

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

## **Вплив водорозчинних C<sub>60</sub> фуллеренів на механокінетичні особливості формування гладкого тетанічного скорочення ішемізованого скелетного м'яза щурів**

Д. М. Ноздренко, К. І. Богуцька, О. Ю. Артеменко,  
Н. Є. Нурищенко, Ю. І. Прилуцький

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка,  
вул. Володимирська, 64,  
01601 Київ, Україна*

З використанням тензометрії досліджено вплив водорозчинних C<sub>60</sub>-фуллеренів на механокінетичні особливості формування гладкого тетанічного скорочення ішемізованого м'яза (muscle soleus) щурів. Одержані результати щодо зміни максимальної силової відповіді м'яза та часу її розвитку за терапевтичної дії C<sub>60</sub>-фуллеренів вказують на значний захисний ефект цих унікальних наноструктур, зокрема мембран міоцитів зі збереженням адекватного функціонування Ca<sup>2+</sup>-помп, які забезпечують процес активного скорочення–розслаблення м'яза. Виявлений терапевтичний вплив C<sub>60</sub>-фуллеренів на механокінетику гладких тетанічних скорочень м'яза є найбільш ефективним за його ішемізації тривалістю в 1 год., що уможливорює розробку нанотехнології використання водорозчинних C<sub>60</sub>-фуллеренів як потужних антиоксидантів у терапії ранніх стадій ішемічного пошкодження скелетних м'язів.

With the use of tensometry, the influence of water-soluble C<sub>60</sub> fullerenes on the mechanokinetic features of formation of a smooth tetanic contraction of ischemic muscle (muscle soleus) of rats is studied. Obtained results on the change in the maximal muscle force response and the time of its development at the therapeutic action of C<sub>60</sub> fullerenes indicate a significant protective effect of these unique nanostructures, in particular, membranes of myocytes while maintaining adequate functioning of Ca<sup>2+</sup> pumps, which provide the process of active muscle contraction and relaxation. The revealed therapeutic effect of C<sub>60</sub> fullerenes on the mechanokinetics of smooth tetanic muscle contractions is most effective at ischemic for 1 h that makes it possible to develop the nanotechnology of using water-soluble C<sub>60</sub> fullerenes as powerful antioxidants in the therapy at the early stages of ischemic damage of skeletal muscles.

С использованием тензометрии исследовано влияние водорастворимых

C<sub>60</sub>-фуллеренов на механокинетические особенности формирования гладкого тетанического сокращения ишемизированной мышцы (muscle soleus) крыс. Полученные результаты по изменению максимального силового ответа мышцы и времени его развития при терапевтическом воздействии C<sub>60</sub>-фуллеренов указывают на значительный защитный эффект этих уникальных наноструктур, в частности мембран миоцитов с сохранением адекватного функционирования Ca<sup>2+</sup>-насосов, которые обеспечивают процесс активного сокращения–расслабления мышцы. Выявленное терапевтическое воздействие C<sub>60</sub>-фуллеренов на механокинетическую гладких тетанических сокращений мышцы является наиболее эффективным при её ишемизации продолжительностью 1 час, что делает возможным разработку нанотехнологии использования водорастворимых C<sub>60</sub>-фуллеренов как мощных антиоксидантов в терапии ранних стадий ишемического повреждения скелетных мышц.

**Ключові слова:** C<sub>60</sub>-фуллерен, скелетний м'яз, ішемія, сила скорочення.

**Key words:** C<sub>60</sub> fullerene, skeletal muscle, ischemia, force of contraction.

**Ключевые слова:** C<sub>60</sub>-фуллерен, скелетная мышца, ишемия, сила сокращения.

*(Отримано 24 серпня 2018 р.)*

## 1. ВСТУП

Скелетні м'язи проявляють більш високу стійкість до ішемії, аніж інші органи. Однак тривала ішемізація може призвести до значних патологій, у тому числі м'язових некрозів та апоптозу [1]. Головним завданням при лікуванні ішемії м'яза є швидке відновлення кровотоку (реперфузії) в пошкоджених зонах. Водночас така реперфузійна терапія призводить до нового патофізіологічного процесу під назвою «реперфузійна травма», яка також викликає істотне пошкодження м'язової тканини [1, 2]. Під час ішемії–реперфузії відбувається значне зменшення сили скорочення скелетного м'яза: до 40% після 1 год. ішемії і 90% після 2 год.; відновлення силової відповіді м'яза спостерігали лише наприкінці другого тижня після ішемізації [3, 4].

