

PACSnumbers: 81.16.Fg, 87.16.dp, 87.16.dr, 87.19.Ff, 87.19.lt, 87.19.R-, 87.19.xn, 87.85.G-

C₆₀-фуллерен сприяє відновленню точного позиціонування *muscle soleus* після спричиненої ахіллотомією атрофії

Д. М. Ноздренко¹, О. П. Мотузюк^{1,2}, О. В. Долгополов³,
І. В. Пампуха¹, К. І. Богущька¹

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
вул. Володимирська, 64/13,
01601 Київ, Україна

²Волинський національний університет імені Лесі Українки,
просп. Волі, 13,
43025 Луцьк, Україна

³ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»,
вул. Бульварно-Кудрявська, 27,
01054 Київ, Україна

Досліджено вплив водного розчину C₆₀-фуллеренів (щоденна пероральна доза — 1 мг/кг) на відновлення гістерезисних ефектів м'язового скорочення, відповідальних за корекцію точного позиціонування суглобів за розвитку атрофічних змін, пов'язаних із довготривалим знерухомленням. Для розвитку атрофії м'язів використовували клінічний модель розриву Ахіллового сухожилля. Фіксація параметрів скорочення м'яза робилася на 15-ту, 30-ту й 45-ту добу після ініціації атрофії. Одержані результати підтверджують ефективність дії C₆₀-фуллеренів на функції антиоксидантної системи організму за розвитку патологічних процесів.

The effect of C₆₀-fullerene aqueous solution (with daily oral dose of 1 mg/kg) on the restoration of hysteresis effects of muscle contraction responsible for the correction of the precise positioning of joints in the development of atrophic changes associated with long-term immobilisation is investigated. A clinical model of Achilles-tendon rupture is used to study the development of muscle atrophy. Muscle-contraction parameters are recorded on the 15th, 30th, and 45th day after the initiation of atrophy. The obtained results confirm the effectiveness of C₆₀-fullerenes' influence on the functions of the antioxidant system in the development of pathological processes.

Ключові слова: *muscle soleus*, атрофія, C₆₀-фуллерен, біомеханічні параметри.

Key words: *muscle soleus*, atrophy, C₆₀ fullerene, biomechanical parameters.

(Отримано 29 січня 2024 р.)

1. ВСТУП

М'язова атрофія — це втрата м'язової маси та сили, що виникає під час багатьох захворювань, зокрема, таких як рак, СНІД, серцева та ниркова недостатність, тяжкі опіки тощо [1]. Тривале знерухомлення є однією з основних причин атрофії м'язів [2], що істотно погіршує якість життя хворих [3]. Під час аналізу розвитку атрофії недостатньо уваги приділяється нелінійним (гістерезним) ефектам скорочення м'язів, адже порушення їхнього функціонування може призводити до втрати точного позиціонування суглобів [4]. Такі порушення виникають під час отруєнь [5], розвитку м'язової втоми [6], травмах опорно-рухового апарату [7].

Для розуміння нелінійних особливостей м'язової динаміки важливим є питання модифікування скорочувальних механізмів під впливом змін механічного стану м'яза внаслідок руху [8]. Крім того, ще одна важлива нелінійна властивість скорочувального апарату проявляється у формі співвідношення між вже виробленою та майбутньою (що ще розвивається) силою, яке істотно змінюється за наявності навіть незначних патологічних процесів, які впливають на систему «нейрон–м'яз» [9]. Вважають, що у випадку циклічного поступального руху відбувається поглинання механічної енергії [8], завдяки чому активні м'язи функціонують в автоколивному режимі. Водночас виникають високочастотні ритмічні рухи, що істотно адаптує м'язову систему до реалізації наступних складних модуляційних сигналів. Цей так званий ефект передісторії руху відіграє важливу роль у відтворенні точності рухів. Тому навіть незначні м'язові та нервові патології, насамперед, впливають на систему контролю м'язових реакцій [9, 10].

