

Н.М. Шпакова<sup>1</sup>, О.Є. Ніпот<sup>1</sup>, І.О. Іщенко<sup>1</sup>, С.В. Прилуцька<sup>2</sup>, К.І. Богуцька<sup>2</sup>,  
В.В. Черепанов<sup>3</sup>, Б.П. Сандомирський<sup>1</sup>, Ю.І. Прилуцький<sup>2</sup>

## Вплив $C_{60}$ -фулерену на в'язко-еластичні властивості мембрани еритроцитів людини

<sup>1</sup>Ін-т проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків; E-mail: bsan38@yahoo.com;

<sup>2</sup>Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка; E-mail: prylut@ukr.net; <sup>3</sup>Ін-т фізики НАН України, Київ

*Досліджено вплив водного колоїдного розчину  $C_{60}$ -фулерену (ВКРФ) на в'язко-еластичні властивості мембрани еритроцитів людини. Встановлено, що його дія на еритроцити залежить від осмотичності середовища і концентрації у ньому  $C_{60}$ -фулерену. Зокрема, додавання  $C_{60}$ -фулерену в ізотонічний розчин (0,15 моль/л NaCl) у концентраціях від 0,7 до 28 мкмоль/л не викликало гемолітичного пошкодження клітин. У гіпотонічному середовищі при внесенні  $C_{60}$ -фулерену (концентрація 7 мкмоль/л) на початку гемолізу його стимулювальний ефект був максимальним, а при додаванні ВКРФ через 20 с після початку гемолізу стимуляції цього процесу не спостерігалось. Це свідчить про те, що зміни в'язко-еластичних властивостей мембрани еритроцитів відбуваються вже в перші секунди її взаємодії з  $C_{60}$ -фулереном.*

*Ключові слова:* водний колоїдний розчин  $C_{60}$ -фулерену, еритроцити людини, в'язко-еластичні властивості мембрани, атомно-силова мікроскопія.

### ВСТУП

Практичне використання  $C_{60}$ -фулерену у біомедичних дослідженнях потребує всебічного вивчення можливих проявів його токсичної дії як на рівні цілого організму, так і ізольованих клітин. Маючи унікальну структуру, фізико-хімічні властивості і біологічну активність *in vitro* та *in vivo* [1], ця алотропна форма нановуглецю характеризується токсичністю [2]. Відомо, що токсичний ефект  $C_{60}$ -фулерену та його похідних суттєво залежить від концентрації, модифікації поверхні, умов синтезу та обробки, а також відрізняється відносно різних клітинних ліній [2, 3]. Передбачається, що основними механізмами цитотоксичної дії є викликане перекисне окиснення ліпідів, розвиток оксидативного стресу і, як наслідок, генотоксичність та некроз [4]. Водночас наявні дані про здатність  $C_{60}$ -фулерену попереджати розвиток окисного стресу в тимоцитах [5]. Завдяки на-норозміру та гідрофобності  $C_{60}$ -

фулерен здатний взаємодіяти з біомолекулами [6], вбудовуватись/проникати у мембрани клітин [7, 8] та виявляти специфічні біологічні ефекти, наприклад протипухлинні [9], що може включати модифікацію адгезивного потенціалу клітин та пов'язану з ним здатність до ділення [10].

Модель суспензії еритроцитів абсолютно наближена до умов *in vivo*. Реологічні властивості крові багато в чому визначаються станом еритроцитарної мембрани, на який можуть впливати різні фізико-хімічні чинники середовища. У зв'язку з цим метою нашої роботи було дослідження впливу водного колоїдного розчину  $C_{60}$ -фулерену (ВКРФ) на в'язко-еластичні властивості мембрани еритроцитів людини.

### МЕТОДИКА

Одержання ВКРФ та його характеристика. Для приготування ВКРФ використовували

насичений розчин чистого  $C_{60}$ -фулерену в толуолі (чистота понад 99,5 %), де його концентрація відповідала максимальній розчинності близько 2,9 мг/мл [11–12]. Дві одержані фази піддавали ультразвуковому впливу до повного випаровування толуолу та набуття водною фазою жовтого кольору. Фільтрацією водного розчину відділяли потрібний продукт від нерозчиненого  $C_{60}$ -фулерену. За допомогою цього методу отримували різні концентрації  $C_{60}$ -фулерену у воді – від 0,1 до 1,2 мг/мл. Одержаний таким чином ВКРФ є стабільним близько 12 міс за +4 °С.

