

PACS numbers: 81.16.Fg, 82.39.Jn, 87.16.dp, 87.16.dr, 87.16.Tb, 87.19.Ff, 87.64.Dz

## Вплив фуллеренів $C_{60}$ на механокінетичні та біохемічні параметри скорочення *muscle soleus* хронічно алкоголізованих щурів з експериментально індукованою ішемією

Д. М. Ноздренко<sup>1</sup>, С. Ю. Зай<sup>2</sup>, О. П. Мотузюк<sup>2</sup>, К. І. Богуцька<sup>1</sup>,  
О. В. Ільченко<sup>1</sup>, Ю. І. Прилуцький<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
вул. Володимирська, 64,  
01033 Київ, Україна

<sup>2</sup>Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки,  
просп. Волі, 13,  
43025 Луцьк, Україна

У роботі досліджено та проаналізовано вплив водорозчинних фуллеренів  $C_{60}$  (ентерогастральне введення, загальна терапевтична доза — 5 мг/кг) на механокінетичні та біохемічні параметри скорочення камбалоподібного м'яза (*musculus soleus*) алкоголізованих щурів-самців лінії Wistar (масою у 140–160 г) за ішемії тривалістю у 1 і 2 години. Для оцінювання загального фізіологічного стану пошкодженого м'яза визначали рівні креатиніну, креатинфосфокінази та лактатдегідрогенази у крові тварин. Встановлено, що протекторна дія фуллеренів  $C_{60}$  як потужних антиоксидантів є найбільш ефективною за ішемії м'яза початкового ступеня тяжкості (тривалістю в 1 годину) на тлі алкогольної міопатії.

The influence of water-soluble  $C_{60}$  fullerenes (after enterogastric administration with total therapeutic dose of 5 mg/kg) on the mechanokinetic and biochemical parameters of the soleus muscle contraction in alcoholised male rats of Wistar line (with masses of 140–160 g) during ischemia within 1 and 2 hours is studied and analysed. The creatinine, creatine phosphokinase and lactate dehydrogenase levels within the blood of animals are determined to assess the general physiological state of the damaged muscle. As revealed, the protective effect of  $C_{60}$  fullerenes as the powerful antioxidants is most effective under the ischemia of muscle of the initial severity degree (with duration of 1 hour) against the background of alcoholic myopathy.

В работе исследовано и проанализировано влияние водорастворимых фуллеренов  $C_{60}$  (энтерогастральное введение, общая терапевтическая доза — 5 мг/кг) на механокинетические и биохимические параметры сокращения камбаловидной мышцы (*musculus soleus*) алкоголизированных

крыс-самцов линии Wistar (массой 140–160 г) при ишемии продолжительностью 1 и 2 часа. Для оценки общего физиологического состояния повреждённой мышцы определяли уровень креатинина, креатинфосфокиназы и лактатдегидрогеназы в крови животных. Установлено, что протекторный эффект фуллеренов  $C_{60}$  как мощных антиоксидантов является наиболее эффективным при ишемии мышцы начальной степени тяжести (продолжительность — 1 час) на фоне алкогольной миопатии.

**Ключові слова:** фуллерен  $C_{60}$ , камбалоподібний м'яз, алкогольна міопатія, ішемія, механокінетичні та біохемічні параметри скорочення м'яза.

**Key words:**  $C_{60}$  fullerene, soleus muscle, alcoholic myopathy, ischemia, mechanokinetic and biochemical parameters of muscle contraction.

**Ключевые слова:** фуллерен  $C_{60}$ , камбаловидная мышца, алкогольная миопатия, ишемия, механокинетические и биохимические параметры сокращения мышцы.

*(Отримано 23 травня 2018 р.; після доопрацювання — 6 вересня 2018 р.)*

## 1. ВСТУП

Ішемія — один з найпоширеніших патологічних станів, який розвивається у посмугованих скелетних м'язах внаслідок раптового припинення їхнього кровопостачання. У процесі розвитку ішемічно-реперфузних пошкоджень м'язової тканини достатньо значну патогенну роль відіграють вільні радикали, зокрема супероксид-аніон і гідроксид-радикал: вони ініціюють перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), інгібують мітохондріяльні ферменти дихального ланцюга й АТФ-азну активність, інактивують гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназу, мембранні натрійові канали тощо [1]. Активні форми кисню (АФК) відіграють ключову роль у запуску біохемічного каскаду індукції апоптозу клітини та, поєднуючись між собою, здатні викликати значні токсичні ураження. З розвитком алкогольної міопатії руйнівний вплив етанолу й ацетальдегіду на скелетні м'язи та міокард проявляються у посиленні процесів ПОЛ, ініціюючи надмірне утворення АФК і розвиток окисного стресу [2]. З виникненням ішемічної травми ці процеси не лише ускладнюють патологічний стан м'язової системи, але й унеможливають ідентифікування ступеня тяжкості ішемії, що ускладнює її терапію.

