

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

Активация рецептора холода и ментола TRPM8 улучшает посттравматическое восстановление *muscle soleus* крысы при фуллереновой терапии

Д. Н. Ноздренко¹, Т. Ю. Матвиенко¹, О. В. Выговская², В. Н. Сорока¹,
Е. И. Богущкая¹, Н. Е. Нурищенко¹, Ю. И. Прилуцкий¹, А. В. Жолос¹

¹Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,
ул. Владимирская, 64,
01601 Киев, Украина

²Национальный медицинский университет им. А. А. Богомольца,
бульв. Тараса Шевченко, 13,
01601 Киев, Украина

Исследованы биомеханические параметры *muscle soleus* крыс на протяжении первых трёх суток развития посттравматического синдрома, вызванного разрушением мышечных клеток посредством компрессии. В качестве терапевтических агентов были применены инъекции антиоксиданта C₆₀-фуллерена и селективного агониста TRPM8-каналов — ментола. Инъекции водного коллоидного раствора C₆₀-фуллерена (концентрацией 1 мг/кг) в повреждённую мышцу улучшали её сократительную функцию на 25–30%. Применение комплексных инъекций C₆₀-фуллерена и ментола (концентрацией 1 мкг/кг) улучшало этот показатель дополнительно на 17–19%, одновременно стабилизируя уменьшение мышечной силы, наблюдаемое на протяжении всего эксперимента. Выявленный синергизм действия ментола и водного раствора C₆₀-фуллерена на посттравматический процесс восстановления функции скелетной мышцы открывает новые перспективы для клинического применения такой комбинированной терапии.

Досліджено біомеханічні параметри *muscle soleus* щурів упродовж перших трьох діб розвитку посттравматичного синдрому, викликаного руйнуванням м'язових клітин внаслідок компресії. Як терапевтичні агенти, було застосовано ін'єкції антиоксиданта C₆₀-фуллерену та селективного агоніста TRPM8-каналів — ментолу. Ін'єкції водного колоїдного розчину C₆₀-фуллерену (концентрацією у 1 мг/кг) у пошкоджений м'яз поліпшували його скоротливу функцію на 25–30%. Застосування комплексних ін'єкцій C₆₀-фуллерену та ментолу (концентрацією у 1 мкг/кг) поліпшувало цей показник додатково на 17–19%, одночасно

стабілізує зменшення м'язової сили, яке спостерігали упродовж усього експерименту. Виявлений синергізм дії ментолу та водного розчину C₆₀-фуллерену на посттравматичний процес відновлення функції скелетного м'яза відкриває нові перспективи для клінічного застосування такої комбінованої терапії.

The biomechanical parameters of *muscle soleus* of rats during the first 3 days of development of the posttraumatic syndrome caused by destruction of muscle cells by means of the mechanical compression are studied. Injections of both C₆₀ fullerene antioxidant and menthol, which is the selective agonist of TRPM8 cold receptors, are used as therapeutic agents. Injections of an aqueous colloidal solution of C₆₀ fullerene (at concentration of 1 mg/kg) into the damaged muscle improve its contractile function by 25–30%. Application of combined injections of C₆₀ fullerene and menthol (at concentration of 1 mg/kg) improve this indicator by an extra 17–19%, while stabilizing the decrease in muscle strength observed throughout all experiments. The revealed synergy effect of menthol and aqueous solution of C₆₀ fullerene on posttraumatic process of restitution of skeletal muscle function opens up new prospects for the clinical application of such a combined therapy.

Ключевые слова: *muscle soleus*, мышечное сокращение, мышечная травма, C₆₀-фуллерен, ментол, терапия.

Ключові слова: *muscle soleus*, м'язове скорочення, м'язова травма, C₆₀-фуллерен, ментол, терапія.

Keywords: *muscle soleus*, muscular contraction, muscle injury, C₆₀ fullerene, menthol, therapy.

(Получено 9 ноября 2019 г.)