Вимірювали спектр поглинання отриманого ВКРФ з вихідною концентрацією  $C_{60}$ -фулерену близько 127 мкмоль/л у діапазоні довжин хвиль від  $\lambda=200$  до 700 нм за кімнатної температури. Виявилось, що домінують три інтенсивні широкі смуги поглинання з максимумами при 208, 265 та 347 нм в УФ-ділянці спектра, що узгоджується з нашими попередніми даними [12, 13].

Дані з динамічного розсіювання світла [14] свідчать, що при концентрації  $C_{60}$ -фулерену у ВКРФ 127 мкмоль/л основна фракція світлорозсіюючих сферично подіб-

них частинок розподіляється на ділянці з характерним діаметром до 140 нм. Тому для відокремлення великих частинок ВКРФ попередньо (перед експериментом) обробляли на центрифугі (5424R, «Eppendorf», ФРН) упродовж 10 хв при 15000  $xv^{-1}$ . У результаті обробки колоїдна суспензія змінювала колір з насичено-жовтого до майже безбарвного.

Одержане зображення за допомогою атомно-силової мікроскопії (АСМ; комерційна система Solver Pro M; NT-MDT, Росія) демонструє як окремі  $C_{60}$ -молекули (0,7 нм у діаметрі), так і їхні агрегати з характерним розміром 1,5–60 нм, які є у ВКРФ (рис. 1), що збігається з теоретичними розрахунками [14–15] і даними нейтронної спектроскопії [12].

*Одержання еритроцитів людини.* Еритроцити виділяли з крові чоловіків групи А (II)<sup>+</sup>, що була надана обласним центром переливання крові м. Харкова. Після видалення плазми еритромасу тричі відмивали центрифугуванням (центрифуга ОПн-ЗУ4.2, 3000  $xv^{-1}$ , 3 хв) у 10-кратному об'ємі фізіологічного розчину (0,15 моль/л NaCl, 0,01 моль/л фосфатний буфер, рН 7,4).

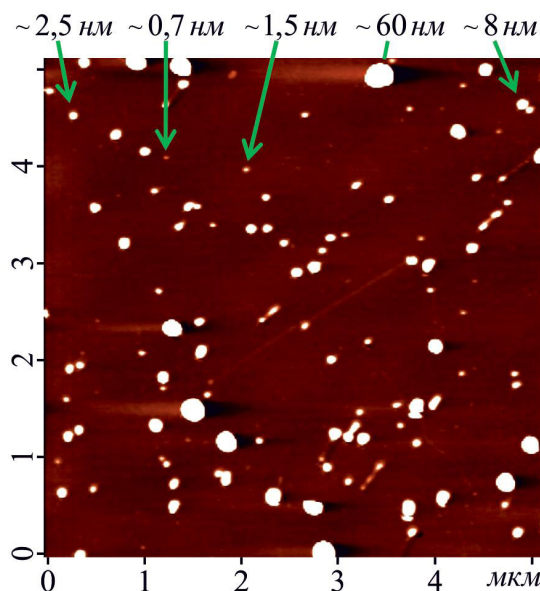


Рис. 1. Зображення, одержане методом атомно-силової мікроскопії,  $C_{60}$ -фулерену та його агрегатів у водному колоїдному розчині (концентрація 127 мкмоль/л) на сльоді (напівконтактний режим)

Лейкоцитарну плівку та супернатант видаляли аспірацією. Еритроцити зберігали у вигляді щільного осаду не більше ніж 4 год при 0 °С.

Досліджували вплив C<sub>60</sub>-фулерену на еритроцити людини у фізіологічному середовищі (0,15 моль/л NaCl, 5 ммоль/л фосфатний буфер, рН 7,4), для чого аліквоту ВКРФ вносили у суспензію еритроцитів та вивчали зміну оптичної густини середовища.

Гіпотонічний і гіпертонічний лізис еритроцитів. Для одержання вихідної суспензії еритроцитів 50 мкл осаду клітин переносили у 0,5 мл фізіологічного розчину (0,15 моль/л NaCl, 0,01 моль/л фосфатний буфер, рН 7,4).

