

PACS numbers: 81.05.ub, 81.16.Fg, 87.16.dp, 87.16.dr, 87.16.Tb, 87.19.Ff, 87.19.rj

Динаміка скорочення *musculus soleus* щурів за хронічної алкоголізації та терапевтичної дії водорозчинних C₆₀-фуллеренів

Д. М. Ноздренко¹, О. П. Мотузюк², К. І. Богуцька¹, В. Л. Осецький¹,
Ю. І. Прилуцький¹

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
вул. Володимирська, 64,
01601 Київ, Україна

²Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки,
просп. Волі, 13,
43025 Луцьк, Україна

Досліджено вплив біосумісних та біодоступних наноструктур, — C₆₀-фуллеренів, — на динаміку скорочення *musculus soleus* в алкоголізованих щурів. Зокрема, у піддослідних тварин погіршується ефективність частотної сумачії тетанічних скорочень м'яза, що призводить до появи флюктуаційних компонент на тлі утримання силою свого максимального рівня. Водночас, застосування водорозчинних C₆₀-фуллеренів як потужних антиоксидантів у загальній дозі 5 мг/кг виявилось найефективнішим у терапії треморних флюктуацій силових відповідей м'яза.

The effect of the biocompatible and bioavailable nanostructures, C₆₀ fullerenes, on the contraction dynamics of *musculus soleus* in alcoholised rats is studied. In particular, in experimental animals, the efficiency of frequency summation of tetanic contractions of muscle is deteriorated that leads to the appearance of fluctuation components against the background of retaining of its maximum level by force. At the same time, the usage of water-soluble C₆₀ fullerenes as the powerful antioxidants in a total dose of 5 mg/kg proves to be the most effective in the therapy of tremor fluctuations of muscle force responses.

Исследовано влияние биосовместимых и биодоступных наноструктур, — C₆₀ фуллеренов, — на динамику сокращения *musculus soleus* у алкоголизованных крыс. В частности, у подопытных животных ухудшается эффективность частотной суммации тетанических сокращений мышцы, что приводит к появлению флюктуационных компонент на фоне удержания силой своего максимального уровня. В то же время, применение водорастворимых C₆₀-фуллеренов как мощных антиоксидантов в общей дозе 5 мг/кг оказалось наиболее эффективным в тера-

пии треморных флюктуаций силовых ответов мышцы.

Ключові слова: C₆₀-фуллерен, *musculus soleus*, скорочення–розслаблення м'яза, алкогольна міопатія.

Key words: C₆₀ fullerene, *musculus soleus*, contraction–relaxation of muscle, alcoholic myopathy.

Ключевые слова: C₆₀-фуллерен, *musculus soleus*, сокращение–расслабление мышцы, алкогольная миопатия.

(Отримано 14 березня 2019 р.)

1. ВСТУП

Алкогольна міопатія розвивається незалежно від інших проявів алкогольної хвороби — захворювання, під час якого тривала алкогольна інтоксикація призводить до появи характерних структурних змін в органах і системах організму [1]. Пошкодження м'язових волокон супроводжується рабдоміолізом міоцитів упродовж декількох днів, значно підвищується рівень креатинфосфокінази у плазмі крові, виникає набряк м'язів, міоглобінурія, гострий некроз і навіть руйнування м'язів [2]. Загальна втрата м'язової маси може становити понад 30% [1]. Водночас запускаються компенсаторні механізми регенерації пошкоджених волокон [2], які є найбільш ефективними після відмови від вживання алкоголю. Втім, такі відновлення відбуваються вкрай повільно.

Алкогольну міопатію розглядають як багатофакторний синдром, під час якого запускається послідовність патологічних реакцій і механізмів, які ведуть до розвитку алкогольних міодистрофій різного ступеня тяжкості. Етанол здатний безпосередньо взаємодіяти з мембранними структурами міозитів [3] і призводити до порушення функцій ферментних систем сарколеми, зокрема зниження активності для Na⁺/K⁺-АТФ-ази [4] та підвищення для Ca²⁺-АТФ-ази [5]. Порушення цілісності мембранних структур поряд з підвищенням активності Ca²⁺-АТФ-ази призводить до зміни гомеостазу кальцію та порушення скорочувальної функції м'язів. Етанол і його похідні сприяють розвитку окисного стресу, наслідком чого є продукція активних форм кисню (АФК) і подальша редукція клітинних механізмів захисту [6], зміна стану мембран у м'язах [7] і пошкодження структурних білків, ДНК і РНК [8]. Виражена гіперпродукція вільних радикалів у мікросомальній системі органел впливає на процес окиснення жирних кислот і підвищує перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ). Виявлений підвищений вміст сполук холестеролу у *musculus soleus* щурів є маркером окисного стресу для скелетних м'язів, що свід-