1. ВВЕДЕНИЕ

Механические повреждения являются наиболее распространённым типом повреждений скелетных мышц, которые подразделяются на такие разновидности: растяжение, ушиб и разрыв. Первые два из них не представляют собой серьёзной угрозы потери контроля над функционированием мышцы. Однако разрыв мышечных тканей, особенно в тяжёлых его формах, без соответствующего лечения может проявиться как фатальная патология, приводящая к полной или частичной инвалидности или даже смерти пациента.

Для всех мышечных травм характерна общая особенность — способность восстанавливаться, независимо от причины травмы, посредством процесса, называемого воспалительной реакцией. Эта реакция является приспособительной функцией организма и

направлена на деструкцию агента, вызвавшего этот процесс, и восстановление повреждённой ткани.

Эта реакция тканей на действие повреждающего фактора включает несколько фаз, таких как альтерация (стадия начала воспаления), экссудация (выход плазмы и клеток крови из сосудов в ткани и органы) и пролиферация (стадия восстановления). Одновременно возникают сосудистые реакции — кратковременные спазмы, артериальная и венозная гиперемия. Известно также, что воспалительные реакции являются следствием генерации в повреждённых тканях большого количества свободнорадикальных агентов, запускающих каскад патологических реакций, направленных, в первую очередь, на разрушении целостности мембран клеток.

Следует отметить, что своевременная терапия на ранних сроках возникновения мышечных травм в состоянии оптимизировать процесс регенерации и заживления скелетных мышц и, таким образом, предупредить развитие серьёзных посттравматических осложнений, а также способствовать ускорению их полного посттравматического восстановления.

Антиоксидантная терапия основана на том, что молекулы антиоксиданта нейтрализуют свободные радикалы в местах патологии. При этом определить оптимальную дозу антиоксиданта для лечения конкретного патологического процесса достаточно сложно. Известно, что одна молекула C_{60} -фуллерепа способна присоединять 34 метильных радикала [1]. Применение фуллереновой терапии значительно уменьшает уровень свободнорадикальных агентов на начальных стадиях развития мышечных патологий и приводит к существенным положительным результатам [2, 3]. Полученные данные являются перспективными для использования C_{60} -фуллерепа, как мощного антиоксиданта, при мышечной травме. Однако ранее проведённые исследования касались относительно не тяжёлых мышечных патологий. Мышечная травма с разрывом мышечных тканей является тяжелейшей мышечной патологией, осложнённой болевой симптоматикой высокого уровня. Поэтому применение только фуллереновой терапии, по нашему мнению, не является достаточным для адекватной модели предстоящего лечения.

В последнее время внимание исследователей все больше привлекают катионселективные рецепторами управляемые и сенсорные каналы суперсемейства TRP (Transient Receptor Potential) как терапевтические мишени для коррекции различных патологических состояний [4]. Такой интерес обусловлен тем, что разные изоформы TRP-каналов задействованы в целом спектре ключевых сенсорных и эффекторных процессов [5, 6]. В данной работе в качестве дополнительного агента при фуллереновой терапии

мышечной травмы был использован ментол — селективный активатор рецептора холода TRPM8. TRPM8 экспрессирован в разных тканях, в том числе и в мышцах [7]. Ранее было показано, что ментол, как активатор TRPM8-канала, обеспечивает значительное уменьшение болевых проявлений, связанных с мышечными травмами [8]. Он улучшает энергетический метаболизм и повышает выносливость скелетной мышцы, что предполагает его терапевтическое применение для профилактики и лечения миотических заболеваний [9]. Кроме того, активация TRPM8 оптимизирует тонус сосудов и, соответственно, улучшает снабжение тканей кровью [10], а также оказывает противовоспалительное действие [11].

2. МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Эксперименты проводили на 30 крысах-самцах линии Wistar в возрасте 3 месяца, весом 170 ± 5 г. Анестезию животных проводили внутрибрюшным введением нембутала (40 мг/кг). Мышечную травму вызывали, сжимая мышцу на 1 мин зажимом с давлением $3,5 \text{ кг/см}^3$ [12]. Подготовка эксперимента также включала канюлирование (*a. carotis communis sinistra*) для ввода фармакологических препаратов и измерения давления, трахеотомию и ламинэктомию на уровне поясничного отдела спинного мозга. Камбаловидную мышцу крысы (*muscle soleus*) освобождали от окружающих тканей. В дистальной части перерезали её сухожильную часть. Для модулированной стимуляции эфферентов в сегментах L7–S1 перерезали вентральные корешки в местах их выхода из спинного мозга. Стимуляцию эфферентов в сегментах L7–S1 осуществляли электрическими импульсами длительностью 2 мс, сформированными с помощью АЦП-генератора импульсов через платиновые электроды. Силу сокращения мышцы измеряли с помощью тензометрических датчиков. Характеристики стимулирующего сигнала задавали программно и передавали из комплекса АЦП–ЦАП на генератор. Контроль внешней нагрузки на мышцу осуществляли с помощью системы механостимуляторов. Возмущения нагрузки проводили линейным электромагнитным двигателем [13].

Чтобы вызвать мышечное утомление использовали десятиминутные серии электрической стимуляции частотой 1 Гц. Сила тока, при которой мышца начинала сокращаться, считалась пороговой; дальнейшая стимуляция выполнялась с силой 1,3–1,4 порога [14].

Для получения водного раствора C_{60} -фуллеренов (C_{60} ФВР) был использован метод, основанный на переводе этих углеродных наноструктур из толуола в воду с последующей обработкой уль-

тразвуком [15, 16]. Полученный C_{60} ФВР является типичным коллоидный раствором, содержащим как одиночные молекулы C_{60} ($\cong 0,7$ нм), так и их наноагрегаты размером 1,2–100 нм [17, 18]. Кроме того, C_{60} ФВР оказался стабильным на протяжении 12 месяцев при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ и даже при комнатной температуре в течение 8 месяцев.

Ментол и C_{60} ФВР вводили внутримышечно в одинаковой концентрации 1 мг/кг на 1 кг веса животного.

Важно отметить, что в соответствии с нашими предыдущими исследованиями C_{60} ФВР не проявляют никаких токсических эффектов в системах *in vitro* (по крайней мере, при низких концентрациях) [19], а его максимальная переносимая доза составляет 721 мг/кг при внутрибрюшинном введении мышам [20].

Статистическую обработку результатов измерения проводили методами вариационной статистики с помощью программного обеспечения Origin 9.4. Проводили не менее 5–6 повторов для каждого измерения.

В работе проведён анализ развития усталостных процессов при развитии исследуемой патологии при применении 1 Гц-безрелаксационной стимуляции. Оценку развития усталости проводили методом расчётов временных интервалов при достижении 50% и 25% уровней силовых ответов при стимуляционных раздражениях. Следует отметить, что в контрольных значениях изменения этого показателя имело длительные (несколько часов) временные рамки. При применении на контрольных животных ментола, C_{60} ФВР и их совместных инъекций показатели развития усталостных процессов не имели достоверного отличия от контрольных значений.

Интегрированная мощность мышечного сокращения, рассчитанная как площадь под силовой кривой, является физиологическим аналогом работоспособности мышцы при применённых стимуляционных пулах. Анализ этого параметра позволил оценить особенности формирования мышечной активности в системе равновесия «реакция силы сокращения–внешняя нагрузка».

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Применённый нами синдром раздавливания (*Crush Syndrome* (CS)) — системное проявление разрушения мышечных клеток, вызванное компрессией, провоцирующее высвобождение компонентов клетки (креатинкиназы, молочной кислоты и миоглобина и др.) во внеклеточную жидкость, как фактор мышечной травмы, выявил значительное уменьшение силовой реакции мышцы с прогрессирующей временной симптоматикой (рис. 1). Уменьшение интегрированной мощности мышечного сокращения состави-