Гіпотонічний і гіпертонічний лізиси еритроцитів проводили внесенням аліквоти вихідної суспензії клітин (10 мкл) у 2 і 4 мл розчину NaCl (40–120 ммоль/л), відповідно, що містив C<sub>60</sub>-фулерен (0,7–28 мкмоль/л), при 20 °С.

Реєстрацію динаміки гіпотонічного гемолізу еритроцитів проводили на оригінальному обладнанні для вимірювання світлорозсіювання клітинних суспензій, створеному на базі монохроматора СФ-4А (Росія).

Рівень гемолізу еритроцитів як функцію часу визначали реєстрацією зміни у часі оптичної густини суспензії еритроцитів ( $\lambda=720$  нм). Концентрація суспензії еритроцитів у кюветі становила  $(1,7-3,5) \cdot 10^6$  клітин/мл. У цьому концентраційному діапазоні оптична густина клітинної суспензії була прямо пропорційна кількості інтактних клітин. Світлорозсіювання тіней, що утворюються у процесі лізису еритроцитів, та поглинання світла гемоглобіном за вказаної довжини хвилі незначно малі. Рівень гемолізу розраховували за формулою:  $\text{гемоліз} = (1 - A/A_0) \cdot 100\%$ , де  $A$  і  $A_0$  – оптична густина досліджуваного зразка після завершення гемолізу та контрольного зразка відповідно.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили параметричним і непараметричним методами з використанням програми SPSS Statistica 17.0.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вплив C<sub>60</sub>-фулерену на еритроцити в умовах ізотонії. Одержані результати вказують на те, що додавання C<sub>60</sub>-фулерену (0,7–28 мкмоль/л) до еритроцитів, що знаходяться у фізіологічному середовищі, не супроводжується зміною оптичної густини суспензії. Це свідчить про відсутність морфологічних змін і гемолітичного пошкодження еритроцитів. Крім того, у цих умовах не був виявлений витік катіонів калію та натрію, що говорить про відсутність порушення бар'єрних властивостей мембрани еритроцитів.

Вплив C<sub>60</sub>-фулерену на гіпотонічний лізис еритроцитів. C<sub>60</sub>-фулерен у концентрації 0,7–28 мкмоль/л добавляли у гіпотонічне середовище, після чого вносили еритроцити та за зміною оптичної густини суспензії визначали рівень гемолітичного пошкодження клітин (рис. 2). Додавання ВКРФ у середовище інкубації призводить до значного збільшення пошкодження еритроцитів людини. За невеликих концентрацій C<sub>60</sub>-фулерену (1–10 мкмоль/л) воно прямо пропорційне вмісту ВКРФ. Подальше збільшення концентрації C<sub>60</sub>-фулерену (до 28 мкмоль/л) спричинює лише незначне зростання гіпотонічного гемолізу. Цей факт можна пояснити тим, що лише певна кількість C<sub>60</sub>-фулерену (його агрегатів) може зв'язуватися з мембраною клітини, а при насиченні її наступні зміни вже не стільки виражені.

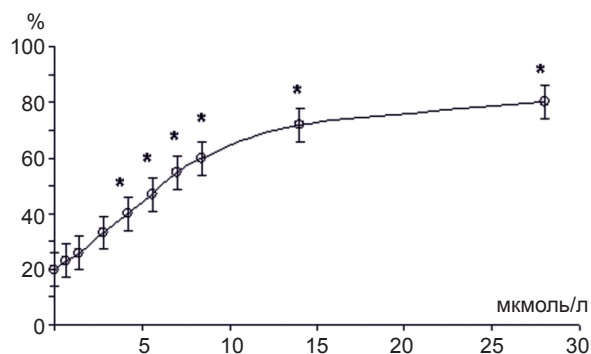


Рис. 2. Вплив різних концентрацій C<sub>60</sub>-фулерену на рівень гемолізу еритроцитів людини в гіпотонічному середовищі. \*P<0,05 порівняно з контролем (за відсутності C<sub>60</sub>-фулерену)