чить про пошкодження сарколеми та пов'язаних з нею білків [9].

Отже, алкогольна міопатія — це доволі складний і багатокомпонентний процес, у патогенезі якого ключову роль відіграє міотоксичний вплив алкоголю, що пошкоджує м'язи на різних ультраструктурних і системних рівнях їхньої організації.

Важливим питанням наразі залишається відсутність ефективної терапії патологічних станів організму за дії етанолу. Триває пошук нових агентів для профілактики та терапії хронічного алкоголізму, що виступає комплексним патологічним явищем, наслідки якого значною мірою стосуються й м'язової системи.

Здатність C_{60} -фуллеренів та їх похідних ефективно інактивувати АФК вперше було продемонстровано Krusic та ін. [10]. Водорозчинний C_{60} -фуллерен проявляє потужнішу дію, ніж природний антиоксидант — вітамін Е, щодо попередження розвитку ПОЛ, запобігаючи ушкодженню цілісності мембран, і таким чином сприяє підтримці трансмембранного потенціалу [11]. Встановлено, що C_{60} -фуллерени здатні виявляти дозозалежний захисний ефект проти окисно-опосередкованої травми. Так, захисний ефект фуллеренолу $C_{60}(OH)_{24}$ вивчали *in vivo* у дозах 25, 50 і 100 мг/кг після хронічної доксорубіцин-індукованої кардіо- та гепатотоксичності у щурів з колоректальним раком порівняно з добре відомим антиоксидантом — вітаміном С (100 мг/кг) [12]. За допомогою біохемічних і фізіологічних методик показано, що фуллеренол виявляє протекторну активність у тканинах серця та печінки. При цьому низькі дози виявляють більш ефективний захисний ефект, що, ймовірно, зумовлено тим, що високі дози повільніше всмоктуються з кишечника.

Отже, застосування біосумісних водорозчинних C_{60} -фуллеренів з урахуванням виражених у них антиоксидантних властивостей і відсутності даних про викликані ними гострі та хронічні інтоксикації відкриває нові можливості у терапії та профілактиці алкогольної міопатії.

2. МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

Для одержання водорозчинних C_{60} -фуллеренів було застосовано методу, яка ґрунтується на переведенні цих молекул з толуолу у воду з подальшим обробленням ультразвуком. Для цього змішували насичений розчин чистого C_{60} -фуллерену в толуолі (чистота > 99,5%), де його концентрація відповідає максимальній розчинності $\cong 2,9$ мг/мл, та однакового об'єму дистиляту у відкритому стакані. Дві утворені водні фази піддавали дії ультразвуку. Процедуру виконували до повного випаровування толуолу та набуття водною фазою жовтого забарвлення [13, 14] (рис. 1).

Для дослідження були використані щури-самці лінії *Wistar* масою у 140–150 г. Тварини, відібрані для експерименту, були



Рис. 1. Водний колоїдний розчин C_{60} -фуллеренів (0,15 мг/мл).¹

розділені на три експериментальні групи: інтактні тварини, алкоголізовані тварини за ентерогастрального введення 40% етилового спирту у дозі 2 мг на 100 г ваги тварини (один раз на день упродовж 30 днів), алкоголізовані тварини за ентерогастрального введення водорозчинного C_{60} -фуллерену у дозі 1 мг/кг (один раз на день упродовж 5 останніх днів експерименту).

Для дослідження був обраний камбалоподібний м'яз (*musculus soleus*) — повільний м'яз з аеробним метаболізмом. Повільні волокна є більш залежними від окисного фосфорилування, а, отже, є чутливішими до руйнівної дії вільних радикалів, продукція яких ініціюється алкогольною міопатією.