Літературні дані свідчать, що вільні радикали, зокрема супероксид та гідроксид-радикал, можуть бути патогенним чинником у процесі ішемічно-реперфузійних пошкоджень м'язової тканини [5]. Вони включають ініціювання перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), пряме інгібування мітохондріальних ферментів дихального ланцюга, інактивацію глицеральдегід-3-фосфатдегідрогенази та мембранних натрійових каналів, інгібування АТФ-азної активності тощо [6, 7]. Саме взаємодія високореакційного гідрокси-

льного радикала з атомами Гідрогену метильних груп поліненасичених жирних кислот викликає значне пошкодження м'язової тканини. Цей процес ініціює ПОЛ, що, у свою чергу, призводить до підвищення проникності клітинних мембран, яка ускладнює процес злиття поодиноких скорочень у стан гладкого тетанусу [2, 6, 7].

Водорозчинні C<sub>60</sub>-фуллерени мають унікальні структурно-функціональні властивості, серед яких — нанорозмір, висока стабільність і відсутність цитотоксичних ефектів за низьких концентрацій [8–10]. C<sub>60</sub>-молекула здатна взаємодіяти з біологічними мембранами, проникаючи у внутрішньоклітинний простір шляхом пасивної дифузії або ендоцитозу [11–13].

Водночас, C<sub>60</sub>-фуллерени можна розглядати як потужні поглиначі вільних радикалів, індукованих ішемічно-реперфузійною травмою м'язів [3–5]. Дія відомих антиоксидантів базується на тому, що одна молекула антиоксиданту нейтралізує один вільний радикал. Визначити оптимальну терапевтичну дозу антиоксиданту досить складно для конкретного патологічного процесу. Відомо, що одна молекула C<sub>60</sub> здатна приєднувати 34 метильних радикали [14]. C<sub>60</sub>-фуллерени здатні ефективно захоплювати та інактивувати як супероксид аніон-радикал, так і гідроксильні радикали *in vivo* та *in vitro* [5, 6, 8, 15, 16].

Усе вищесказане стало підґрунтям для дослідження впливу водорозчинних C<sub>60</sub>-фуллеренів на динаміку перебігу процесів розвитку гладкого тетанусу в ішемічно-пошкоджених м'язових тканинах. Феноменологічний підхід до аналізу впливу C<sub>60</sub>-фуллеренів на патологічні процеси, які впливають на механокінетичні властивості м'яза, сприяв встановленню важливих співвідношень між макроскопічними параметрами стану пошкодженого м'яза зі збільшенням часу його ішемізації.

## 2. МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

Експерименти виконували на дорослих щурах-самцях лінії *Wistar* масою  $170 \pm 5$  г. Протокол дослідження був затверджений комісією з питань біоетики КНУ імені Тараса Шевченка (протокол №3 від 19 жовтня 2017 року) згідно з правилами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» і норм біомедичної етики згідно із Законом України (№3446–IV 21.02.2006 р., м. Київ) «Про захист тварин від жорстокого поводження» з проведення медико-біологічних досліджень.

Тварини, відібрані для експерименту, були розділені на такі експериментальні групи:

- інтактні тварини — контроль ( $n = 10$ );

- тварини з експериментально-індукованою ішемією тривалістю 1 год. ( $n = 10$ );
- тварини з експериментально-індукованою ішемією тривалістю 2 год. ( $n = 10$ );
- тварини з експериментально-індукованою ішемією тривалістю 1 год. та внутрішньом'язовим введенням водного колоїдного розчину  $C_{60}$ -фуллеренів ( $C_{60}$ ФВР) одразу після реперфузії піддослідної кінцівки ( $n = 10$ );
- тварини з експериментально-індукованою ішемією тривалістю 2 год. та внутрішньом'язовим введенням  $C_{60}$ ФВР одразу після реперфузії піддослідної кінцівки ( $n = 10$ ).

Варто зазначити, що використовувана одноразова терапевтична доза  $C_{60}$ -фуллеренів (1 мг/кг ваги тіла) була значно нижчою за максимальну толерантну дозу 500 мг/кг за перорального та внутрішньочеревного введення щурам [8].