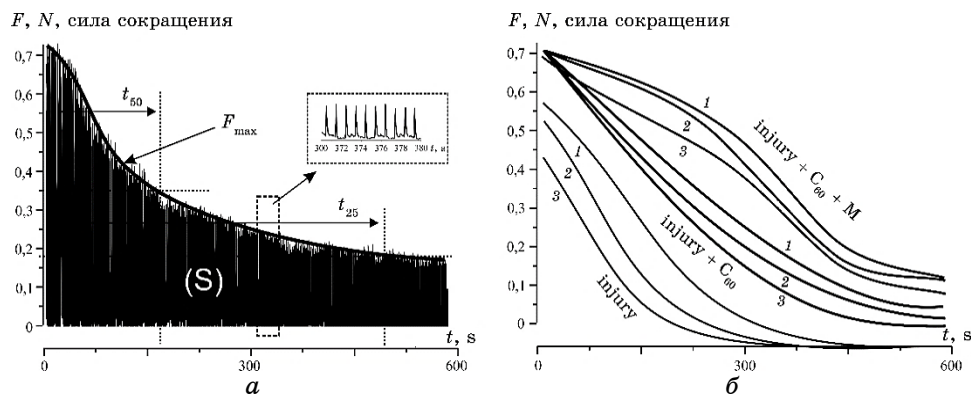


Рис. 1. Кривые генерации силы сокращения *muscle soleus*, вызванные стимуляционным раздражением частой 1 Гц и длительностью 600 с: *a* — анализируемые маркеры развития усталостных процессов; *b* — кривые максимальных силовых ответов мышцы при применении терапевтических агентов (C_{60} -фуллереина (C_{60}) и ментола (M)); F_{\max} — максимальный силовой ответ мышцы; (S) — интегрированная мощность мышечного сокращения; t_{50} и t_{25} — время достижения 50% и 25% от исходной амплитуды мышечной силы; 1, 2, 3 — кривые максимальных силовых ответов на 1-е, 2-е и 3-и сутки после мышечной травмы; injury, injury + C_{60} , injury + C_{60} + M — травма, травма на фоне инъекций C_{60} и C_{60} с M соответственно.¹

ло $46\% \pm 0,6$, $31\% \pm 0,8$ и $15\% \pm 1,2$ от контрольных значений на 1, 2 и 3 сутки после травмы, соответственно. Время падения максимальных силовых показателей на 50% составило $100 \pm 1,7$, $78 \pm 1,3$ и $54 \pm 2,1$ с, а на 25% — $121 \pm 0,8$, $107 \pm 1,1$ и $78 \pm 2,3$ с на 1, 2 и 3 день после травмы, соответственно (рис. 2). Временной анализ заживления травмы икроножной мышцы показал, что полная регенерация происходит через 3–5 дней после травмы [21]. Вследствие этого анализ биомеханических показателей сокращения после трёх суток после травмы включал бы в себя различные стадии регенеративных восстановительных процессов и препятствовал адекватному анализу полученных результатов.

Применение инъекции C_{60} -фуллереина существенно улучшало динамику сократительного процесса повреждённой мышцы. Так, уменьшение интегрированной мощности составило $63\% \pm 1,6$, $58\% \pm 1,9$ и $42\% \pm 2,3$ от максимальных значений силы на 1-й, 2-й и 3-й день после травмы, что на $27\text{--}30\% \pm 2,9$ меньше, чем для повреждённой мышцы без его применения (рис. 1). Время достижения максимальных силовых показателей 50% уровня от первоначальных значений составило 256 ± 11 , 321 ± 9 и 211 ± 5 с, а 25% уровня — 325 ± 9 , 301 ± 7 и 276 ± 6 с на 1-й, 2-й и 3-й день после травмы соответственно (рис. 2), что на $30\text{--}32\% \pm 1,4$ боль-