При підготовці до експерименту анестезію здійснювали внутрішньочеревним введенням нембуталу (40 мг/кг). Стандартна підготовка поряд з вищезазначеними заходами включала канюлювання (*a. carotis communis sinistra*) для введення фармпрепаратів і мірвання тиску, трахеотомію, ламінектомію на рівні поперекового відділу спинного мозку. Камбалоподібний м'яз щура звільняли від оточуючих тканин, у дистальній частині перерізували його сухожильну частину упоперек. Для підготовки до модульованої стимуляції еферентів у сегментах L7-S1 перерізували вентральні корінці безпосередньо у місцях їхнього виходу зі спинного мозку.

Силу скорочення м'яза вимірювали за допомогою системи тензодатчиків, до передньої частини яких приєднувався сухожилок досліджуваного м'яза [15]. Для формування стимулювальних сигналів використовували програмовані генератори сигналів спеціальної форми. Дослідження динаміки м'язового скорочення проводили за активації м'яза з використанням методи модульованої стимуляції еферентів. П'ять філаментів перерізаних вентральних корінців закріплювали на стимулювальних електродах і за допомогою спеціального пристрою здійснювався циклічний розподіл послідовності стимулів по філаментах. Розподілена стимуляція уможливлювала одержувати монотонне й однорідне скорочення м'яза на невисоких частотах стимуляції окремих філаментів. Стимуляцію еферентів у сегментах L7-S1 здійснювали електричними імпульсами тривалістю у 2 мс, сформованими за допомогою генератора імпульсів, керованого АЦП, через платинові електроди. Характеристики стимулювального сигналу задавали програмно та передавали з комплексу АЦП–ЦАП на генератор. Контроль

зовнішнього навантаження на м'яз здійснювали за допомогою системи механостимуляторів. Збурення навантаження здійснювали лінійним електромагнетним двигуном.

Інтегровану потужність м'яза розраховували як загальну площу, яку описувала силова крива, та представляли у відсотках від контрольних значень непошкодженого м'яза, яку брали за 100%. Цей маркер є показником загальної працездатності м'яза за застосованих стимуляційних пулів. Його аналіза уможливорює оцінити м'язову активність у системі рівноваги «сила–зовнішнє навантаження», що є фізіологічним аналогом працездатності м'язової системи загалом, тобто визначає роботу, яку може виконати м'яз за одиницю часу за умов експерименту [16].

Статистичне оброблення результатів досліджень проводили за методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 8.0.

3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У першій серії експериментів було проведено стимуляцію *musculus soleus* щурів електричними імпульсами тривалістю у 2, 3, 4 та 5 с 30 послідовними пулами стимуляції з періодом релаксації у 3 хв. Слід зауважити, що у нативних м'язах достовірні зміни м'язового скорочення не відбуваються упродовж 1–2 год. У випадку алкогольної міопатії спостерігали зменшення максимальних значень сили скорочення як зі збільшенням тривалості стимуляційного сигналу, так і кількості викликаних послідовних скорочень (рис. 2). Силова відповідь пошкодженого м'яза упродовж усього експерименту зменшувалася та після 30 подразнень складала 32, 29, 12 і 2% від контрольних значень, відповідно, при подразненнях упродовж 2, 3, 4 і 5 с (рис. 2, а). Варто особливо зауважити з приводу присутності треморних складових на фазі утримання силою свого максимального рівня. Плавне падіння сили за стимуляції імпульсами у 2 с переходить у хаотичну флюктуаційну зміну м'язової відповіді за стимуляцій упродовж 4 і 5 с. У цьому випадку практично неможливо розділити стаціонарну та динамічну фази скорочення внаслідок високоамплітудних флюктуацій сили скорочення. Після 30 хв. стимуляції тривалістю у 6 с м'яз переходить у фізіологічну ригідність, не відповідаючи зміною силової відповіді на стимуляційний сигнал.