За попередньої підготовки до експерименту анестезію тварин здійснювали внутрішньочеревним введенням нембуталу (40 мг/кг). Стандартна підготовка включала канюлювання (*a. carotis communis sinistra*) для вимірювання тиску, трахеотомію та ламінектомію на рівні поперекового відділу спинного мозку.

Для ішемізації експериментального м'яза лігатурами перетягували гілку стегнової артерії, яка забезпечує його кровопостачання. Тривалість ішемізації складала 1 та 2 год. *Muscle soleus* звільняли від оточуючих тканин, у дистальній частині у поперек перерізували його сухожильну частину, у сегментах  $L_4-L_5$  перерізуали вентральні корінці у місцях їхнього виходу зі спинного мозку.

Дослідження динамічних властивостей м'язового скорочення проводили за умов активації м'яза з використанням методи модульованої електростимуляції еферентів [17]. П'ять філаментів перерізанних вентральних корінців закріплювали на стимулюючих електродах і за допомогою спеціального пристрою здійснювався циклічний розподіл послідовності стимулів по філаментах. Стимуляцію еферентів у сегментах  $L_4-L_5$  здійснювали електричними імпульсами тривалістю 2 мс, сформованими за допомогою генератора сигналів спеціальної форми. Контроль зовнішнього навантаження на м'яз здійснювали за допомогою системи механостимуляторів. Величину сили скорочення м'яза вимірювали за допомогою тензодатчиків, працюючих на основі вимірювання зміни опору за деформації вуглецевих нанотрубок, розташованих у задній частині мікропіпетки, до передньої частини якої приєднувався сухожилок досліджуваного м'яза [18].

Для одержання  $C_{60}$ ФВР був використаний метод, який ґрунтується на переведенні молекул  $C_{60}$  з толуолу у воду з подальшим обробленням ультразвуком [10, 19, 20]. Для цього змішували насичений розчин нативного  $C_{60}$ -фуллерену в толуолі (чистота

> 99,5%), де його концентрація відповідає максимальній розчинності  $\cong 2,9$  мг/мл, та однаковий об'єм дистилляту у відкритому стакані. Утворені водні фази піддавали дії ультразвуку. Одержаний водний колоїдний розчин  $C_{60}$ -фуллерену за максимальної концентрації 0,15 мг/мл був стабільним упродовж 6 місяців за кімнатної температури.

Вимірювання розподілу частинок  $C_{60}$ -фуллерену у воді за їх розміром проводили за допомогою динамічного розсіювання світла (ДРС) на приладі Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Ins. Ltd, Великобританія) з використанням декількох режимів високої роздільної здатності за кімнатної температури. Цей прилад обладнаний He-Ne-лазером (максимальна потужність — 5 мВт), який працює на довжині хвилі у 633 нм. Вимірювання виконували під кутом розсіювання  $173^\circ$  (технологія NIBS). Автокореляційну функцію інтенсивності розсіяного світла проаналізовано з використанням програмного забезпечення Malvern Zetasizer.

Дзета-потенціал вимірювали за допомогою лазерного кореляційного спектрометра Zetasizer Nano-ZS90 (Malvern Ins. Ltd, Великобританія) за кімнатної температури. Його значення визначали за рівнянням Смолуховського, справедливого для частинок сферичної форми.

Статистичну обробку експериментальних результатів проводили методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 8.0. Для визначення достовірних відмінностей між середніми величинами вибірок використовували Стьюдентів  $t$ -критерій. Вірогідними вважали відмінності за  $p < 0,05$ .

### 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Біологічна активність  $C_{60}$ -фуллерену значною мірою залежить від його концентрації у водному середовищі, розміру та форми утворених частинок, їх поверхневого заряду [21–24]. Тому спочатку було досліджено розподіл за розміром частинок  $C_{60}$ -фуллерену у вихідному водному розчині.

Аналіза інтенсивності розсіювання світла при проходженні лазерного випромінювання через  $C_{60}$ ФВР (0,15 мг/мл) показує, що діаметер сферичних частинок  $C_{60}$ -фуллерену, які містяться у воді (їх агрегатів), знаходиться у діапазоні від 45 до 700 нм з максимальним піком 155 нм (рис. 1). Цей результат свідчить про полідисперсність молекул  $C_{60}$  у досліджуваному водному розчині.