Сьогодні значну зацікавленість викликає нова алотропна модифікація вуглецю — фуллерени  $C_{60}$ , яким притаманні унікальні фізико-хімічні властивості та біологічна активність [3–5]. Завдяки майже сферичній формі, нанорозміру та гідрофобним властивостям молекула  $C_{60}$  здатна проникати через клітинні мембрани та локалізуватися всередині клітини, а завдяки наявності кон'югованої системи подвійних міжкарбонів зв'язків — взаємодіяти з АФК та

ефективно нейтралізувати їх [6–9].

Фуллерени  $C_{60}$  проявляють потужнішу дію, аніж найефективніший природний антиоксидант — вітамін *E*, у профілактиці ішемічних травм, запобігаючи пошкодженню цілісності мембран і, таким чином, сприяють підтримці трансмембранного потенціалу [10, 11]. Встановлено, що водорозчинні фуллерени  $C_{60}$  здатні виявляти дозозалежний захисний ефект проти окисно-опосередкованої травми. Так, за допомогою біохемічних і фізіологічних методик підтверджено їхню протекторну дію у тканинах серця та печінки [12]. При цьому низькі дози є більш ефективними, що, ймовірно, зумовлено тим, що великі дози повільніше всмоктуються з кишечника [13].

Водорозчинні фуллерени  $C_{60}$  проявляють захисний ефект за нейродегенерації різноманітної етіології, зокрема спостерігається значне зростання толерантності нервової тканини до гіпоксії через вплив на гени, які відповідальні за збільшення експресії глутаматних метаболітичних рецепторів та аденозину [14, 15]. Це достатньо важливо, адже одним з головних аспектів ефективного відновлення функціонування скелетного м'яза після ішемічного пошкодження є збереження стану нерва, що іннервує м'яз.

Показано, що введення водних розчинів гідратованих фуллеренів  $C_{60}$  (з концентрацією у 30 нМ, що еквівалентно 21,6 мг/мл у питній воді) за хронічної алкоголізації щурів захищає тканини ЦНС від пошкоджень, викликаних окислювальним стресом, запобігає патологічній втраті астроцитів і гліяльних фібрилярних кислих білків (GFAP, маркерів астроцитів) та, як наслідок, завдяки адаптогенним ефектам значно поліпшує поведінкову (емоційну) реакцію, викликану хронічним вживанням алкоголю [16, 17]. Виявлені ефекти є важливими для запобігання м'язовій дегенерації, характерній за тривалої алкоголізації, особливо за необхідності швидкого відновлення функціонування пошкодженого м'яза після припинення надходження етилового спирту.

Таким чином, захисна дія фуллеренів  $C_{60}$  у вигляді ін'єкції водного колоїдного розчину їх є перспективною для його застосування у терапії ішемічних пошкоджень скелетних м'язів на тлі хронічної алкоголізації.

## 2. МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

Для дослідження були використані щурі-самці лінії Wistar масою у 140–160 г. Протокол дослідження був затверджений комісією з питань біоетики КНУ імені Тараса Шевченка (протокол № 3 від 19.10.2017 р., м. Київ), згідно з правилами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» і нормами біомедичної етики згідно із Законом України (№ 3446-IV від 21.02.2006 р., м. Київ)

«Про захист тварин від жорстокого поводження» при проведенні медико-біологічних досліджень.

Тварини, відібрані для експерименту, були розділені на 8 експериментальних груп:

- інтактні тварини ( $n = 10$ );
- алкоголізовані тварини ( $n = 10$ );
- тварини з експериментально індукованою ішемією тривалістю в 1 годину ( $n = 10$ );
- тварини з експериментально індукованою ішемією тривалістю у 2 години ( $n = 10$ );
- алкоголізовані тварини з експериментально індукованою ішемією тривалістю в 1 годину ( $n = 10$ );
- алкоголізовані тварини з експериментально індукованою ішемією тривалістю в 1 годину й ентерогастральним введенням водного розчину фуллеренів  $C_{60}$  ( $C_{60}$ ФВР) упродовж 5 днів ( $n = 10$ );
- алкоголізовані тварини з експериментально індукованою ішемією тривалістю у 2 години ( $n = 10$ );
- алкоголізовані тварини з експериментально індукованою ішемією тривалістю у 2 години й ентерогастральним введенням  $C_{60}$ ФВР упродовж 5 днів ( $n = 10$ ).