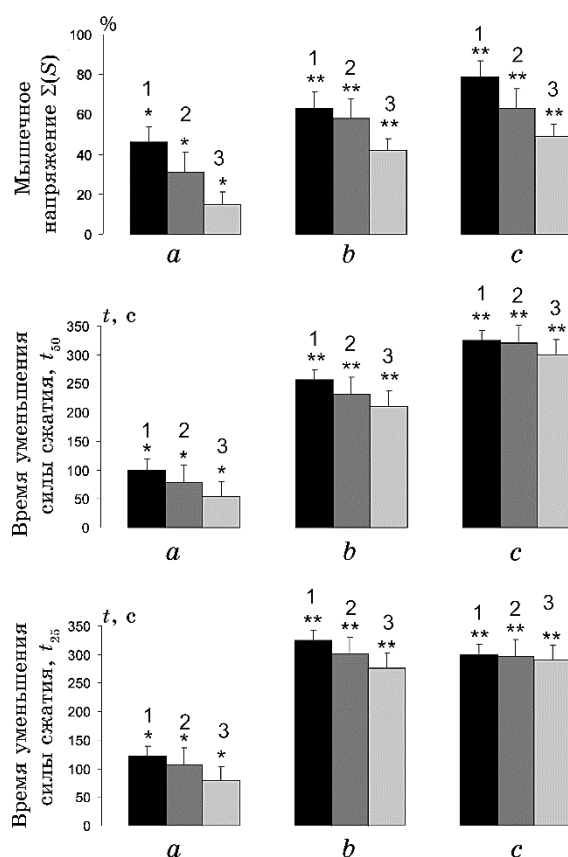


Рис. 2. Биомеханические параметры мышечной усталости посттравматической мышцы при применении терапевтических агентов: *a*, *b* и *c* — травма, травма на фоне инъекций C_{60} -фуллерена и C_{60} -фуллерена с ментолом, соответственно. * $p < 0,05$; ** $p < 0,05$ относительно группы *a*.²

ше, чем для травмированной мышцы (контроль). Таким образом, эти данные свидетельствуют о значительной положительной динамике терапевтического применения C_{60} ФВР. Однако следует отметить, что данная терапия не приводит к существенным биомеханическим изменениям в характере протекания сократительных процессов. По нашему мнению, инактивация возникших свободных радикалов C_{60} -фуллередами снижает уровень тяжести травмы в мышце на 25–30%, что, хоть и является положительным моментом применённой терапии, не обеспечивает существенного прогресса в процессе полного восстановления мышечных функций.

Большие различия в отношении тяжести травмы и поражённой группы мышц, а также неспецифичность сообщаемых симптомов

усложняют исследования, направленные на поиск подходящего лечения мышечных травм. Поэтому, чтобы увеличить шансы найти эффективное лечение, важно понять механизмы, присущие этому типу повреждений скелетных мышц, а также клеточные процессы, участвующие в заживлении мышц после ушиба. Возможно, наиболее важным из этих процессов является воспаление как последовательный и длительный системный ответ.

Воспалительный ответ зависит от двух факторов, а именно степеней физического повреждения и васкуляризации мышц во время травмы. Тем не менее, длительное противовоспалительное лечение не обязательно является эффективным для ускорения заживления, на что указывают различные исследования по терапии мышечных травм [22]. Из-за целого ряда этических факторов исследования воспалительного ответа тканей человека на травму ограничены, но экспериментальные модели на животных дают достаточно полную информацию для изучения повреждения мышц и их регенерации. Однако методы, используемые в настоящее время для индукции механических повреждений, значительно различаются с точки зрения инвазивности, инструментов, используемых для индуцирования повреждения, группы мышц, выбранной для повреждения и сократительного статуса мышцы. Все это оказывает влияние на иммунные или цитокиновые реакции, что, безусловно, затрудняет интерпретацию полученных результатов.

Ранняя фаза восстановления механической мышечной травмы характеризуется пересекающимися процессами воспаления и возникновением вторичных повреждений. Хотя проникновение нейтрофилов было названо одной из причин увеличения воспалительного процесса, отсутствуют чёткие доказательства в поддержку этого утверждения. Было показано, что макрофаги, хотя и являются частью воспалительного ответа, играют важную роль в восстановлении, а не в усугублении вторичного повреждения [21]. Главную роль в инициации воспалительных реакций играет каскадное, прогрессирующее увеличение свободнорадикальных компонентов. Способность C_{60} -фуллерена эффективно нейтрализовать свободные радикалы [1–3, 22–24], по нашему мнению, является основной причиной полученных позитивных результатов применённой терапии.