Нині відсутні методи ефективного лікування м'язової атрофії. У літературі повідомляється про наявність потенційних препаратів, які можуть регулювати втрату м'язової маси. Механізм їхньої дії базується на пониженні активності міостатину, циклооксигенази-2, прозапальних цитокінів, опосередкованих катаболічним виснаженням, або підвищенні активності циклічного АМФ-рецептора, що активує проліфератор пероксисом [11]. Водночас більшість з цих препаратів проявляють небажані побічні (токсичні) ефекти. Особливу увагу наразі приділяють сполукам, які мають антиоксидантні властивості [12]. Показано, що флавоноїдна олія солодки, що містить глабридин, який виявляє сильні антиоксидантні властивості, збільшує масу м'язів мишей за їхньої атрофії [13]. З іншого боку, під час вивчення впливу антиоксиданту вітаміну С на загоєння Ахіллового сухожилля у щурів не ви-

явили переваг перорального приймання досліджуваної добавки в синтезі колагену або поліпшенні біомеханічних властивостей атрофованих м'язів [14]. Молекула C₆₀ здатна ефективно захоплювати й інактивувати вільні радикали у системах *in vitro* та *in vivo* [15, 16]. У наших попередніх роботах було показано, що введення водорозчинних C₆₀-фуллеренів після ініціації м'язової травми й отруєння організму пестицидами приводить до значних терапевтичних ефектів [17, 18]. Відтак, метою цієї роботи було оцінити здатність C₆₀-фуллеренів як потужних антиоксидантів понижувати патологічний вплив м'язової атрофії, викликаної довготривалим знерухомленням, на гістерезні ефекти скорочення *muscle soleus* щурів.

2. МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

Для одержання водного розчину C₆₀-фуллеренів було застосовано методу, яка ґрунтується на переведенні молекул C₆₀ з толуолу у воду з подальшим обробленням ультразвуком [19]. Одержаний водний розчин цієї сполуки за максимальної концентрації у 0,15 мг/мл є типовим наноколоїдом [20] і залишається стабільним упродовж 12–18 місяців за температури у +4–25°C.

Експерименти проводили на щурах-самцях лінії Wistar віком у 1–3 місяці та вагою у 200±6 г. Протокол дослідження був затверджений комісією з питань біоетики ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка 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 № 3447–IV від 21.02.2006 р. (м. Київ) «Про захист тварин від жорстокого поводження» під час проведення медико-біологічних досліджень.

Анестезію тварин здійснювали внутрішньоочеревинним введенням нембуталу (40 мг/кг). Перед початком дослідження щури піддавалися ахіллотомії — перерізу Ахіллесового сухожилля [21]. Досліджували 4 групи тварин: контроль і після 15, 30 та 45 діб після ахіллотомії. Введення водного розчину C₆₀-фуллеренів здійснювали перорально, щоденно дозою в 1 мг/кг упродовж експерименту.

Muscle soleus звільняли від навколишніх тканин; у дистальній частині його сухожильну частину приєднували до датчиків вимірювання сили. Дослідження динамічних властивостей м'язового скорочення проводили в умовах активації м'яза з використанням методи модульованої стимуляції еферентів [22]. Стимуляцію еферентів здійснювали електричними імпульсами тривалістю у 2 мс, сформованими за допомогою генератора імпульсів. Використову-

вали 3 пули безрелаксаційних стимуляцій частотою у 50 Гц і тривалістю у 3 с кожний. Силу скорочення м'яза реєстрували за допомогою тензодатчиків.

Статистичну обробку результатів мірювання проводили методами варіаційної статистики за допомогою програмного забезпечення Origin 9.4. Кожна із силових кривих, наведених у цій роботі, є результатом усереднення 10 аналогічних експериментів.

3. РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Один із достатньо ефективних і широко застосовуваних способів ідентифікації рівня патологій динамічних систем полягає у визначенні їхніх реакцій на різні швидкісні діапозони стимулювальних подразнень. За застосованої стимуляції нерва спостерігали зменшення сили м'язової відповіді та швидкості її приросту внаслідок наявності залишкових патологічних змін, спричинених атрофією. За реалізації 1-го пулу модульованого стимуляційного сигналу (рис. 1) силова відповідь м'яза змінювалася дуже швидко, майже стрибкоподібно, як реакція слабо демпфованого послідовного пружного компонента. Однак за реалізації 2-го і особливо 3-го пулу такої ж модульованої стимуляції виникало повільне наростання сили скорочення до нового, нижчого за рівнем рівноважного стану (його рівень напряду корелював з рівнем розвитку патології) (рис. 1).

З рисунку 2 видно, що за реалізації 2-го і 3-го пулу стимуляції у контролі часова затримка зменшується незначно. У цьому випадку гістерезна властивість м'яза, — так звана передісторія руху, — допомагає м'язовій системі більш коректно та з меншими енергетичними затратами здійснювати послідовні балістичні рухи [23]. Після 15-ї доби знерухомлення ці ефекти зникають, а час досягнення силою максимальних значень зростає на кожному пулі стимуляції: на 15-ту добу він склав 501 ± 12 , 552 ± 9 і 650 ± 10 мс за реалізації 1-го, 2-го і 3-го пулу стимуляції відповідно; у контролі: 123 ± 6 , 110 ± 3 і 96 ± 2 мс відповідно. Отже, відмінність між контрольними значеннями склала понад 300%. Використання водного розчину C_{60} -фуллерену зменшило часові затримки на 66%, 79% і 84% відповідно. На 30-ту добу відмінність часових затримок в атрофованих м'язах порівняно з контролем склала 203%, 250% і 280% відповідно, а C_{60} -фуллеренова терапія поліпшила ці показники на 51%, 56% і 62% за реалізації 1-го, 2-го і 3-го пулу стимуляції відповідно. На 45-ту добу експерименту затримки м'язового скорочення в атрофованих м'язах склали 22%, 29% і 31%, але ефект передісторії руху (зменшення затримки на 2-му і 3-му пулі порівняно із першим) так і не спостерігався. Використання водного розчину C_{60} -фуллерену наблизило ці