За використання C_{60} -фуллеренової терапії показники силової відповіді м'яза склали 59, 53, 47 та 31% від контрольних значень, відповідно, при подразненнях упродовж 2, 3, 4 та 5 с (рис. 2, б). Важливо підкреслити значне зменшення треморних флюктуаційних компонент м'язового скорочення на всіх застосованих стимуляційних пулах, а також відсутність зростання їх зі збіль-

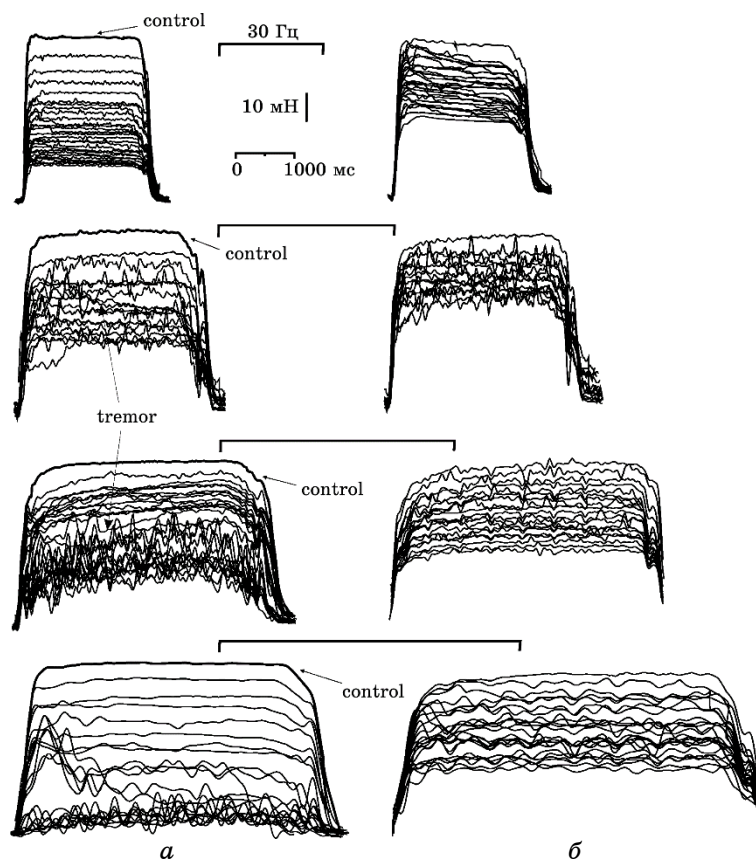


Рис. 2. Зміна сили скорочення *musculus soleus* алкоголізованих щурів (а) і за терапії водним колоїдним розчином C_{60} -фуллеренів (б) при застосуванні модульованої електростимуляції упродовж 2, 3, 4 і 5 с (час релаксації — 3 хв.); control — контрольні значення сили скорочення.²

шенням часу стимуляції. За стимуляції максимальними часовими пулами (6 с) м'яз продовжував генерувати силу, не переходячи у стан ригідності упродовж усього експерименту.

Внаслідок присутності треморних компонент при скороченні пошкоджених м'язів зміна максимальних показників силової відповіді не може виступати ефективним критерієм оцінювання зміни силової відповіді м'язів. Тому для аналізу силової відповіді м'язів алкоголізованих щурів розраховували інтегровану потужність м'яза (рис. 3). Видно, що має місце швидке падіння інтегрованої потужності м'яза та вихід її на стаціонарний рівень (25, 20 і 17% від норми) вже на 15-ту хв. експерименту за стимуляційного подразнення тривалістю у 2, 3 і 4 с (рис. 3, а), а також повільне спадання сили, що наближається до нуля при стимуля-