## 2.1. Модель індукції хронічної алкогольної інтоксикації

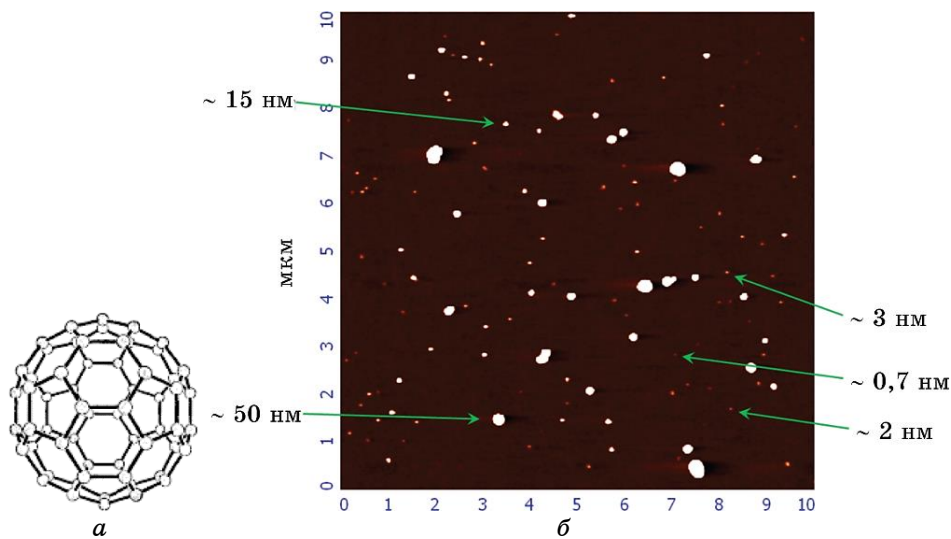
Упродовж 30 днів щурі один раз на добу отримували 40% етиловий спирт, одержаний шляхом розведення 96% етилового спирту («Біо-Фарма ЛТД», Україна) дистильованою водою з розрахунку 2 мл/100 г маси тіла тварини. Для введення 40% етилового спирту використовували металевий катетер.

Тварини з контрольної інтактної групи аналогічним чином отримували еквівалентний об'єм дистильованої води.

## 2.2. Методика введення водного розчину фуллеренів $C_{60}$

Для одержання  $C_{60}$ ФВР було застосовано методу, яка ґрунтується на переведенні молекул  $C_{60}$  з толуолу у воду з подальшим обробленням ультразвуком [5, 18]. За допомогою атомно-силової мікроскопії (АСМ) було показано, що такі  $C_{60}$ ФВР є полідисперсними системами, які містять як поодинокі молекули діаметром у 0,7 нм, так і об'ємні агрегати розміром у 2–50 нм (рис. 1).

$C_{60}$ ФВР (концентрація молекул  $C_{60}$  у воді — 0,15 мг/мл) дозою в 1 мг/кг вводили ентерогастрально упродовж 5 останніх днів алкоголізації перед ішемією. Така технологія введення тваринам  $C_{60}$ ФВР ґрунтується на тому, що молекули  $C_{60}$ , яких вводили внутрішньочеревно щурам, виводилися з організму впродовж 2–4 діб [6]. Вибрана



**Рис. 1.** Модельна структура молекули  $C_{60}$  (а); АСМ-зображення поодиноких  $C_{60}$  фуллеренів та їх наночастинок (агрегатів) у воді за концентрації у 0,15 мг/мл. Матеріал підкладинки — слюда (б).<sup>1</sup>

концентрація базується на експериментально встановлених даних, які виявили високу протипухлинну та гепатопротекторну дію фуллеренів  $C_{60}$  за кумулятивної дози у 5–7,5 мг/кг тварини [12, 19]. Варто зазначити, що використана доза фуллерену  $C_{60}$  у наших експериментах була значно нижчою за значення LD50, яке за перорального введення щурам становила 500 мг/кг ваги тіла [6].

### 2.3. Модель індукції ішемії

Експериментальну індукцію ішемії здійснювали через 30 днів після початку хронічної алкоголізації шляхом перетискування джгутом зовнішньої клубової артерії (*arteria iliaca externa*), стегнової артерії (*arteria femoralis*) та її каудальних терміналей на рівні гомілки. Час ішемізації у щурів піддослідних груп становив 1 та 2 години.

### 2.4. Вимірювання сили скорочення м'яза

Силу скорочення м'яза вимірювали за допомогою тензодатчиків [20]. Стимуляцію еферентів у сегментах L7-S1 здійснювали електричними імпульсами тривалістю у 2 мс та частотою у 2 Гц упродовж 30 хвилин. Контроль зовнішнього навантаження на м'яз здійснювали за допомогою системи механостимуляторів [21].

## 2.5. Визначення біохемічних параметрів крові тварин

Рівні вмісту ферментів у крові експериментальних тварин як маркерів м'язової деструкції визначали з використанням клініко-діагностичного обладнання. Зокрема, вміст креатиніну, креатинфосфокінази та лактатдегідрогенази визначали за допомогою кінетичної методи Яффе, імуного гальмування та кінетичної фотометричної методи відповідно [22].

