                             |
| <i>Dys Df/Dys Df</i> (10-12 днів) | 45                             | 45  | 100,0±0                              |
| <i>Oregon</i> (1-3 дні)           | 47                             | 3   | 6,4±0,11                             |
| <i>Oregon</i> (10-12 днів)        | 34                             | 7   | 20,6±0,12                            |

**Примітки:** \*  $p \geq 0,95$  – низька ймовірність наявності ефекту; \*\*  $p \geq 0,99$  – висока ймовірність наявності ефекту; \*\*\*  $p \geq 0,999$  – дуже висока ймовірність наявності ефекту

Гетерозиготні дистрофінові мутанти, яких піддавали тільки дорослому згодовуванню N-АЦ («ДЗ»-група), мали такі показники ступеня пошкодження м'язів: 54,2 % у молодих і 66,7 % у 10–12-денних (табл. 3, рис. 4). Гомозиготні мутанти, що споживали препарат таким самим способом, мали ступінь пошкодження відповідно 87,5 % і 91,7 % (табл. 3, рис. 4).

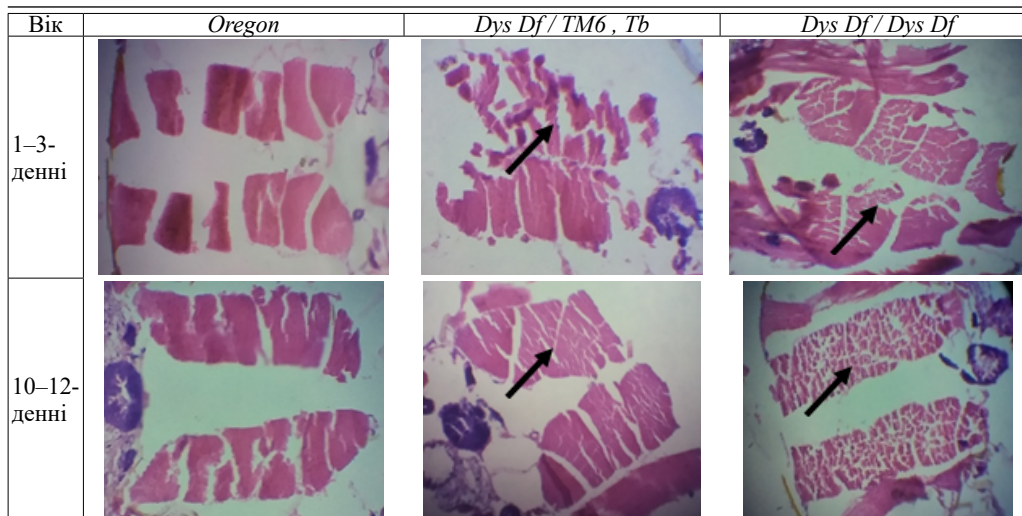


Рис. 3. Фотографії гістологічних зрізів непрямих літальних м'язів контрольних груп особин. Стрілками позначено зони дистрофії м'язів

Таблиця 3

Результати аналізу гістологічних зрізів м'язів тораксу дистрофінових мутантів групи дорослого згодовування 2 % N-ацетилцистеїном

| Лінія                                | К-ть проаналізованих сегментів | К-ть сегментів із виявленими порушеннями структури м'язів | Ступінь пошкодження м'язів, %<br>M±m |
|--------------------------------------|--------------------------------|---|--------------------------------------|
| <i>Dys Df / TM6, Tb</i> (1-3 дні)    | 72                             | 39  | 54,2±1,4***                          |
| <i>Dys Df / TM6, Tb</i> (10-12 днів) | 84                             | 56  | 66,7±1,3***                          |
| <i>Dys Df / Dys Df</i> (1-3 дні)     | 40                             | 35  | 87,5±1,6**                           |
| <i>Dys Df / Dys Df</i> (10-12 днів)  | 36                             | 33  | 91,7±2,2***                          |

**Примітки:** \*\*  $p \geq 0,99$  – висока ймовірність наявності ефекту; \*\*\*  $p \geq 0,999$  – дуже висока ймовірність наявності ефекту