Виходячи з того, що застосування  $C_{60}$ -фулерену підвищує чутливість еритроцитів до гіпотонічного середовища, важливо було дослідити осмотичну крихкість клітин за його наявності. На рис. 3 представлено криві осмотичної крихкості еритроцитів людини у нормі та при використанні двох концентрацій  $C_{60}$ -фулерену – 7 і 28 мкмоль/л. Збільшення чутливості еритроцитів людини до гіпотонічного пошкодження відбувається практично у всьому концентраційному діапазоні досліджуваних середовищ при обох використаних концентраціях ВКРФ. Найбільшим виявився пошкоджувальний ефект  $C_{60}$ -фулерену на клітини у середовищах 80–100 ммоль/л NaCl. За цих осмотичних умов гемолітичне пошкодження нативних клітин ще фактично відсутнє, а їхній стан можна охарактеризувати як метастабільний. Імовірно, введення ВКРФ провокує за цих умов різку зміну стану клітин, що проявляється у розвитку гемолітичного процесу.

З одержаних залежностей осмотичної крихкості еритроцитів були визначені значення порогових концентрацій ( $I_{10}$ ) та індексу осмотичної крихкості ( $I_{50}$ ), які представлено у таблиці. Різниця між значеннями для контрольних клітин була 5 одиниць, тоді як за наявності  $C_{60}$ -фулерену вона збільшувалась у 3–4 рази. Отже, за умов дії  $C_{60}$ -фулерену популяція еритроцитів стає

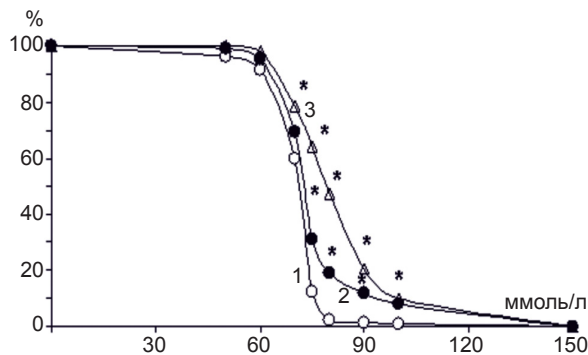


Рис. 3. Залежність рівня гемолізу еритроцитів людини у гіпотонічному середовищі від концентрації  $C_{60}$ -фулерену та NaCl у середовищі: 1 – контроль, 2 – 7 мкмоль/л  $C_{60}$ -фулерену, 3 – 28 мкмоль/л  $C_{60}$ -фулерену. \* $P < 0,05$  порівняно з контролем

більш гетерогенною за чутливістю до дії гіпотонічного середовища. Цей факт також видно і як збільшення кута нахилу кривих гіпотонічного лізису еритроцитів (див. рис. 3). Відомо, що вихідна гетерогенність популяції еритроцитів може бути зумовлена різними віковими характеристиками клітин [16]. Наявність агрегатів  $C_{60}$ -фулеренів у ВКРФ сприяє їх накопиченню у мембрані і, таким чином, додатково змінює її фізико-хімічні властивості, збільшуючи гетерогенність популяції клітин.

Важливо було з'ясувати, чи здатний  $C_{60}$ -фулерен змінювати рівень пошкодження еритроцитів у тому разі, коли ВКРФ вносили після додавання клітин у гіпотонічне середовище. На рис. 4 представлені результати впливу  $C_{60}$ -фулерену у концентрації 7 мкмоль/л при додаванні його у гемолітичне середовище через різні проміжки часу після початку гіпотонічного гемолізу. При внесенні ВКРФ у гемолітичне середовище на самому початку гемолітичного процесу його стимулювальний ефект максимальний. Це вказує на практично миттєве проникнення  $C_{60}$ -фулерену до клітини, що узгоджується з даними експерименту [8] та розрахунку [17]. Коли ВКРФ вносили у кювету після запуску гемолітичного процесу, його стимулювальний ефект поступово знижувався та зникав повністю через 20 с.