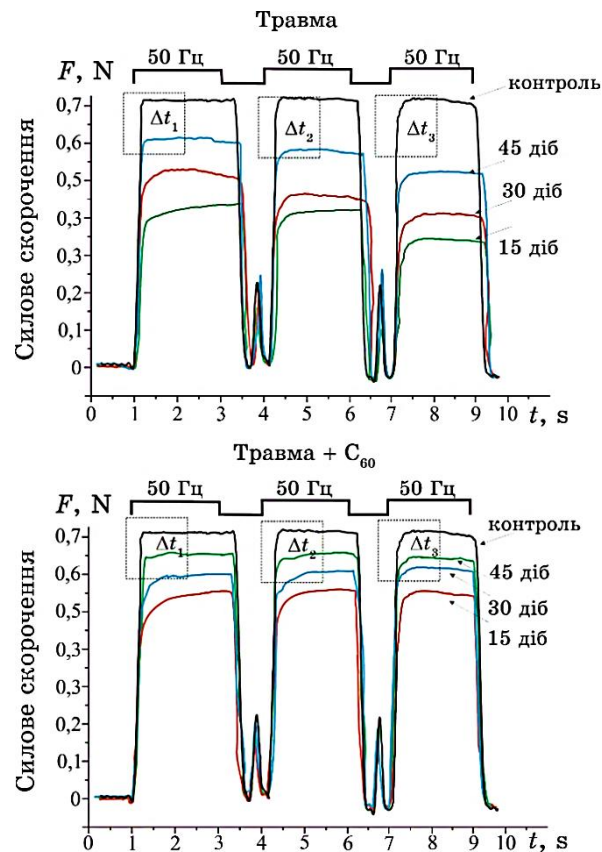


Рис. 1. Силова відповідь *muscle soleus* щура після атрофії, спричиненої ахілотомією, на 15-ту, 30-ту і 45-ту добу за використання трикомпонентного модульованого сигналу: травма та травма + C₆₀ — сила скорочення атрофованого *muscle soleus* без введення C₆₀-фуллерену та на тлі його введення; Δt_1 , Δt_2 та Δt_3 — час досягнення силою свого максимального рівня на 1-му, 2-му та 3-му пулі стимуляційного сигналу; 15-й, 30-й і 45-й день — доба після ініціації атрофії; $n = 7$ у кожній групі.¹

показники майже до контрольних значень (відмінність не перевищувала 12%). Таким чином, використання C₆₀-фуллеренової терапії відновило гістерезний ефект передісторії руху після 45-ї доби експерименту.

4. ВИСНОВКИ

Таким чином, дослідження механокінетики скорочення *muscle soleus* щура за використання трикомпонентного стимуляційного пулу уможливили оцінити її зміни, що виникали за розвитку

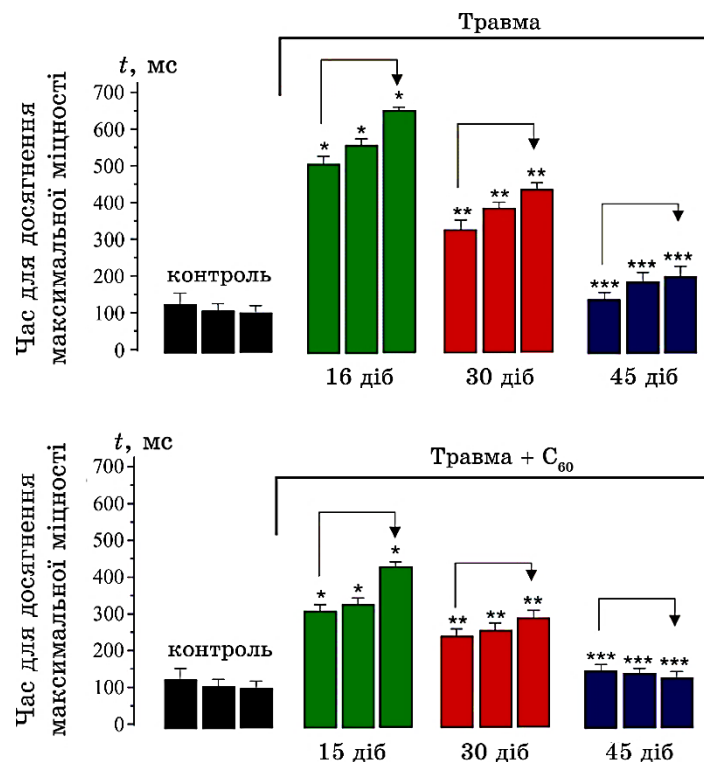


Рис. 2. Час досягнення *muscle soleus* щура свого максимального рівня скорочення після атрофії, спричиненої ахіллотомією, на 15-ту, 30-ту та 45-ту добу за використання трикомпонентного модульованого сигналу: травма та травма + C₆₀ — сила скорочення атрофованого *muscle soleus* без введення C₆₀-фуллерену та на тлі його введення; 15, 30 і 45 діб — доба після ініціації атрофії; $n = 7$ у кожній групі; * $p < 0,05$ порівняно з контролем; ** $p < 0,05$ порівняно з даними на 15-ту добу експерименту; *** $p < 0,05$ порівняно з даними на 30-ту добу експерименту.²

м'язової атрофії, пов'язаної з довготривалим знерухомленням. Це, зокрема, стосується виявлених змін у динаміці складних рухів, пов'язаних з точним позиціонуванням суглобів, та нормалізації їх за використання водного розчину C₆₀-фуллеренів. Це слугує підтвердженням одержаних нами раніше даних про позитивний терапевтичний вплив водорозчинних C₆₀-фуллеренів на функції антиоксидантної системи організму за розвитку запальних і патологічних процесів [17, 18, 21].