## 2.6. Статистична аналіза даних

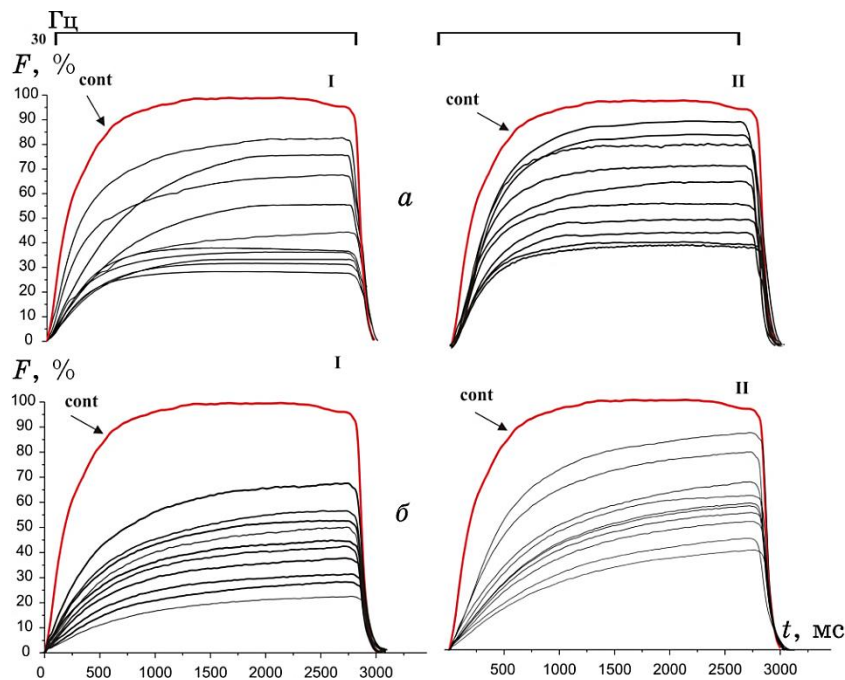
Статистичну аналізу результатів вимірювання здійснювали методами варіаційної статистики у програмі Statistica 10.0. ('Statsoft Inc.', США). Перевірку вибірок на їхню приналежність до нормального розподілу генеральних сукупностей здійснювали за допомогою критерію Шапіро–Вілка. Для визначення достовірних відмінностей між середніми величинами вибірок використовували Стьюдентів  $t$ -критерій. Вірогідними вважали відмінності за  $p \leq 0,05$ .

## 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

### 3.1. Механокінетичні дослідження

За ішемії тривалістю в 1 годину м'язи хронічно алкоголізованих щурів виявляють чітку тенденцію до зменшення силової відповіді впродовж усього експерименту (рис. 2). Водночас, рівень її зменшення відрізняється зі збільшенням тривалості експерименту. Так, у першій половині експериментального тесту силова відповідь м'яза спадає порівняно з контролем на 10–15% з кожним наступним пробігом, а в другій половині перебуває на відносно сталому рівні. Загалом, на половині тесту (п'яте тетанічне скорочення) сила скорочення ішемізованого м'яза складає 45%, а в кінці експерименту (десяте тетанічне скорочення) — 30% від контрольного значення. Тобто впродовж експерименту досліджуваний м'яз втрачає приблизно 70% сили від вихідного значення.

Виявлено виражений захисний вплив фуллеренів  $C_{60}$  на розвиток силової відповіді м'яза за ішемії тривалістю в 1 годину, який проявляється не лише у підтриманні її на достатньо високому рівні, але й у відновленні її динаміки (рис. 2). Так, пониження силової відповіді відбувається поступово, без різких флюктуаційних змін упродовж усього експерименту, на відміну від групи тварин без впливу  $C_{60}$ ФВР. Загалом, силова відповідь м'яза на п'ятому скороченні знижується до 65% і на завершення експерименту досягає 40% від вихідного рівня. Водночас, зміни розвитку силової відповіді на різ-



**Рис. 2.** Зміна силової відповіді *muscle soleus* хронічно алкоголізованих щурів з експериментально індукованою ішемією тривалістю в 1 (а) та 2 (б) години за дії  $C_{60}$ ФВР: I — хронічно алкоголізовані тварини з ішемією; II — хронічно алкоголізовані тварини з ішемією й ентерогастральним введенням  $C_{60}$ ФВР.  $F$  — сила тетанічного скорочення (у %);  $t$  — час скорочення м'яза (мс); Гц — частота надходження імпульсів (імпл/с) з генератора імпульсів електричного стимулятора; cont — контрольне значення сили скорочення м'яза, прийняте за 100%.<sup>2</sup>

них часових фазах тетанічного скорочення були слабо виражені.

Зі збільшенням часу ішемії до 2 годин (рис. 2) рівень патологічних порушень, які відбуваються у м'язових волокнах, зростає, що призводить до швидшого пониження силової відповіді, аніж за 1-годинної ішемії (рис. 2). Так, вже у першому тетанічному скороченні силова відповідь м'яза спадає на 30–35% від контрольного значення. Таке різке зменшення силової відповіді може бути пов'язане з дезорганізацією ультраструктури макромолекулярного апарату скорочення–розслаблення ішемізованого м'яза, що впливає на його швидко-силові характеристики і призводить до недостатності силової відповіді м'яза загалом.