Вплив  $C_{60}$ -фулерену на гіпертонічний лізис еритроцитів. На рис. 5 представлено вплив  $C_{60}$ -фулерену на рівень гіпертонічного

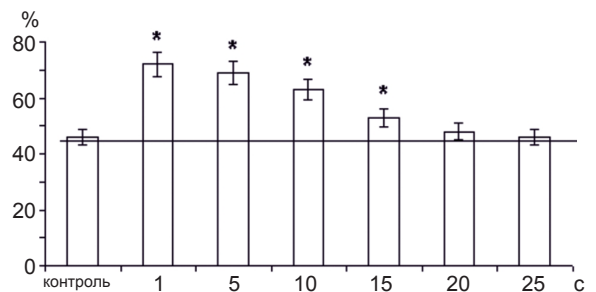


Рис. 4. Динаміка рівня гемолізу еритроцитів людини в гіпотонічному середовищі залежно від часу додавання  $C_{60}$ -фулерену (7 мкмоль/л) після початку гемолізу. \* $P < 0,05$  порівняно з контролем

Значення порогових концентрацій NaCl (I<sub>10</sub>) та індексу осмотичної крихкості еритроцитів людини (I<sub>50</sub>) за наявності C<sub>60</sub>-фулерену

Порогова концентрація, ммоль/л	Контроль	Концентрація C <sub>60</sub> -фулерену, мкмоль/л	
		7	28
I <sub>10</sub>	75±6	90±8*	100±5*
I <sub>50</sub>	70±5	75±7	80±6*

\*P<0,05 результати статистично значимі порівняно з відповідним контролем.

гемолізу еритроцитів людини. Останній являє собою пошкодження еритроцитів при перенесенні їх у NaCl (4 моль/л); він зумовлений надлишковою дегідратацією та стисканням клітин [18]. Як видно, при такому осмотичному впливі C<sub>60</sub>-фулерен викликає захисний ефект клітини. Причому зі зростанням концентрації ВКРФ рівень гемолізу знижується рівномірно та становить близько 20 % при максимальній досліджуваній концентрації ВКРФ (28 мкмоль/л). Можливо зміна в'язко-еластичних властивостей мембрани за наявності C<sub>60</sub>-фулерену, які спричинюють збільшення чутливості еритроцитів людини до гемолізу, наразі сприяє захисту клітин від різкої зміни осмотичних умов середовища.

Існуюча нині інформація щодо токсичного ефекту C<sub>60</sub>-фулерену на еритроцити достатньо суперечлива. Так, у праці Solomadin і співавт. [19] показано, що C<sub>60</sub>-фулерен у концентрації 7 мкмоль/л викликає гемоліз еритроцитів людини. Водночас інші автори [20] не виявили безпосередньої пошкоджувальної дії на клітини. Він легко проникає у модельні

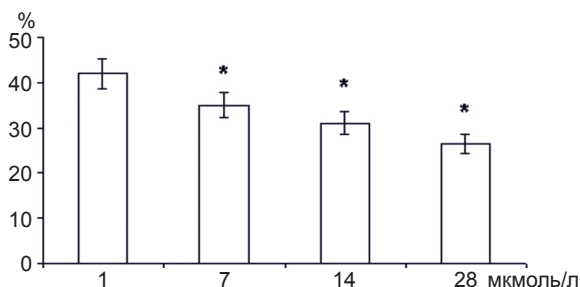


Рис. 5. Вплив C<sub>60</sub>-фулерену на рівень гемолізу еритроцитів людини в гіпотонічному середовищі (4 моль/л NaCl, 5 ммоль/л фосфатний буфер, рН 7,4). \*P<0,05 порівняно з контролем

ліпідні мембрани, причому час проникнення складає близько 1 нс, та локалізується у ділянці фосфоліпідних «хвостів» [7, 17]. Крім того, збільшується впорядкованість мембранних ліпідів, потовщується мембрана, знижується її еластичність. Ці дані добре узгоджуються з одержаними вище результатами, оскільки вказані зміни фізико-хімічних характеристик мембрани будуть призводити до зменшення її здатності до розтягу та, як наслідок, збільшення чутливості до гіпотонічної дії.

Таким чином, встановлено, що в ізотонічному середовищі додавання ВКРФ (концентрація C<sub>60</sub>-фулерену становить 0,7–28 мкмоль/л) не викликає гемолітичного пошкодження еритроцитів людини. Взаємодія як C<sub>60</sub>-фулерену, так і його агрегатів (до 60 нм у діаметрі) з мембранами еритроцитів людини призводить до зміни їх в'язко-еластичних властивостей і, як наслідок, зменшує здатність клітин до деформації. За умов *in vivo* подібний ефект може спричинити зміни реологічних властивостей крові внаслідок зниження здатності еритроцитів до проходження по капілярах, розміри яких менші, ніж діаметр клітини.