Дзета-потенціал  $C_{60}$ ФВР дорівнював  $-27,3$  мВ. Зазначимо, що таке велике (за абсолютною величиною) значення дзета-потенціалу досліджуваного водного розчину  $C_{60}$ -фуллеренів свідчить про їх високу стійкість до подальшої агрегації.

Важлива роль у реалізації рухової функції належить реакціям

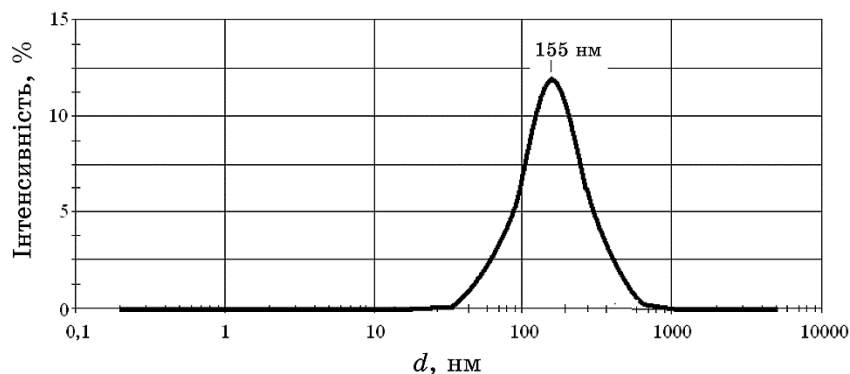
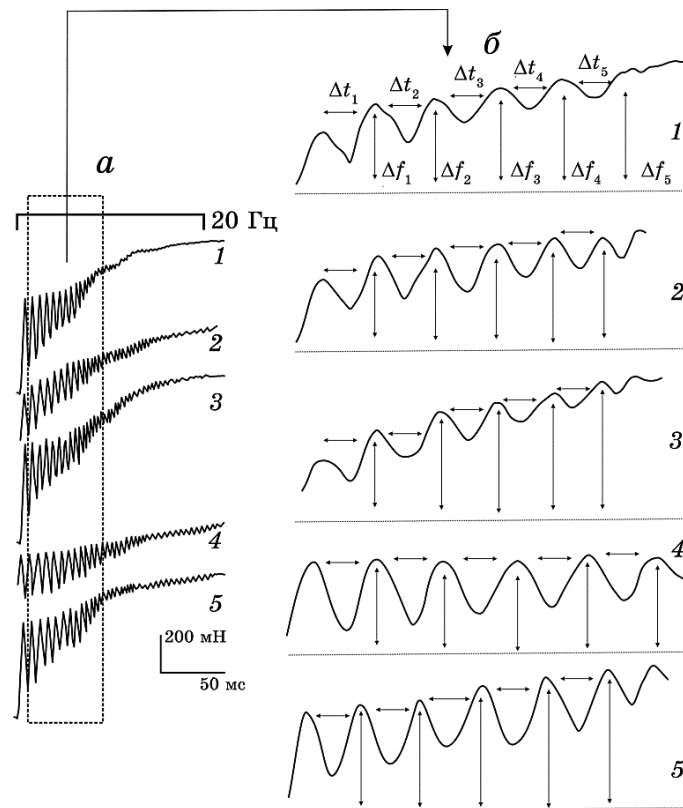


Рис. 1. Розподіл інтенсивності розсіяного світла залежно від діаметра  $C_{60}$ -фуллеренових частинок у воді (концентрація  $C_{60}$ ФВР 0,15 мг/мл).<sup>1</sup>

м'яза на підвищення рівня еферентної активності — переходу від зубчастого до гладкого тетанусу. Значна інерційність м'язового скорочення при розвитку патологічного стану за ішемізації м'яза вимагає від мотонейронів таких динамічних властивостей, які могли б компенсувати недостатньо високі швидкісні параметри скорочення м'яза. Таким чином, уповільнення при виникненні гладких скорочувальних реакцій (гладкого тетанусу) може бути одним з параметрів, які описують динаміку розвитку м'язових патологій. Тому для адекватного розуміння динаміки скорочень *muscle soleus* за розвитку ішемії ми проаналізували особливості перетворення низхідної активності.