Следует также отметить, что в процессе развития воспалительной реакции мышцы на травматическое повреждение в зоне первичной альтерации интенсивность метаболизма снижена вследствие нарушения функций клеток, а в зоне вторичной альтерации — повышена за счёт обмена углеводов (в том числе гликолиза полисахаридов). Также повышается потребление кислорода и выделение углекислоты. В этом случае потребление кислорода превышает выделение углекислоты, поскольку окисление не все-

гда проходит до окончательного образования углекислого газа (нарушение цикла Кребса). Это приводит к накоплению в зоне воспаления недоокислённых продуктов обмена, которые могут инактивироваться C_{60} -фуллеренами, оптимизируя процессы восстановления мышцы на этой стадии воспалительного процесса [3, 22].

Анализ функции рецептора холода TRPM8 и его экспрессии подтвердил существование тесной связи его активации с сенсорными реакциями нейронов, ответственными за вызывание острой или постоянной боли. Биофизическая и фармакологическая характеристика этих каналов обеспечила техническую основу для разработки новых классов обезболивающих препаратов [25]. Считается, что погружение в холодную воду (холодовая активация канала TRPM8) после тренировки снижает мышечную усталость и болезненность и, таким образом, является часто используемым методом восстановления после тренировки [26]. При исследовании функциональной, морфологической и молекулярной адаптации скелетной мышцы к силовым тренировкам при десятиминутном погружении её в холодную воду и активном восстановлением после каждой тренировки также выявили значительное увеличение мышечной силы [27].

В тоже время показано, что холодная терапия не снижает скорость ресинтеза гликогена в мышцах во время посттравматического восстановления [28]. Кроме того, местное охлаждение тканей снижает отёк и воспалительную реакцию и может быть полезным для уменьшения воспалительного ответа без ингибирования кровотока после контузии скелетной мышцы [29].

Терапевтическое действие ментола подтверждается рядом исследований. Так, на ранних стадиях травмы мягких тканей обычно лечат ледяным или ментоловым гелем. В нескольких исследованиях сравнивали влияние этих методов терапии на кровоток и мышечную силу. В частности, было показано, что ментол обладает более быстродействующим и кратковременным эффектом, снижающим кровоток [30]. Применение окклюзионного пластыря, содержащего 3% ментола, для лечения слабой и умеренной мышечной боли на 208 пациентах выявило значительное облегчение боли по сравнению с пациентами, получавшими плацебо [31]. Результаты использования геля на основе ментола 197 амбулаторными пациентами показали, что время возобновления функциональной активности сокращалось, как правило, на 2–6 дней при повреждениях мышечной ткани средней степени тяжести [32]. В то же время повышение температуры конечностей или всего тела крыс значительно ухудшило их выживаемость. Обнаружено гораздо более низкую выживаемость у животных на уровне 0–10%, у которых задние конечности прогревались во

время CS-компрессии [33].

Показано, что в посттравматической мышце, на стадии альтерации, на месте повреждения происходит локальное расширение сосудов, вследствие чего увеличивается кровоснабжение, замедляется кровоток и, как следствие, имеет место локальное повышение температуры. Увеличение проницаемости стенки капилляров ведёт к выходу лейкоцитов, макрофагов и жидкой части крови (плазмы) в месте повреждения — отёк, который в свою очередь, сдавливая нервные окончания, вызывает боль. Недавние исследования показывают, что неселективные катионные каналы TRPM млекопитающих (TRPM1-8) экспрессируются в эндотелии и гладких мышцах сосудов. При активации этих каналов увеличивается проницаемость мембраны к натрию, калию, кальцию и магнию, возникает деполяризация мембраны и, таким образом, изменяется сосудистый тонус. Активация рецептора холода TRPM8 ментолом регулирует тонус сосудов, оптимизируя их нормальное физиологическое состояние и кровоток [10, 34].

Возможно, на полученные нами эффекты влияет и эта особенность действия ментола, что подтверждает необходимость проведения дальнейших исследований. Таким образом, полученные эффекты относительно терапевтического действия ментольных инъекций в травмированную мышцу можно описать как минимум четырьмя составляющими: уменьшением болевой симптоматики, уменьшением воспалительных реакций (вероятно, синергически с аналогичным действием C₆₀-фуллеренов), улучшением метаболических реакций и изменением сосудистого тонуса.