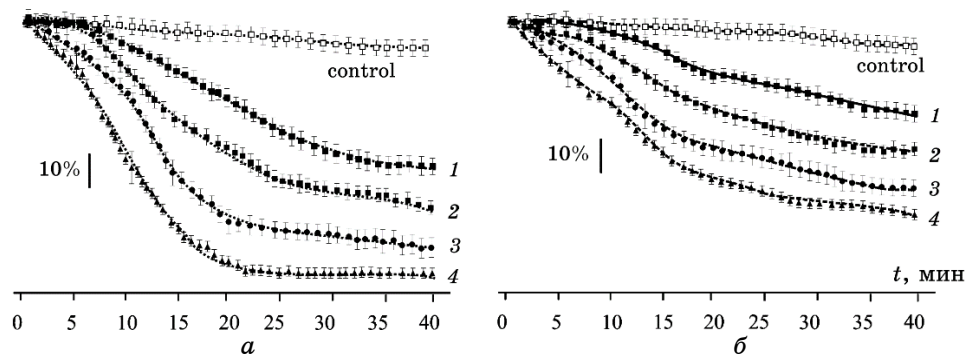


Рис. 3. Зміна інтегрованої потужності *musculus soleus* алкоголізованого щура (а) та за терапії водним колоїдним розчином C_{60} -фуллеренів (б) залежно від часу стимуляції: 1, 2, 3, 4 — тривалість імпульсу у 2, 3, 4 та 5 с відповідно; control — контрольні значення інтегрованої потужності м'яза.³

ції впродовж 5 с. Водночас C_{60} -фуллеренова терапія збільшувала силову відповідь м'яза та величину його інтегрованої потужності (рис. 3, б). Зменшення інтегрованої потужності м'яза склало 23, 31, 39 і 45%, відповідно, при стимуляції впродовж 2, 3, 4 і 5 с.

Важливо зазначити відмінність у часовому розвитку процесу зменшення силової відповіді: стрімке пониження інтегрованої потужності вже у першій половині експерименту до своїх мінімальних значень і повільне зменшення до 50% рівня від контролю за C_{60} -фуллереновою терапією.

Одним з наслідків хронічного вживання алкоголю є дисфункція мітохондрій [17], внаслідок чого продукується ще більше вільних радикалів [18]. Окрім того, алкоголь та ацетальдегід є потужними інгібіторами синтезу м'язового білка.

Зменшення силової відповіді може бути пов'язане зі зменшенням кількості поперечних актин-міозинових містків, залучених до скорочення, або зменшенням сили їхнього зв'язку. Кількість містків, насамперед, зумовлено концентрацією йонів Кальцію у міоплазмі й енергетичним забезпеченням скорочення [19]. Головним депо Ca^{2+} у скелетних м'язах є саркоплазматичний ретикулум (СР). Саме він забезпечує вихід Кальцію у цитозоль після надходження потенціалу дії, що забезпечує взаємодію міозину й актину [20]. Як зазначалося вище, за порушень міоцитів, індукованих алкогольною міопатією, зростає кількість цитозольного Ca^{2+} . Внаслідок цього підвищується проникність СР для йонів Ca^{2+} та одночасно зменшується швидкість їх акумуляції. Можна припустити, що надлишок Ca^{2+} призводить до порушення механізмів Ca^{2+} -опосередкованої функціональної сигналізації, а саме, пригнічення здатності Ca^{2+} зв'язуватися з тропоніном-С, від чого

і залежить швидкість молекулярної взаємодії актину та міозину [21]. Коливання рівнів вільного Ca^{2+} у міоцитах є ключовим чинником скорочення–розслаблення м'яза [22] та загалом впливає на кінетику розвитку сили. Водночас, для процесу вивільнення йонів Ca^{2+} із СР має значення виснаження запасів глікогену у скелетних м'язах [23], внаслідок чого порушуються механізми ресинтезу АТФ. Нестача АТФ, яка може бути спричинена дефіцитом креатинфосфокіназного шляху або накопиченням недоокиснених продуктів під час гліколізу, призводить до зміщення рівня рН саркоплазми у бік закиснення, що, в свою чергу, гальмує активність гліколітичних ферментів і спричинює швидкий розвиток м'язової втоми під час експерименту. Інактивація C_{60} -фуллеренами основних чинників цього патологічного процесу, — АФК, — сприяє зменшенню дисфункції динамічної м'язової відповіді. Відомо [24], що характер розвитку описаних патологічних процесів у швидких і повільних м'язах ідентичний. Отже, виявлені кінетичні ефекти на повільних *musculus soleus* мають поширюватися і на швидкі м'язові волокна, для яких ефекти точного позиціонування мають важливе практичне значення.