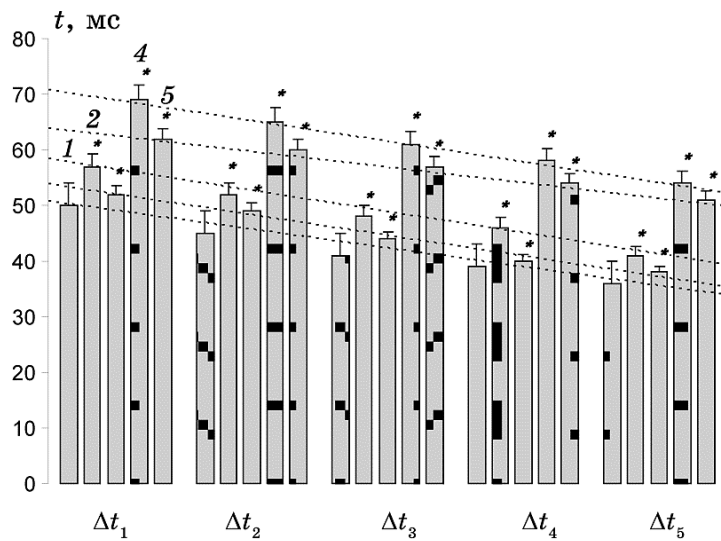
На рисунку 2 показано перехід силової відповіді активного м'яза зі стану зубчастого тетанусу у гладкий за його ішемізації упродовж 1 і 2 год. та внутрішньом'язового терапевтичного введення  $C_{60}$ ФВР. Проаналізовано зміни часу між піками силової відповіді та величин їх максимальної сили (рис. 3, 4). Ці два параметри є критичними для адекватного переходу активного м'яза зі стану зубчастого тетанусу у гладкий. Аналіза їх змін свідчить про особливості дисфункції м'яза за генерування сили його скорочення окремими руховими одиницями, оскільки послідовний характер їх активації забезпечує можливість плавного регулювання сили, що розвивається усім м'язом.

Аналіза часу розвитку 5 послідовних максимальних силових відповідей м'яза виявила його зменшення з 51 мс (перше скорочення) до 36 мс (п'яте скорочення) у контролі, що призводило до виникнення гладкого тетанусу через 3356 мс після початку подразнення (рис. 3). Збільшення цього показника у щурів з 1-годинною ішемізацією м'яза складало 57–41 мс відповідно, що призводило до збільшення часу виникнення гладкого тетанусу до 3589 мс. Терапевтичне введення  $C_{60}$ ФВР зменшувало час розвит-



**Рис. 2.** Розвиток силової відповіді *muscle soleus* для перших 5 піків зубчастого тетанусу за стимуляційного подразнення частотою 20 Гц: *a* — загальний вигляд силової відповіді м'яза; *б* — 5 послідовних піків зубчастого тетанусу.  $\Delta t_1$ – $\Delta t_5$  — час (мс) розвитку силової відповіді між послідовними скороченнями м'яза;  $\Delta f_1$ – $\Delta f_5$  — величина сили (мН) послідовних скорочень м'яза: 1 — скорочення м'яза у контролі; 2 — скорочення ішемізованого упродовж 1 год. м'яза; 3 — скорочення ішемізованого упродовж 1 год. м'яза за терапевтичного введення  $C_{60}$ ФВР (1 мг/кг); 4 — скорочення ішемізованого упродовж 2 год. м'яза; 5 — скорочення ішемізованого упродовж 2 год. м'яза за терапевтичного введення  $C_{60}$ ФВР (1 мг/кг).<sup>2</sup>

ку 5 послідовних максимальних силових відповідей м'яза до 52–38 мс, відповідно (майже до контрольних значень). Збільшення часу ішемізації м'яза до 2 год. також збільшувало час розвитку 5 послідовних максимальних силових відповідей м'яза до 69–54 мс, відповідно. Водночас, терапевтичне введення  $C_{60}$ ФВР у цьому випадку зменшувало цей показник до 62–51 мс, відповідно, що призводило також до істотного зменшення часу виникнення гладкого тетанусу — з 4678 до 4231 мс.