ПОДЯКА

Роботу виконано за підтримки МОН України в рамках проекту

№ 24БП018-02).

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА—REFERENCES

1. R. Y. Cao, J. Li, Q. Dai, Q. Li, and J. Yang, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **1088**: 605 (2018); https://doi.org/10.1007/978-981-13-1435-3_29
2. Y. Ohira, T. Yoshinaga, T. Nomura, F. Kawano, A. Ishihara, I. Nonaka, R. R. Roy, and V. R. Edgerton, *Adv. Space Res.*, **30**, No. 4: 777 (2002); [https://doi.org/10.1016/s0273-1177\(02\)00395-2](https://doi.org/10.1016/s0273-1177(02)00395-2)
3. J. A. Hodgson, R. R. Roy, N. Higuchi, R. J. Monti, H. Zhong, E. Grossman, and V. R. Edgerton, *J. Exp. Biol.*, **208**, Pt. 19: 3761 (2005); <https://doi.org/10.1242/jeb.01825>
4. D. N. Nozdrenko and K. I. Bogutska, *Biopolym. Cell*, **21**, No. 3: 285 (2005) (in Russian); <http://dx.doi.org/10.7124/bc.0006F3>
5. K. I. Bohuts'ka, Iu. I. Pryluts'kyi, and D. M. Nozdrenko, *Fiziol. Zh.*, **60**, No. 1: 91 (2014) (in Ukrainian).
6. A. I. Kostyukov, L. A. Bugaychenko, I. Kalezic, A. I. Pilyavskii, U. Windhorst, and M. Djupsjöbacka, *Exp. Brain Res.*, **163**, No. 3: 284 (2005); <https://doi.org/10.1007/s00221-004-2188-3>
7. D. M. Cordero, T. A. Miclau, A. V. Paul, S. Morshed, T. Miclau, C. Martin, and D. W. Shearer, *OTA Int.*, **3**, No. 2: e062 (2020); <https://doi.org/10.1097/OI9.0000000000000062>
8. A. I. Kostyukov, *Neuroscience*, **83**, No. 1: 303 (1998); [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(97\)00379-5](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(97)00379-5)
9. D. N. Nozdrenko, A. N. Shut, and Yu. I. Pryluts'kyi, *Biopolym. Cell*, **21**, No. 1: 80 (2005) (in Russian); <http://dx.doi.org/10.7124/bc.0006E0>
10. D. N. Nozdrenko, O. M. Abramchuk, V. M. Soroca, and N. S. Miroshnichenko, *Ukr. Biochem. J.*, **87**, No. 5: 38 (2015); <https://doi.org/10.15407/ubj87.05.038>
11. V. Dutt, S. Gupta, R. Dabur, E. Injeti, and A. Mittal, *Pharmacol. Res.*, **99**: 86 (2015); <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.05.010>
12. M. A. Rüegg and D. J. Glass, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **51**: 373 (2011); <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010510-100537>
13. Y. Yoshioka, Y. Kubota, Y. Samukawa, Y. Yamashita, and H. Ashida, *Arch. Biochem. Biophys.*, **664**: 157 (2019); <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.02.006>
14. H. C. Gemalmaz, K. Sarıyılmaz, O. Ozkunt, S. G. Gurgen, and S. Silay, *Acta Orthop. Traumatol. Turc.*, **52**, No. 6: 452 (2018); <https://doi.org/10.1016/j.aott.2018.06.012>
15. S. V. Prylutska, I. I. Grynyuk, K. O. Palyvoda, and O. P. Matyshevska, *Exp. Oncol.*, **32**, No. 1: 29 (2010).
16. S. Goodarzi, T. Da Ros, J. Conde, F. Sefat, and M. Mozafari, *Materials Today*, **20**: 460 (2017); <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2017.03.017>
17. D. N. Nozdrenko, T. Yu. Matvienko, O. V. Vygovska, V. M. Soroca, K. I. Bogutska, N. E. Nuryshchenko, Yu. I. Pryluts'kyi, and A. V. Zholos, *Nanosistemi, Nanomateriali, Nanotehnologii*, **18**, Iss. 1: 205 (2020) (in Russian); <https://doi.org/10.15407/nnn.18.01.205>
18. D. Nozdrenko, O. Abramchuk, S. Prylutska, O. Vygovska, V. Soroca,