За терапевтичної дії C_{60} -фуллеренів (одноразова доза 1 мг/кг) спостерігається зменшення часу, потрібного для досягнення максимальної сили скорочення на 10–12% (рис. 2, б), що у випадку алкоголізованих м'язів сприяє якіснішій реалізації мотонейронами пулів активності, які кодують цілеспрямований рух кінцівок. На нашу думку, молекули C_{60} , в першу чергу, взаємодіють з вільними радикалами, які накопичуються у безпосередній близькості до клітинних мембран і спричиняють їх порушення. Відомо, що жиророзчинні та водорозчинні похідні C_{60} -фуллерену виявляють потужний захисний ефект на процеси ПОЛ [11], а, отже, сприяють збереженню цілісності мембрани, що є важливим чинником для скоротливої активності клітин скелетних м'язів. З іншого боку, завдяки майже сферичній формі, нанорозміру та гідрофобним властивостям C_{60} -фуллерени можуть проникати через мембрану всередину клітин [25, 26]. Крім того, вони здатні безпосередньо надходити в органели, де відбувається надмірне утворення вільних радикалів, зокрема у мітохондрії [27]. Можна також припустити, що протекторний вплив C_{60} -фуллеренів зумовлений їхньою здатністю впливати на перебіг запального процесу через макрофагальну ланку [28]. Це опосередковано підтверджується ще й тим, що за внутрішньовенного введення водорозчинного C_{60} -фуллерену спостерігається більш виражений протекторний вплив, ніж у випадку внутрішньом'язового [29].

Отже, з огляду на одержані результати, можна зробити такий висновок: алкогольна міопатія призводить до значних функціональних змін м'яза, причиною яких є виснаження клітинних

енергетичних субстанцій, особливо розпад АТФ, та зміна концентрації Кальцію у міоплазмі, що веде до різкого порушення гомеостазу та втрати йонного градієнта через клітинні мембрани, а також зменшує кількість поперечних актин-міозинових містків, які утворюються під час скорочення. Патологічні зміни опосередковуються дією АФК, які пошкоджують клітинні компоненти, зокрема сарколему та мітохондрії, на тлі пригнічення антиоксидантних систем організму. Виражений протекторний вплив C_{60} -фуллеренів на динаміку скорочення м'яза алкоголізованих щурів можна пояснити мембранотропними та потужними антиоксидантними властивостями цих молекул [30]. Одержані дані можуть бути корисними при дослідженні пониження скоротливої функції м'язів, а також пошуку ефективних терапевтичних засобів проти порушень роботи опорно-рухового апарату, пов'язаних з міотичними пошкодженнями на тлі алкогольної інтоксикації організму.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА—REFERECES