**Н.М. Шпакова, Е.Е. Нипот, И.О. Ищенко,  
С.В. Прилуцкая, Е.И. Богуцкая,  
В.В. Черепанов, Б.П. Сандомирский,  
Ю.И. Прилуцкий**

#### ВЛИЯНИЕ C<sub>60</sub>-ФУЛЛЕРЕНА НА ВЯЗКО-ЭЛАСТИЧНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Исследовано влияние водного коллоидного раствора C<sub>60</sub>-фуллерена (ВКРФ) на вязко-эластичные свойства мембраны эритроцитов человека. Установлено, что его

действие на эритроциты зависит от осмотичности среды и концентрации в ней  $C_{60}$ -фуллерена. В частности, в изотоническом растворе (0,15 моль/л NaCl) добавление  $C_{60}$ -фуллерена в концентрациях от 0,7 до 28 мкмоль/л не вызывало гемолитического повреждения клеток, в гипотонической среде при внесении в концентрации 7 мкмоль/л в начале гемолиза эритроцитов его стимулирующий эффект максимален. При добавлении ВКРФ через 20 с после начала гемолиза стимуляции этого эффекта не наблюдается, что указывает на изменения вязко-эластичных свойств мембраны эритроцитов уже в первые секунды ее взаимодействия с  $C_{60}$ -фуллереном. Ключевые слова: водный коллоидный раствор  $C_{60}$ -фуллерена, эритроциты человека, вязко-эластичные свойства мембраны, атомно-силовая микроскопия.

**N.M. Shpakova<sup>1</sup>, E.E. Nipot<sup>1</sup>, I.O. Ishchenko<sup>1</sup>, S.V. Prylutska<sup>2</sup>, K.I. Bogutska<sup>2</sup>, V.V. Cherepanov<sup>3</sup>, B.P. Sandomirskiy<sup>1</sup>, Yu.I. Prylutskiy<sup>2</sup>**

### EFFECT OF $C_{60}$ FULLERENE ON VISCOELASTIC PROPERTIES OF HUMAN ERYTHROCYTES MEMBRANE

The effect of  $C_{60}$  fullerene aqueous colloid solution ( $C_{60}$ FAS) on viscoelastic properties of human erythrocytes membrane has been studied. It was established that the effect of  $C_{60}$ FAS on erythrocytes depends on the medium osmolality and concentration of  $C_{60}$  fullerene in it. In particular, in isotonic solution (0,15 mole/L NaCl) adding  $C_{60}$  fullerene in concentrations from 0,7 до 28  $\mu$ mole/L did not cause the hemolytic damage of cells. In hypotonic medium when introducing  $C_{60}$  fullerene (7  $\mu$ mole/L concentration) at the beginning of erythrocyte hemolysis its stimulating effect was maximal and when adding  $C_{60}$ FAS in 20 s after hemolysis start no this process stimulation is observed. This points to the changes in viscoelastic properties of erythrocyte membranes even during the first seconds of its interaction with  $C_{60}$  fullerene.

Key words:  $C_{60}$  fullerene aqueous colloid solution, human erythrocytes, viscoelastic properties of membrane, atomic-force microscopy.

<sup>1</sup>*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of NAS of Ukraine, Kharkiv;*

<sup>2</sup>*Taras Shevchenko National University of Kyiv;*

<sup>3</sup>*Institute of Physics of NAS of Ukraine, Kyiv*

### REFERENCES

1. Prylutska S.V., Kichmarenko Yu.M., Bogutska K.I., Prylutskiy Yu.I.  $C_{60}$  fullerene and its derivatives as anticancer agents: problems and prospects. *Biotechnol. Acta.* 2012; 5 (3): 9-17 [Ukrainian].
2. Prylutska S.V., Rotko D.M., Prylutskiy Yu.I., Rybalchenko V.K. Toxicity of carbon nanostructures in vitro and in vivo systems. *Modern Problems Toxicol.* 2012; 4: 49-57 [Ukrainian].