- K. Bogutska, S. Khrapatyi, Yu. Prylutsky, P. Scharff, and U. Ritter, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, No. 9: 4977 (2021); <https://doi.org/10.3390/ijms22094977>
19. S. Prylutska, S. Politenkova, K. Afanasieva, V. Korolovych, K. Bogutska, A. Sivolob, L. Skivka, M. Evstigneev, V. Kostjukov, Yu. I. Prylutsky, and U. Ritter, *Beilstein J. Nanotechnol.*, **8**: 1494 (2017); <https://doi.org/10.3762/bjnano.8.149>
 20. Yu. I. Prilutski, S. S. Durov, V. N. Yashchuk, T. Yu. Ogul'chansky, V. E. Pogorelov, Yu. A. Astashkin, E. V. Buzaneva, Yu. D. Kirghizov, G. V. Andrievsky, and P. Scharff, *Europ. Phys. J. D*, **9**, Nos. 1–4: 341 (1999).
 21. D. Nozdrenko, S. Prylutska, K. Bogutska, N. Nurishchenko, O. Abramchuk, O. Motuziuk, Yu. Prylutsky, P. Scharff, and U. Ritter, *Life (Basel)*, **12**, No. 3: 332 (2022); <https://doi.org/10.3390/life12030332>
 22. D. M. Nozdrenko, L. V. Korchinska, and V. M. Soroca, *Ukr. Biochem. J.*, **87**, No. 4: 63 (2015); <https://doi.org/10.15407/ubj87.04.063>
 23. S. Sasajima, A. Yasuda, T. Kosaka, and K. Kubo, *J. Musculoskelet. Neuronal. Interact.*, **23**, No. 1: 84 (2023).

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

²Lesya Ukrainka Volyn National University,
13 Volya Ave.,
UA-43025 Lutsk, Ukraine

³SI 'Institute of Traumatology and Orthopaedics of the N.A.M.S. of Ukraine',
27, Bulvarno-Kudriavska Str.,
UA-01054 Kyiv, Ukraine

¹ Fig. 1. Strength response of the rat *muscle soleus* after atrophy caused by achillotomy on 15th, 30th, and 45th day using a three-component modulated signal: injury and injury + C₆₀—the strength of contraction of the atrophied *muscle soleus* without C₆₀-fullerene administration and against its administration; Δt_1 , Δt_2 and Δt_3 —the time when the force reaches its maximum level on the 1st, 2nd, and 3rd pool of the stimulation signal; 15th, 30th, and 45th day—day after initiation of atrophy; $n = 7$ in each group.

² Fig. 2. The time for the rat *muscle soleus* to reach its maximum level of contraction after atrophy caused by achillotomy on 15th, 30th, and 45th day using a three-component modulated signal: injury and injury + C₆₀—the force of contraction of the atrophied *muscle soleus* without the introduction of C₆₀ fullerene and against the background of its introduction; 15th, 30th, and 45th day—day after initiation of atrophy; $n = 7$ in each group; * $p < 0.05$ compared to the control; ** $p < 0.05$ compared to data on the 15th day of the experiment; *** $p < 0.05$ compared to data on the 30th day of the experiment.