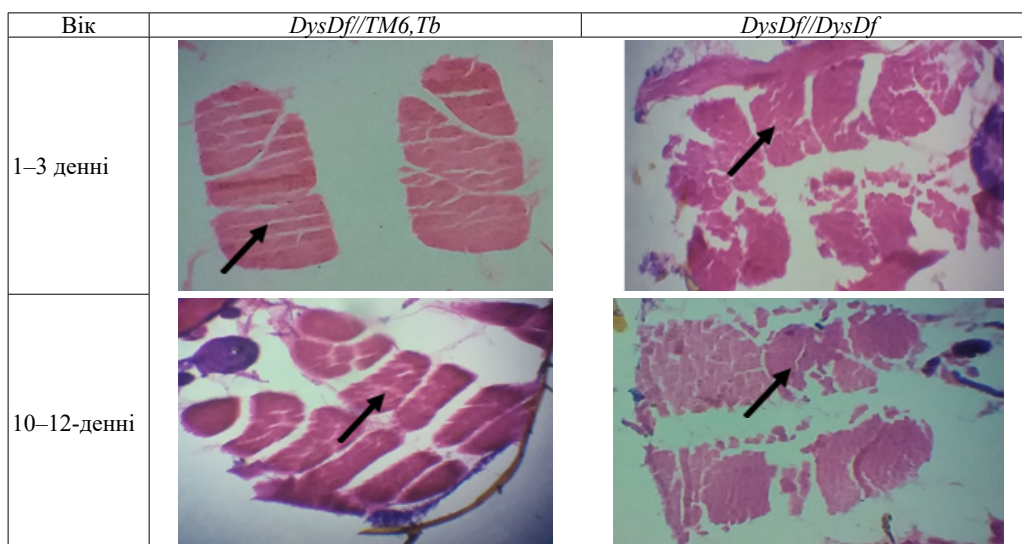


Рис. 4. Фотографії гістологічних зрізів непрямих літальних м'язів дистрофінових мутантів, що споживали 2 % N-АЦ лише в дорослому віці. Стрілками позначено зони дистрофії м'язів

Згодкування препарату на стадіях личинки й імаго («ЛЗ»-група) дало такі результати: показник ступеня пошкодження м'язів для гетерозиготних мутантів становив 40,9 % у 1–3-денних і 70,1 % у 10–12-денних мух (табл. 4, рис. 5). Цей показник у гомозигот *DysDf//DysDf* ЛЗ-групи дорівнював 84,2 % і 90 % відповідно.

Таблиця 4

Результати аналізу гістологічних зрізів м'язів тораксу дистрофінових мутантів групи личинкового згодкування

| Лінія                                 | К-ть проаналізованих сегментів | К-ть сегментів з виявленими порушеннями структури м'язів | Ступінь пошкодження м'язів, %<br>M±m |
|---------------------------------------|--------------------------------|--|--------------------------------------|
| <i>DysDf//TM6, Tb</i><br>(1-3 дні)    | 44                             | 18   | 40,9±1,6***                          |
| <i>DysDf//TM6, Tb</i><br>(10-12 днів) | 77                             | 54   | 70,1±1,0**                           |
| <i>DysDf//Dys Df</i><br>(1-3 дні)     | 38                             | 32   | 84,2±0,9***                          |
| <i>DysDf//Dys Df</i><br>(10-12 днів)  | 80                             | 72   | 90,0±1,1***                          |