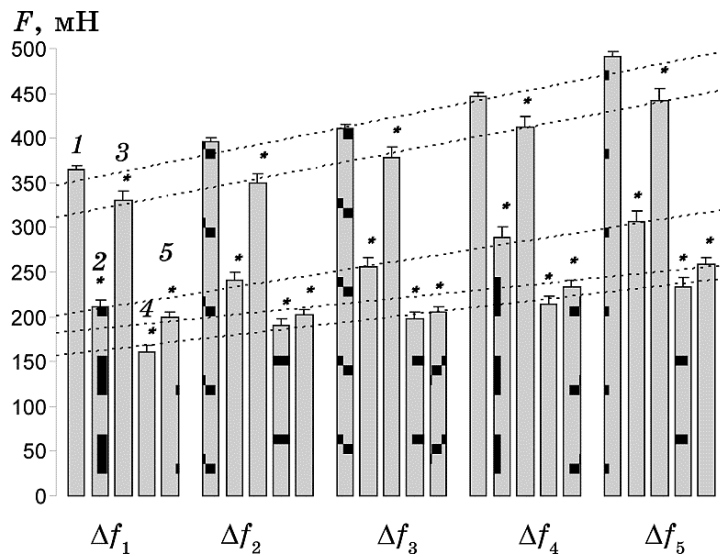


**Рис. 3.** Час ( $\Delta t_1$ – $\Delta t_5$ ) розвитку максимальної силової відповіді м'яза для 5 послідовних скорочень зубчастого тетанусу. Позначення 1–5 такі ж, як на рис. 2. \*  $p < 0,05$  порівняно з контролем.<sup>3</sup>

Максимальна сила для 5 послідовних скорочень у контролі збільшувалася з 365 до 491 мН (рис. 4), після чого відбувався перехід до стану гладкого тетанусу. Ішемізація м'яза упродовж 1 год. зменшувала цей показник до 211–306 мН, відповідно. Терапевтичне введення  $C_{60}$ ФВР істотно відновлювало силові характеристики пошкодженого м'яза — 311–442 мН, відповідно. Збільшення часу ішемізації м'яза до 2 год. істотно зменшувало його силову відповідь — 161–234 мН, відповідно. Крім того, терапевтичне введення  $C_{60}$ ФВР не приводило до істотних змін у механокінетиці м'язового скорочення — 199–259 мН, відповідно (рис. 4).

Описані вище м'язові дисфункції можуть бути пов'язані як з розбалансуванням надходження–викид йонів  $Ca^{2+}$  у м'язове волокно, так і зі збільшенням кількості не скорочувальних компонентів у м'язовій тканині. Дисфункція  $Ca^{2+}$ -помп за розвитку ішемії м'яза пов'язана, головним чином, з порушеннями мембран міоцитів [25], які збільшуються зі зростанням часу ішемізації м'яза (рис. 3, 4). Терапевтичне введення  $C_{60}$ ФВР гальмує руйнування мембран м'язових клітин, зменшуючи тим самим і час початку розвитку гладких тетанічних скорочень. Водночас, зі зростанням часу ішемізації м'яза до 2 год. (рис. 3, 4) дія  $C_{60}$ -фуллеренів як антиоксидантного чинника виявляється не достатньо ефективною. Це може бути зумовлено тим, що після 2 год. ішемізації м'яза відбувається активна міграція нейтрофілів в ен-





**Рис. 4.** Максимальна силова відповідь м'яза ( $\Delta f_1$ – $\Delta f_5$ ) для 5 послідовних скорочень зубчастого тетанусу. Позначення 1–5 такі ж, як на рис. 2. \* $p < 0,05$  порівняно з контролем.<sup>4</sup>

домізії, а потім — у перимізії, що істотно погіршує антиоксидантний ефект  $C_{60}$ -фуллерену [26]. Також встановлено, що за ішемії м'яза тривалістю 2 год. відбуваються як м'язові некротичні зміни, так і нервова деградація: кількість некротичних клітин може досягати 60% [27, 28].