1. J. Fernandez-Sola, V. R. Preedy, and C. H. Lang et al., *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, **31**, No. 12: 1953 (2007).
2. R. Estruch, J. M. Nicolas, E. Villegas, A. Junque, and A. Urbano-Marquez, *Alcohol. Alcohol.*, **28**, No. 5: 543 (1993).
3. J. Garrica, E. Adanero, J. Fernandez-Sola, A. Urbano-Marquez, and R. Cusso, *Alcohol & Alcoholism*, **35**, No. 3: 236 (2000).
4. L. Lundin, R. Hallgren, C. Lidell, L. E. Roxin, and P. Venge, *Acta. Med. Scand.*, **219**, No. 4: 415 (1986).
5. T. Oba, M. Koshita, and M. Yamaguchi, *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, **272**, No. 2: 622 (1997).
6. J. B. Hoek, A. Cahill, and J. G. Pastorino, *Gastroenterology*, **122**, No. 7: 2049 (2002).
7. J. Adachi, M. Asano, Y. Ueno, O. Niemelä, K. Ohlendieck, T. J. Peters, and V. R. Preedy, *J. Nutr. Biochem.*, **14**, No 11: 616 (2003).
8. T. Hofer, C. Badouard, E. Bajak, J. L. Ravanat, A. Mattsson, and I. A. Cotgreave, *Biol. Chem.*, **386**, No. 4: 333 (2005).
9. T. Fujita, J. Adachi, Y. Ueno, T. J. Peters, and V. R. Preedy, *Metabolism*, **51**, No. 6: 737 (2002).
10. P. J. Krusic, E. Wasserman, P. N. Keizer, J. R. Morton, and K. F. Preston, *Science*, **254**, No. 5035: 1183 (1991).
11. 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).
12. R. Injac, M. Perse, M. Cerne, N. Potocnik, N. Radic, B. Govedarica, A. Djordjevic, A. Cerar, and B. Strukelj, *Biomaterials*, **30**, No. 6: 1184 (2009); doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.10.060.
13. P. Scharff, U. Ritter, O. P. Matyshevska, S. V. Prylutska, I. I. Grynyuk, A. A. Golub, Yu. I. Prylutsky, and A. P. Burlaka, *Tumori*, **94**, No. 2: 278 (2008).
14. 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).
15. 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.
 16. D. N. Nozdrenko, S. M. Berehovyi, N. S. Nikitina, L. I. Stepanova, T. V. Beregova, and L. I. Ostapchenko, *Biomed. Res.*, **29**, Iss. 19: 3629 (2018).
 17. I. I. Pipinos, S. A. Swanson, Z. Zhu, A. A. Nella, D. J. Weiss, T. L. Gutti, R. D. McComb, B. T. Baxter, T. G. Lynch, and G. P. Casale, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **295**, No. 1: 290 (2008); doi: 10.1152/ajpregu.90374.2008.
 18. A. Lejay, A. L. Charles, J. Zoll, J. Bouitbir, F. Thaveau, F. Piquard, and B. Geny, *Muscle Biopsy* (Eds. C. Sundaram) (Croatia: InTech: 2012), vol. **133**.
 19. D. N. Nozdrenko, A. N. Shut, and Y. I. Prylutsky, *Biopolymers and Cell*, **21**, No. 1: 80 (2005); <http://dx.doi.org/10.7124/bc.0006E0>.
 20. T. Tanabe, K. G. Beam, J. A. Powell, and S. Numa, *Nature*, **336**, No. 6195: 134 (1988).
 21. D. F. McKillop and M. A. Geeves, *Biophys. J.*, **65**, No. 2: 693 (1993).
 22. S. Gehlert, W. Bloch, and F. Suhr, *Int. J. Mol. Sci.*, **16**, No. 1: 1066 (2015); doi: 10.3390/ijms16011066.
 23. D. J. Marcinek, M. J. Kushmerick, and K. E. Conley, *J. Appl. Physiol.*, **108**, No. 6: 1479 (2010); doi: 10.1152/jappphysiol.01189.2009.
 24. I. B. Rácz, G. Illyés, L. Sarkadi, and J. Hamar, *Eur. Surg. Res.*, **29**, No. 4: 254 (1997).
 25. S. Foley, C. Crowley, M. Smaih, C. Bonfils, B. F. Erlanger, P. Seta, and C. Larroque, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **294**, No. 1: 116: (2002).
 26. C. Schuetze, U. Ritter, P. Scharff, A. Bychko, S. Prylutska, V. Rybalchenko, and Yu. Prylutsky, *Mater. Sci. Engineer. C*, **31**, No. 5: 1148 (2011).
 27. J. Lotharius, L. L. Dugan, and K. L. O'Malley, *J. Neurosci.*, **19**, No. 4: 1284 (1999).
 28. 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).
 29. 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).
 30. D. M. Nozdrenko, D. O. Zavodovsky, 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.

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv,
Volodymyrs'ka Str., 64,
UA-01601 Kyiv, Ukraine

²Lesya Ukrainka Eastern European National University,
13 Volya Avenue,
UA-43025 Lutsk, Ukraine

¹ Fig. 1. The C₆₀-fullerene aqueous colloid solution (0.15 mg/ml).

² Fig. 2. The change in the contraction force of the *musculus soleus* in alcoholic rats (a) and during the treatment with the C₆₀-fullerene aqueous colloid solution (b) by using the modulated electrostimulation for 2, 3, 4, and 5 s (relaxation time of 3 min); control—the control values of the contraction force.

³ Fig. 3. The change in the integrated power of the *musculus soleus* in alcoholic rats (a) and during the treatment with the C₆₀-fullerene aqueous colloid solution (b) depending on the time of stimulation: 1, 2, 3, 4—the pulse duration of 2, 3, 4, and 5 s, respectively; control—the control values of integrated power of muscle.