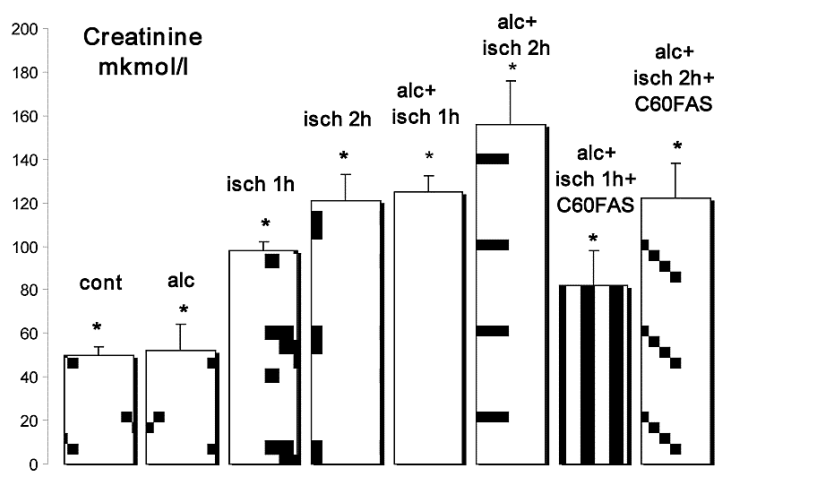
За ішемії тривалістю у 2 години й ентерогастрального введення  $C_{60}$ ФВР спостерігається різкий спад силової відповіді після перших двох–трьох скорочень, після чого вона понижується поступово (рис. 2). Загалом, силова відповідь м'яза знаходиться на

відносно високому рівні, порівняно з групою без впливу  $C_{60}$ ФВР, упродовж усього експерименту. Так, на початку експерименту силова відповідь м'яза лише на 20% менша за вихідний рівень; після п'ятого тетанічного скорочення вона досягає 55%, а в кінці експериментального тесту — 35% від вихідного рівня.

Отже, аналіза кривих генерування силової відповіді камбалоподібного м'яза хронічно алкоголізованих тварин з експериментально індукованою ішемією свідчить про істотне пониження її відносно контролю. Водночас, рівень протекторного ефекту фуллеренів  $C_{60}$  за ішемії тривалістю в 1 і 2 години перебуває приблизно на однаковому рівні.

### 3.2. Біохемічні дослідження

Креатинін утворюється у м'язах при руйнуванні креатину, який забезпечує організм енергією. У випадку ішемічно-реперфузної травми скелетних м'язів зростає кількість вивільненого креатиніну з пошкодженої м'язової тканини у кров. Збільшення рівня креатиніну спостерігається від 50  $\mu\text{mol/l}$  у контролі до 98 і 121  $\mu\text{mol/l}$  за 1- та 2-годинної ішемізації відповідно. Це свідчить про наявність тяжких механічних руйнувань м'язових волокон щура (рис. 3). За ішемізації алкоголізованих тварин ці показники зростають до 125 і



**Рис. 3.** Рівні креатиніну у крові досліджуваних тварин: cont — інтактні тварини; alc — алкоголізовані тварини; isch (1h, 2h) — ішемізовані тварини упродовж 1 та 2 годин;  $C_{60}$ FAS — тварини після ентерогастрального введення  $C_{60}$ ФВР. Значення представляють собою середнє  $\pm$  SEM,  $n = 10$ ; \* $p < 0,05$  порівняно з контрольними тваринами; \*\* $p < 0,05$  порівняно з експериментальними групами без використання  $C_{60}$ ФВР.<sup>3</sup>



156  $\mu\text{моль/л}$  відповідно, що вказує на істотний вплив на патологічні процеси алкогольної міопатії. При аналізі кількості ферменту після ін'єкції тваринам C<sub>60</sub>ФВР істотне пониження (82  $\mu\text{моль/л}$ ) її величини відмічається лише у дослідях з 1-годинною ішемізацією. Зі збільшенням часу ішемії до 2 годин протекторна дія фуллеренів C<sub>60</sub> стає менш істотною (122  $\mu\text{моль/л}$ ) порівняно з патологічним станом (156  $\mu\text{моль/л}$ ) (рис. 3).

Аналогічна ситуація виявляється при аналізі кількості креатинфосфокінази — ферменту, що каталізує перенесення фосфатної групи з АТФ на креатин з утворенням креатинфосфату, який є високоенергетичним субстратом. При пошкодженні м'язів спостерігається вивільнення цього ферменту з клітин у кров. На нашу думку, зростання вмісту креатинфосфокінази з 789 одиниць/л (контроль) до 1178 та 1346 одиниць/л за 1- та 2-годинної ішемізації відповідно (рис. 4) є результатом патологічного руйнування стінок міоцитів з частковим вивільненням внутрішньоміоцитних ферментів в екстрацелюлярний простір. Каскад цих процесів зростає за алкогольної міопатії. Кількість ферменту в алкоголізованих щурів збільшується до 1296 та 1482 одиниць/л за 1- та 2-годинної ішемізації відповідно. Інактивацію цих процесів можна пояснити зменшенням кількості цього ферменту за ін'єкції тваринам потужного антиоксиданта — фуллерену C<sub>60</sub> — до 1021 та 1307 одиниць/л за 1- та 2-годинної ішемізації відповідно.