Під час розвитку ішемічних травм тяжких ступенів беззаперечно збільшується й цупкісна компонента м'яза, вплив якої особливо виражено проявляється за умов переходу активного м'яза до стану гладкого тетанусу. Доказами цього може слугувати той факт, що збільшення часу досягнення максимальної сили скорочення м'яза та зменшення її абсолютної величини у цьому випадку корелюють (рис. 3, 4). Відновлювальні зміни максимальної силової відповіді і часу її досягнення за терапевтичної дії  $C_{60}$ -фуллеренів (рис. 3, 4), на нашу думку, пов'язані саме з їх антиоксидантними властивостями на рівні захисту мембран міоцитів та збереженням адекватного функціонування  $Ca^{2+}$ -помп, які забезпечують процес активного скорочення–розслаблення м'яза. Зменшення цього терапевтичного ефекту зі зростанням часу ішемізації м'яза може бути пов'язано з необхідністю долати додатковий опір цупкісних елементів активного м'яза, які зменшують свою еластичність за розвитку ішемії тяжкого ступеня. Отже, терапевтичний вплив  $C_{60}$ ФВР є ефективним за незначних ішемічних пошкоджень, що уможлиблює його практичне використання, як лікар-

ського засобу, для корекції функціонування ішемічно-пошкодженого м'яза на ранній стадії цієї патології.

## ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА—REFERENCES

1. W. Z. Wang, R. C. Baynosa, and W. A. Zamboni, *J. Surg. Res.*, **171**, No. 1: 175-182 (2011); doi: [10.1016/j.jss.2011.07.015](https://doi.org/10.1016/j.jss.2011.07.015).
2. B. Erkut, A. Özyazıcıoğlu, S. Karapolat, U. Koçoğulları, S. Keles, A. Ateş, C. Gundogdu, and H. Kocak, *Drug Target Insights*, **2**: 249 (2007).
3. D. M. Nozdrenko, K. I. Bogutska, Y. I. Prylutskyy, V. F. Korolovych, M. P. Evstigneev, U. Ritter, and P. Scharff, *Fiziol. Zh.*, **61**, No. 2: 48 (2015).
4. D. M. Nozdrenko, D. O. Zavodovsky, T. Yu. Matvienko, S. Yu. Zay, K. I. Bogutska, Yu. I. Prylutskyy, U. Ritter, and P. Scharff, *Nanoscale Res. Lett.*, **12**, No. 115 (2017); doi: [10.1186/s11671-017-1876-4](https://doi.org/10.1186/s11671-017-1876-4).
5. H. Amani, R. Habibey, S. J. Hajimiresmail, S. Latifi, H. Pazoki-Toroudi, and O. Akhavan, *J. Mater. Chem. B*, **5**: 9452 (2017); doi: [10.1039/C7TB01689A](https://doi.org/10.1039/C7TB01689A).
6. S. Cuzzocrea, D. P. Riley, A. P. Caputi, and D. Salvemini, *Pharmacol. Rev.*, **53**, No. 1: 135 (2001).
7. J. A. Lintz, M. B. Dalio, E. E. Joviliano, and C. E. Piccinato, *Acta Cir. Bras.*, **28**, No. 6: 441 (2013).
8. N. Gharbi, M. Pressac, M. Hadchouel, H. Szwarc, S. R. Wilson, and F. Moussa, *Nano Lett.*, **5**, No. 12: 2578 (2005).
9. S. V. Prylutska, I. I. Grynyuk, S. M. Grebinyk, O. P. Matyshevska, Yu. I. Prylutskyy, U. Ritter, C. Siegmund, and P. Scharff, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, **40**, No. 4: 238 (2009).
10. U. Ritter, Yu. I. Prylutskyy, 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).
11. S. V. Prylutska, O. P. Matyshevska, I. I. Grynyuk, Yu. I. Prylutskyy, U. Ritter, and P. Scharff, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **468**: 265 (2007).
12. C. Schuetze, U. Ritter, P. Scharff, A. Bychko, S. Prylutska, V. Rybalchenko, and Yu. Prylutskyy, *Mater. Sci. Engineer. C*, **31**, No. 5: 1148 (2011).
13. D. Franskevych, K. Palyvoda, D. Petukhov, S. Prylutska, I. Grynyuk, C. Schuetze, L. Drobot, O. Matyshevska, and U. Ritter, *Nanoscale Res. Lett.*, **12**, No. 1: 40 (2017); doi: [10.1186/s11671-016-1819-5](https://doi.org/10.1186/s11671-016-1819-5).
14. P. J. Krustic, E. Wasserman, P. N. Keizer, J. R. Morton, and K. F. Preston, *Science*, **254**: 1183 (1991).
15. S. V. Eswaran, *Current Sci.*, **114**: 1846 (2018).
16. I. V. Vereshchaka, N. V. Bulgakova, A. V. Maznychenko, O. O. Gonchar, Yu. I. Prylutskyy, 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](https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00517).
17. O. M. Khoma, D. A. Zavodovs'kyi, D. N. Nozdrenko, O. V. Dolhopolov, M. S. Miroshnychenko, and O. P. Motuziuk, *Fiziol. Zh.*, **60**, No. 1: 34 (2014).
18. D. M. Nozdrenko, O. M. Abramchuk, V. M. Soroca, and N. S. Miroshnichenko,