Выявленный синергизм терапевтического действия ментола и C₆₀ФВР на посттравматический процесс восстановления скелетной мышцы требует его дальнейшего детального исследования с целью проведения клинических испытаний.

ПРИЗНАТЕЛЬНОСТЬ

Авторы выражают благодарность МОН Украины за финансовую поддержку (грант № 19БФ036-01).

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА—REFERENCES

1. J. Krustic, E. Wasserman, P. N. Keizer, J. R. Morton, and K. F. Preston, *Science*, **254**, No. 5035: 1183 (1991); doi: 10.1126/science.254.5035.1183.
2. D. N. Nozdrenko, K. I. Bogutska, O. Yu. Artemenko, N. Ye. Nurishchenko, and Yu. I. Prylutsky, *Nanosistemi, Nanomateriali, Nanotehnologii*, **16**, No. 4: 745 (2018).
3. S. Y. Zay, D. A. Zavadovskyi, K. I. Bogutska, D. N. Nozdrenko, and Y. I. Prylutsky, *Fiziol. Zh.*, **62**, No. 3: 66 (2016).

4. A. Dietrich, *Cells*, **8**, No. 5: 413 (2019); doi: 10.3390/cells8050413.
5. D. O. Dryn, M. I. Melnyk, L. Al. Kury, Yu. I. Prylutsky, U. Ritter, and A. V. Zholos, *Cell. Signal.*, **43**: 40 (2018); doi: 10.1016/j.cellsig.2017.12.003.
6. M. I. Melnyk, I. V. Ivanova, D. O. Dryn, Yu. I. Prylutsky, V. V. Hurmach, M. Platonov, L. T. Al. Kury, U. Ritter, A. I. Soloviev, and A. V. Zholos, *Nanomed.: NBM*, **19**: 1 (2019).
7. C. Kunert-Keil, F. Bisping, J. Krüger, and H. Brinkmeier, *BMC Genomics*, **7**: 159 (2006); doi:10.1186/1471-2164-7-159.
8. Y. Higashi, T. Kiuchi, and K. Furuta. *Clin. Ther.*, **32**, No. 1: 34 (2010); doi: 10.1016/j.clinthera.2010.01.016.
9. C. Li, J. Li, X. Xiong, Y. Liu, and et al., *Gene*, **641**: 111 (2018); doi: 10.1016/j.gene.2017.10.045.
10. C. D. Johnson, D. Melanaphy, A. Purse, S. A. Stokesberry, P. Dickson, and A. V. Zholos. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **296**: H1868 (2009), doi: 10.1152/ajpheart.01112.2008.
11. X.-P. Wang, X. Yu, X.-J. Yan, F. Lei, Y.-S. Chai, J.-F. Jiang, Z.-Y. Yuan, D.-M. Xing, and L.-J. Du, *Scientific Reports*, **7**: 45155 (2017); doi: 10.1038/srep45155.
12. Jd. Souza and C. Gottfried, *J. Electromyogr. Kinesiol.*, **23**, No. 6: 1253 (2013); doi: 10.1016/j.jelekin.2013.07.009.
13. 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).
14. D. N. Nozdrenko, S. M. Berehovyi, N. S. Nikitina, T. V. Beregova, and L. I. Ostapchenko, *Biomed. Research.*, **29**, No. 19: 3629 (2018).
15. A. Golub, O. Matyshevska, S. Prylutska, V. Sysoyev, L. Ped, V. Kudrenko, E. Radchenko, Yu. Prylutsky, P. Scharff, and T. Braun, *J. Mol. Liq.*, **105**, Nos. 2–3: 141 (2003).
16. 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).
17. 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, *Phys. Lett.*, **496**, Nos. 1–3: 152 (2010).
18. 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).
19. M. Tolkachov, V. Sokolova, V. Korolovych, Yu. Prylutsky, M. Epple, U. Ritter, and P. Scharff, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, **47**, Nos. 2–3: 216 (2016).
20. S. V. Prylutska, A. G. Grebinyk, O. V. Lynchak, I. V. Byelinska, V. V. Cherepanov, E. Tauscher, O. P. Matyshevska, Yu. I. Prylutsky, V. K. Rybalchenko, U. Ritter, and M. Frohme, *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct.*, **27**, No. 9: 715 (2019).
21. T. Hurme, H. Kalimo, M. Lehto, and M. Järvinen, *Med. Sci. Sports Exerc.*, **23**, No. 7: 801 (1991).
22. 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**, No. 115 (2017); doi: 10.1186/s11671-017-1876-4.