Лактатдегідрогеназа каталізує окиснення молочної кислоти до пірувату з утворенням NADH. При захворюваннях, що супроводжуються пошкодженням тканин і руйнуванням клітин, активність лактатдегідрогенази у крові підвищується. Її рівень зростає

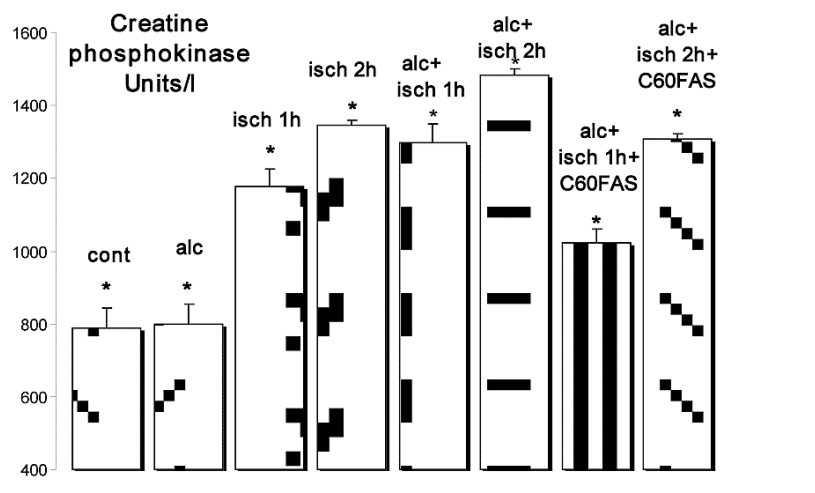
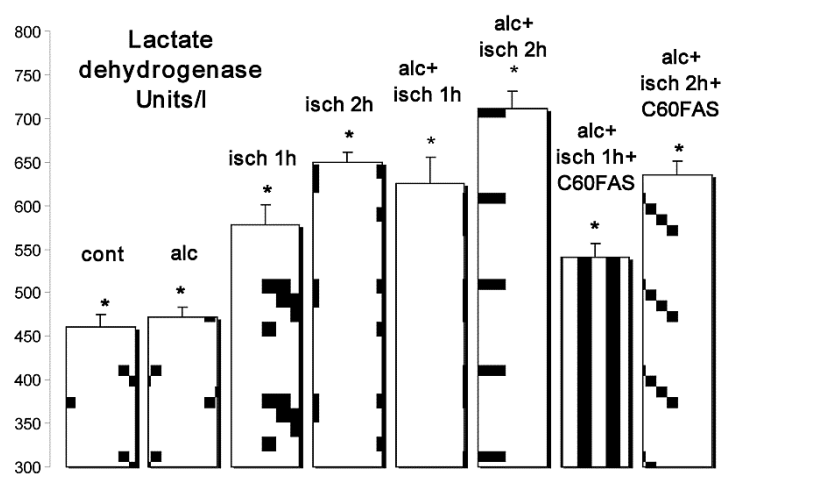


Рис. 4. Рівні креатинфосфокінази у крові досліджуваних тварин. Усі позначення — такі ж, як на рис. 3.<sup>4</sup>



**Рис. 5.** Рівні лактатдегідрогенази у крові досліджуваних тварин. Усі позначення — такі ж, як на рис. 3.<sup>5</sup>

від 461 одиниць/л (контроль) до 578 та 649 одиниць/л за ішемізації упродовж 1 та 2 годин відповідно (рис. 5). Подальше зростання цього ферменту спостерігалось при аналізі алкоголізованих щурів — до 625 та 711 одиниць/л відповідно. Водночас, ін'єкція тваринам С60ФВР викликала істотне зменшення його вмісту до 541 та 635 одиниць/л за 1- та 2-годинної ішемізації відповідно.

Результати проведених досліджень виявили значний протекторний ефект водорозчинних фуллеренів С<sub>60</sub> на розвиток патологічних змін в ішемізованих м'язах тварин за алкогольної міопатії, що пов'язаний з вираженими їхніми антиоксидантними властивостями. Ступінь цих змін мінімізується у випадку ішемії тривалістю в 1 годину або ж є незначною у випадку ішемії тривалістю у 2 години. Зменшення протекторного впливу С<sub>60</sub>ФВР може бути пов'язане з надмірним утворенням АФК у досліджуваних скелетних м'язах, спричиненим синергічним впливом двох патологій.

Можна також припустити, що протекторний ефект С<sub>60</sub>ФВР зумовлений не лише здатністю пригнічувати процеси ПОЛ, що призводить до порушення цілісності клітинних мембран і, як наслідок, підвищення проникності клітинних мембран і розвитку клітинного набряку, але й частково здатністю молекул С<sub>60</sub> впливати на перебіг запального процесу через макрофагічну ланку [23–25].