- Ukr. Biochem. J.*, **87**, No. 5: 38 (2015); doi: [10.15407/ubj87.05.038](https://doi.org/10.15407/ubj87.05.038).
19. 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. Matyshevskaya, *Mater. Sci. Engineer. C*, **23**, Nos. 1–2: 109 (2003).
  20. P. Scharff, L. Carta-Abelmann, C. Siegmund, O. P. Matyshevskaya, 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).
  21. M. C. Buford, Jr. R. F. Hamilton, and A. Holian, *Part. Fibre Toxicol.*, **4**: 6 (2007); doi: [10.1186/1743-8977-4-6](https://doi.org/10.1186/1743-8977-4-6).
  22. 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).
  23. M. Horie, K. Nishio, H. Kato, N. Shinohara, A. Nakamura, K. Fujita, S. Kinugasa, S. Endoh, K. Yamamoto, O. Yamamoto, E. Niki, Y. Yoshida, and H. Iwahashi, *J. Biochem.*, **148**, No. 3: 289 (2010); doi: [10.1093/jb/mvq068](https://doi.org/10.1093/jb/mvq068).
  24. D. O. Dryn, M. I. Melnyk, L. T. Al Kury, Y. I. Prylutsky, U. Ritter, and A. V. Zholos, *Cell Signal.*, **43**: 40 (2018); doi: [10.1016/j.cellsig.2017.12.003](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2017.12.003).
  25. S. Y. Zay, D. A. Zavadovskyi, K. I. Bogutska, D. N. Nozdrenko, and Y. I. Prylutsky, *Fiziol. Zh.*, **62**, No. 3: 66 (2016).
  26. I. B. Rácz, G. Illyés, L. Sarkadi, and J. Hamar, *Eur. Surg. Res.*, **29**, No. 4: 254 (1997).
  27. J. K. Korthals, T. Maki, and M. A. Gieron, *J. Neurol. Sci.*, **71**, Nos. 2–3: 283 (1985).
  28. J. O. Defraigne and J. Pincemail, *Acta Chir. Belg.*, **98**, No. 4: 176 (1998).

Taras Shevchenko National University of Kyiv,  
64 Volodymyrska Str.,  
01601 Kyiv, Ukraine

<sup>1</sup> Fig. 1. The distribution of the intensity of scattered light depending on the diameter of the C<sub>60</sub> fullerene particles in aqueous solution (a concentration of C<sub>60</sub> fullerenes is 0.15 mg/ml).

<sup>2</sup> Fig. 2. The development of the *muscle soleus* force response for the first 5 peaks of the toothed tetanus under stimulation at a frequency of 20 Hz: *a*—a general view of the muscle force response; *σ*—5 sequential peaks of the toothed tetanus.  $\Delta t_1$ – $\Delta t_5$ —time of development of the force response between sequential contractions of the muscle;  $\Delta f_1$ – $\Delta f_5$ —the magnitude of the force of sequential muscle contractions: 1—muscle contraction in the control; 2—contraction of ischemic (for 1 h) muscle; 3—contraction of ischemic (for 1 h) muscle at the treatment with C<sub>60</sub>FAS (1 mg/kg); 4—contraction of ischemic (for 2 h) muscle; 5—contraction of ischemic (for 2 h) muscle at the treatment with C<sub>60</sub>FAS (1 mg/kg).

<sup>3</sup> Fig. 3. Time ( $\Delta t_1$ – $\Delta t_5$ ) between the developments of maximum muscle force response for 5 sequential contractions of the toothed tetanus. Legends 1–5 are the same as in Fig. 2. \**p* < 0.05 in comparison with the control.

<sup>4</sup> Fig. 4. The maximum muscle force response ( $\Delta f_1$ – $\Delta f_5$ ) for 5 sequential contractions of the toothed tetanus. Legends 1–5 are the same as in Fig. 2. \**p* < 0.05 in comparison with the control.