Примітка: \*\*\*  $p \geq 0,999$  – дуже висока ймовірність наявності ефекту

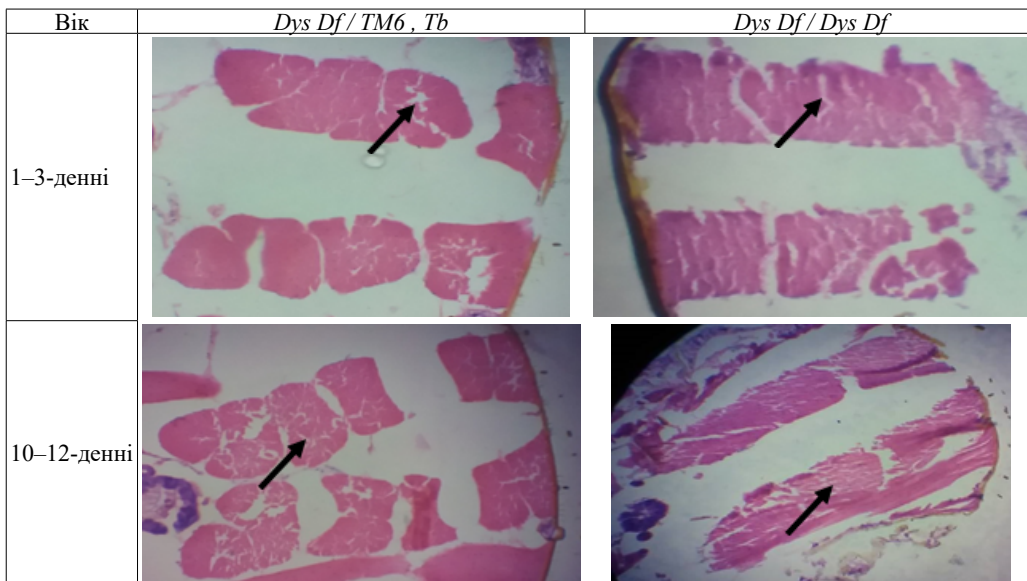


Рис. 5. Фотографії гістологічних зрізів непрямих літальних м'язів дистрофінових мутантів, що споживали 2 % N-АЦ як на стадії личинки, так і в дорослому віці. Стрілками позначено зони дистрофії м'язів

Отже, як доросле, так і личинкове згодкування показали статистично достовірні результати позитивного впливу 2 % розчину N-ацетилцистеїну на стан м'язів, що піддалися деградації. Візуально можна відзначити зменшення вакуолізації клітин, зменшення розпушення м'язової тканини, що були зумовлені проявом дистрофінового фенотипу. Личинкове згодкування проявило кращий ефект у молодих гетерозиготних дистрофінових мутантів, у старшому ж віці більш ефективним було доросле згодкування. Це може свідчити про короткотривалий додатковий позитивний ефект препарату, що зберігається після метаморфозу. Для гомозигот різні способи прийому препарату статистично не відрізнялися.



Таким чином, вживання 2 % N-ацетилцистеїну як на стадії лише імаго, так і на стадіях личинки й імаго приводить до покращення показників середньої та максимальної тривалості життя дистрофінових мутантів і зниження кількості пошкоджених м'язів тораксу. Затравка дистрофінових мутантів на стадії личинки та на стадії імаго виявилась ефективною, тому дані методики можуть бути використані для дослідження впливу інших хімічних препаратів на мутантний дистрофіновий фенотип.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Волкова О. В., Елецький Ю. К. Основы гистологии с гистологической техникой. М.: Медицина, 1982. 304 с.
2. Земцова И., Станкевич Л. Роль тиоловых соединений в поддержании окислительного гомеостаза в процессе спортивной подготовки / Нац. ун-т фізичного виховання і спорту України. К. 2015. С. 37–44.
3. Кучеренко М., Яценко А., Максимів Д., Черник Я. *Drosophila melanogaster* як модельна система для пошуку модифікаторів дистрофін-дистрогліканового комплексу // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2008. Вип. 46. С. 71–77.
4. Орлов Т. К., Голуб Н. Я. Вплив N-ацетилцистеїну на фенотиповий прояв м'язової дистрофії у мутантів *Drosophila melanogaster* // Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології: VI Міжнар. конф. Зб. наук. пр. Харків: ФОП В.В. Петров, 2018. С. 55–58.
5. Рішко В. М., Голуб Н. Я., Черник Я. І. Фенотипи *Drosophila melanogaster*, зумовлені порушеннями функціонування дистрофіну та дистроглікану // Biopolimers and Cell. 2011. № 27 (6). С. 423–431.
6. de Senzi Moraes Pinto R., Ferretti R., Moraes L. N-acetylcysteine treatment reduces TNF-alpha levels and myonecrosis in diaphragm muscle of mdx mice // Clin. Nutr. 2013. N 32. P. 472–475.
7. Horvath D. M., Murphy R. M., Mollica J. P. The effect of taurine and beta-alanine supplementation on taurine transporter protein and fatigue resistance in skeletal muscle from mdx mice // Amino Acids. 2016. N 48. P. 2635–2645.
8. Matthews E., Brassington R., Kuntzer T. et al. Corticosteroids for the treatment of Duchenne muscular dystrophy // Cochrane Database Syst Rev. 2016. May 5 (5): CD003725. doi: 10.1002/14651858.CD003725.pub4.
9. Pinniger G. J., Terrill J. R., Assan E. B. et al. Pre-clinical evaluation of N-Acetylcysteine-reveals side effects in the mdx mouse model of Duchenne muscular dystrophy // J. Physiol. 2017. N 595 (23). P. 7093–7107.
10. Roberts D. B. *Drosophila*: a partial approach // Oxford: Oxford University Press, 1998. P. 341.
11. Terrill J., Boyatzis A., Grounds M. et al. Treatment with the cysteine precursor l-2-oxothiazolidine-4-carboxylate (OTC) implicates taurine deficiency in severity of dystrotopathology in mdx mice // Int. J. Biochem. Cell Biol. 2013. N 45. P. 2097–2108.
12. Terrill J., Radley-Crabb H., Grounds M. N-Acetylcysteine treatment of dystrophic mdx mice results in protein thiol modifications and inhibition of exercise induced myofibre necrosis // Neuromusc. Disord. 2012. N 22. P. 427–434.
13. Whitehead N., Pham C., Gervasio O. N-Acetylcysteine ameliorates skeletal muscle pathophysiology in mdx mice // J. Physiol. 2008. N 586. P. 2003–2014.
14. Wilson K., Faelan C., Patterson-Kane J. et al. Duchenne and Becker muscular dystrophies: a review of animal models, clinical end points, and biomarker quantification // Toxicol. Pathol. 2017. N 45 (7). P. 961–976.