#### 4. ВИСНОВКИ

Отже, ішемічне пошкодження м'яза на тлі алкогольної міопатії

призводить до його значних функціональних змін, причиною яких є виснаження клітинних енергетичних субстанцій, особливо розпад АТФ, та зміна концентрації кальцію у міоплазмі, що призводить до різкого порушення гомеостазу та втрати йонного градієнту через клітинні мембрани, а також зменшення кількості поперечних актин-міозинових містків, які утворюються під час скорочення. Ці патологічні зміни опосередковані дією АФК, які пошкоджують клітинні компоненти, зокрема сарколеми та мітохондрії, на тлі пригнічення антиоксидантних систем організму. Виражений протекторний ефект водорозчинних фуллеренів C<sub>60</sub> на механокінетичні та біохемічні показники ішемізованого м'яза алкоголізованих щурів можна пояснити їх мембранотропними та потужними антиоксидантними властивостями.

Протекторна дія C<sub>60</sub>ФВР за оптимальної терапевтичної дози у 1 мг/кг виявилася найбільш ефективною у випадку ентерогастрального введення тваринам (упродовж 5 днів) за ішемії м'яза початкового ступеня тяжкості (у нашому випадку — тривалістю в 1 годину) на тлі алкогольної міопатії.

Одержані результати можуть бути корисними у подальшому вивченні деградації скорочувальної функції м'язів, а також пошуку нових ефективних наноагентів у терапії порушень роботи опорно-рухового апарату, пов'язаних із ішемічними пошкодженнями на тлі алкогольної інтоксикації організму.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА—REFERENCES

1. S. Cuzzocrea, D. P. Riley, A. P. Caputi, and D. Salvemini, *Pharmacol. Rev.*, **53**, No. 1: 135 (2001).
2. W. A. Paradise, B. J. Vesper, A. Goel, J. D. Waltonen, K. W. Altman, G. K. Haines, and J. A. Radosevich, *Int. J. Mol. Sci.*, **11**, No. 7: 2715 (2010); doi: 10.3390/ijms11072715.
3. P. Scharff, L. Carta-Abelmann, C. Siegmund, O. P. Matyshevska, S. V. Prylutska, T. V. Koval, A. A. Golub, V. M. Yashchuk, K. M. Kushnir, and Yu. I. Prylutsky, *Carbon*, **42**, Nos. 5–6: 1199 (2004).
4. V. V. Turov, V. F. Chehun, T. V. Krupskaya, V. N. Barvinchenko, S. V. Chehun, A. P. Ugnichenko, Yu. I. Prylutsky, P. Scharff, and U. Ritter, *Chem. Phys. Lett.*, **496**, Nos. 1–3: 152 (2010).
5. U. Ritter, Yu. I. Prylutsky, M. P. Evstigneev, N. A. Davidenko, V. V. Cherepanov, A. I. Senenko, O. A. Marchenko, and A. G. Naumovets, *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct.*, **23**, No. 6: 530 (2015).
6. N. Gharbi, M. Pressac, M. Hadchouel, H. Szwarc, S. R. Wilson, and F. Moussa, *Nano Lett.*, **5**, No. 12: 2578 (2005).
7. D. Franskevych, K. Palyvoda, D. Petukhov, S. Prylutska, I. Grynyuk, C. Schuetze, L. Drobot, O. Matyshevska, and U. Ritter, *Nanoscale Res. Lett.*, **12**: 40 (2017); doi: 10.1186/s11671-016-1819-5.
8. I. V. Vereshchaka, N. V. Bulgakova, A. V. Maznychenko, O. O. Gonchar, Yu. I. Prylutsky, U. Ritter, W. Moska, T. Tomiak, D. M. Nozdrenko,