23. 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.
24. O. O. Gonchar, A. V. Maznychenko, N. V. Bulgakova, I. V. Vereshchaka, T. Tomiak, U. Ritter, Yu. I. Prylutskyy, I. M. Mankovska, and A. I. Kostyukov, *Oxidative Med. Cell. Longevity*, **2018**, Article ID 2518676 (2018).
25. D. Julius, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **29**: 355 (2013); doi: 10.1146/annurev-cell-bio-101011-155833.
26. N. G. Versey, S. L. Halson, and B. T. Dawson, *Sports Med.*, **43**, No. 11: 1101 (2013); doi: 10.1007/s40279-013-0063-8.
27. L. A. Roberts, T. Raastad, J. F. Markworth, V. C. Figueiredo, I. M. Egner, A. Shield, D. Cameron-Smith, J. S. Coombes, and J. M. Peake, *J. Physiol.*, **593**, No. 18: 4285 (2015); doi: 10.1113/JP270570.
28. W. Gregson, R. Allan, S. Holden, P. Phibbs, D. Doran, I. Campbell, S. Waldron, C. H. Joo, and J. Morton, *Med. Sci. Sports Exerc.*, **45**: 1174 (2013); doi: 10.1249/MSS.0b013e3182814462.
29. H. Lee, H. Natsui, T. Akimoto, K. Yanagi, N. Oshshima, and I. Kono, *Med. Sci. Sports Exerc.*, **37**, No. 7: 1093 (2005); doi: 10.1249/01.mss.0000169611.21671.2e.
30. R. Topp, L. Winchester, A. M. Mink, J. S. Kaufman, and D. E. Jacks, *J. Sport Rehabil.*, **20**, No. 3: 355 (2011).
31. Y. Higashi, T. Kiuchi, and K. Furuta, *Clin. Ther.*, **32**, No. 1: 34 (2010); doi: 10.1016/j.clinthera.2010.01.016.
32. J. W. Isbary and H. Zeller, *Fortschr. Med.*, **101**, No. 29: 1351 (1983).
33. T. Nakayama, M. Fujita, and M. Ishihara, *J. Surg. Res.*, **188**, No. 1: 250 (2014).
34. A. Zholos, C. Johnson, T. Burdyga, and D. Melanaphy, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **704**: 707 (2011); doi: 10.1007/978-94-007-0265-3_37.

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv,
64, Volodymyrska Str.,
UA-01601 Kyiv, Ukraine

²Bogomolets National Medical University of Kyiv,
13, Taras Shevchenko Blvd.,
UA-01601 Kyiv, Ukraine

¹**Fig. 1.** Original recordings of the *muscle soleus* contraction force generation caused by stimulation with a frequency of 1 Hz duration of 600 s: *a*—the analysed markers of the development of fatigue processes; *σ*—curves of the maximum muscle force responses when using therapeutic agents (C₆₀ fullerene (C₆₀) and menthol (M)); *F*_{max} is a maximum muscle force response; (S) is the integrated muscle contraction power; *t*₅₀ and *t*₂₅ are the time to reach 50% and 25% of the initial muscle force; 1, 2, 3 are curves of maximum force responses for 1, 2 and 3 days after muscle injury; injury, injury + C₆₀, injury + C₆₀ + M are injury, injury during injections of C₆₀ and C₆₀ with M, respectively.

²**Fig. 2.** Biomechanical parameters of muscle fatigue of posttraumatic muscle when application of therapeutic agents: *a*, *b* and *c*—injury, injury during injections of C₆₀ fullerene and C₆₀ fullerene with menthol, respectively. **p* < 0.05; ***p* < 0.05 relative to group *a*.