15. Wood C., Straub V., Guglieri M. et al. Short stature and pubertal delay in Duchenne muscular dystrophy // Arch. Dis. Child. 2016. N 101. P. 101–106.
16. <http://flybase.bio.indiana.edu>

Стаття: надійшла до редакції 07.02.19

доопрацьована 01.04.19

прийнята до друку 03.04.19

### CHANGE OF LIFE SPAN AND MUSCLES STRUCTURE IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* DYSTROPHY MUTANTS UNDER THE INFLUENCE OF N-ACETYLCYSTEINE

T. Orlov, N. Holub

*Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: natalieholub@gmail.com*

Muscular dystrophies are group of diseases that are caused by mutations in various genes. The most severe of myopathy is Duchenne muscular dystrophy (MMD) which occurs as a result of mutations (often deletions and insertions) in the dystrophin gene. This disease is characterized by inflammation and necrosis of muscle fibers as well as oxidative stress. Admission of corticosteroids remains the standard therapeutic method of MDD treatment [8, 14], and although they produce minor improvements in muscle strength and muscle function, numerous side effects associated with long-term steroid therapy require the study of alternative treatments. The gene-therapeutic methods of treatment of this disease are expensive and inaccessible to many patients. Therefore minimizing oxidative stress is a promising approach to improve muscle function in patients with DMD. N-acetylcysteine (N-AC) – an amino acid which has a direct antioxidant effect.

We investigated the influence of 2 % N-acetylcysteine solution on the phenotypic manifestation of myopathy in *Drosophila melanogaster* *DysDf/TM6, Tb* and *DysDf/DysDf* mutant strains which have deleted the dystrophin gene. The seed was carried out either only at the imago stage or at the stages of the larva and imago. It was shown that in this concentration, N-AC results in an increasing in both the mean and maximum life spans of homo- and heterozygous mutants compared to the untreated control in both feeding methods. Moreover, feeding only at the stage of the imago was more effective. Both adult and larval feeding of 2 % N-acetylcysteine led to an improvement in the condition of the muscles that were subjected to degradation: decreased vacuolation of cells, decreased number of damaged muscles. However the number of damaged muscles increased with age both in experimental imago and in control. Larval feeding was the best effect in young heterozygous dystrophin mutants while the adult feeding was more effective in the older age. This may show a short-term additional positive effect of the drug that persists after metamorphosis. For homozygote different methods of taking the drug were not statistically different, which is probably due to the complexity of the original phenotype. So, the feeding of 2 % of N-acetylcysteine, both at the larval stage and at the stage of the imago, had a positive effect on the manifestation of muscular dystrophy in *Drosophila melanogaster*, and *Drosophila* can be used as a model for studying the influence of other chemical compounds for the treatment of this disease.

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, N-acetylcysteine, muscular dystrophy, life span, muscular structure