- I. V. Mishchenko, and A. I. Kostyukov, *Front. Physiol.*, **9**: 517 (2018); doi: 10.3389/fphys.2018.00517.
9. S. V. Eswaran, *Current Sci.*, **114**, No. 9: 1846 (2018).
  10. I. C. Wang, L. A. Tai, D. D. Lee, P. P. Kanakamma, C. K.-F. Shen, T. Y. Luh, Ch. H. Cheng, and K. C. Hwang, *J. Med. Chem.*, **42**, No. 22: 4614 (1999).
  11. H. Amani, R. Habibey, S. J. Hajmiresmail, S. Latifi, H. Pazoki-Toroudi, and O. Akhavan, *J. Mater. Chem. B*, **5**: 9452 (2017); doi: 10.1039/c7tb1689a.
  12. T. I. Halenova, I. M. Vareniuk, N. M. Roslova, M. E. Dzerzhynsky, O. M. Savchuk, L. I. Ostapchenko, Yu. I. Prylutsky, U. Ritter, and P. Scharff, *RSC Adv.*, **6**: 100046 (2016); doi: 10.1039/c6ra20291h.
  13. S. Y. Zay, D. A. Zavodovskiy, K. I. Bogutska, D. N. Nozdrenko, and Y. I. Prylutsky, *Fiziol. Zh.*, **62**, No. 3: 66 (2016) (in Ukrainian).
  14. D. Giust, D. Leyn, I. Ballesteros-Yacez, T. Da Ros, and J. L. Albasanz, *ACS Chem. Neurosci.*, **2**, No. 7: 363 (2011); doi: 10.1021/cn200016q.
  15. D. Giust, T. Da Ros, M. Martin, and J. L. Albasanz, *J. Nanobiotechnol.*, **12**: 27 (2014); doi: 10.1186/s12951-014-0027-7.
  16. A. A. Tykhomyrov, V. S. Nedzvetsky, V. K. Klochkov, and G. V. Andrievsky, *Toxicol.*, **246**, Nos. 2–3: 158 (2008).
  17. D. O. Minchenko, S. V. Prylutska, M. Moenner, O. H. Minchenko, Yu. I. Prylutsky, Ch. Schütze, and U. Ritter, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, **44**, Nos. 2–3: 150 (2013).
  18. Yu. I. Prylutsky, V. M. Yashchuk, K. M. Kushnir, A. A. Golub, V. A. Kudrenko, S. V. Prylutska, I. I. Grynyuk, E. V. Buzaneva, P. Scharff, T. Braun, and O. P. Matyshevska, *Mater. Sci. Engineer. C*, **23**, Nos. 1–2: 109 (2003).
  19. S. Prylutska, L. Skivka, G. Didenko, Yu. Prylutsky, M. Evstigneev, G. Potebnya, R. Panchuk, R. Stoika, U. Ritter, and P. Scharff, *Nanoscale Res. Lett.*, **10**, No. 1: 499 (2015); doi: 10.1186/s11671-015-1206-7.
  20. D. M. Nozdrenko, M. S. Miroshnychenko, V. M. Soroca, L. V. Korchinska, and D. O. Zavodovskiy, *Ukr. Biochem. J.*, **88**, No. 2: 82 (2016); doi: 10.15407/ubj88.02.082.
  21. D. M. Nozdrenko, O. M. Abramchuk, V. M. Soroca, and N. S. Miroshnichenko, *Ukr. Biochem. J.*, **87**, No. 5: 38 (2005); doi: 10.15407/ubj87.05.038.
  22. V. F. Samanidou, A. S. Metaxa, and I. N. Paradoyan, *J. Liq. Chromatogr. A*, **25**, No. 1: 43 (2002).
  23. G. Didenko, S. Prylutska, Y. Kichmarenko, G. Potebnya, Y. Prylutsky, N. Slobodyanik, U. Ritter, and P. Scharff, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, **44**, Nos. 2–3: 124 (2013).
  24. D. M. Nozdrenko, K. I. Bogutska, Y. I. Prylutsky, V. F. Korolovych, M. P. Evstigneev, U. Ritter, and P. Scharff, *Fiziol. Zh.*, **61**, No. 2: 48 (2015).
  25. D. M. Nozdrenko, D. O. Zavodovskiy, T. Yu. Matvienko, S. Yu. Zay, K. I. Bogutska, Yu. I. Prylutsky, U. Ritter, and P. Scharff, *Nanoscale Res. Lett.*, **12**: 115 (2017); doi: 10.1186/s11671-017-1876-4.

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv,  
Volodymyrska Str., 64,  
01033 Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>Lesya Ukrainka Eastern European National University,  
13 Volya Avenue,  
43025 Lutsk, Ukraine

<sup>1</sup> Fig. 1. Structure of C<sub>60</sub> molecule (a); AFM image of the structured state of C<sub>60</sub> fullerene in

---

water at a concentration of 0.15 mg/ml. Surface: mica (*σ*).

<sup>2</sup> **Fig. 2.** Changing the force response of *muscle soleus* in chronically alcoholised rats with experimentally induced ischemia with duration of 1 (*a*) and 2 (*b*) hours by the action of C<sub>60</sub>FAS: I — chronically alcoholised animals with ischemia; II — chronically alcoholised animals with ischemia and enterogastric introduction of C<sub>60</sub>FAS. *F* is a force of the tetanic contraction (in %); *t* is the time of muscle contraction (ms);  $\Gamma_{\text{I}}$  is the frequency of excitation (pulse/s); cont is a control value of muscle contraction force taken at 100%.

<sup>3</sup> **Fig. 3.** Levels of creatinine in the blood of animals under study: cont—intact animals; alc—chronically alcoholised animals; isch (1h, 2h)—ischemic animals within the 1 and 2 hours; C<sub>60</sub>FAS—animals after enterogastric administration of C<sub>60</sub>FAS. Values represent the mean  $\pm$  SEM, *n* = 10; \**p* < 0.05 compared to control animals; \*\**p* < 0.05 compared to experimental groups without C<sub>60</sub>FAS.

<sup>4</sup> **Fig. 4.** Levels of creatine phosphokinase in the blood of animals under study. All designations are the same as in Fig. 3.

<sup>5</sup> **Fig. 5.** Levels of lactate dehydrogenase in the blood of animals under study. All designations are the same as in Fig. 3.