3. Su Y., Xu J.Y., Shen P., Li J., Wang L., Li Q., Li W., Xu G.T., Fan C., Huang Q. Cellular uptake and cytotoxic evaluation of fullerene in different cell lines. *Toxicol.* 2010; 269 (2-3): 155-9.
4. Rouse J.G., Yang J., Barron A.R., Monteiro-Revieira N.A. Fullerene-based amino acid nanoparticle interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicol. in Vitro.* 2006; 20 (8): 1313-20.
5. Grebinyk S.M., Grynuk I.I., Prylutska S.V., Matyshevska O.P. Generation of active oxygen forms in rat tymphocytes under action of hydrogen peroxide and  $C_{60}$  fullerene. *Ukr Biochem J.* 2012; 84 (2): 48-52 [Ukrainian].
6. Andreichenko K.S., Prylutska S.V., Medynska K.O., Bogutska K.I., Nurishchenko N.E., Prylutskiy Yu.I., Ritter U., Scharff P. Effect of  $C_{60}$  fullerene on ATPase activity and superprecipitation of skeletal muscle actomyosin. *Ukr Biochem J.* 2013; 85 (2): 20-6.
7. Schuetze C., Ritter U., Scharff P., Fernkorn U., Prylutska S., Bychko A., Rybalchenko V., Prylutskiy Yu. Interaction of N-fluorescein-5-isothiocyanate pyrrolidine- $C_{60}$  with a bimolecular lipid model membrane. *Mater Sci Engineer. C.* 2011; 31 (5): 1148-50.
8. Prylutska S., Bilyy R., Overchuk M., Bychko A., Andreichenko K., Stoika R., Rybalchenko V., Prylutskiy Y., Tsierekos N.G., Ritter U. Water-soluble pristine  $C_{60}$  fullerenes increase the specific conductivity and capacity of lipid model membrane and form the channels in cellular plasma membrane. *J Biomed Nanotechnol.* 2012; 8(3): 522-7.
9. Prylutska S.V., Burlaka A.P., Prylutskiy Yu.I., Ritter U., Scharff P. Pristine  $C_{60}$  fullerenes inhibit the rate of tumor growth and metastasis. *Exp Oncol.* 2011; 33 (3): 162-4.
10. Grynuk I.I., Perepelytsina O.M., Prylutska S.V., Garmanchuk L.V., Khranovska N.N., Matyshevska O.P., Sydorenko M.V. Influence of  $C_{60}$  fullerenes on the survivability of breast cancer cell line MCFb7 long-term incubation. *Biotechnol. Acta.* 2010; 3 (4): 75-9 [Ukrainian].
11. Prylutska S.V., Matyshevska O.P., Grynuk I.I., Prylutskiy Y.I., Ritter U., Scharff P. Biological effects of  $C_{60}$  fullerenes in vitro and in a model system. *Mol Cryst Liq Cryst.* 2007; 468: 265-74.
12. Prylutskiy Yu.I., Petrenko V.I., Ivankov O.I., Kyzyma O.A., Bulavin L.A., Litsis O.O., Evstigneev M.P., Cherepanov V.V., Naumovets A.G., Ritter U. On the origin of  $C_{60}$  fullerene solubility in aqueous solution. *Langmuir.* 2014; 30 (14): 3967-70.
13. Bulavin L., Adamenko I., Prylutskiy Yu., Durov S., Graja A., Bogucki A., Scharff P. Structure of fullerene  $C_{60}$  in aqueous solution. *Phys Chem Chem Phys.* 2000; 2 (8): 1627-9.
14. Prylutskiy Yu.I., Buchelnikov A.S., Voronin D.P., Kostjukov V.V., Ritter U., Parkinson J.A., Evstigneev M.P.  $C_{60}$  fullerene aggregation in aqueous solution. *Phys Chem Chem Phys.* 2013; 15 (23): 9351-60.
15. Prylutskiy Yu.I., Durov S.S., Bulavin L.A., Adamenko I., Moroz K.O., Geru I., Dihor I.N., Scharff P., Eklund P.C., Grigorian L. Structure and thermophysical properties of

- C<sub>60</sub> fullerene aqueous solution. Int. J. Thermophys. 2001; 22 (3): 943-56.
16. Ghashghaeinia M., Cluitmans J.C., Akel A., Dreischer P., Toulany M., Köberle M., Skabytska Y., Saki M., Biedermann T., Duszenko M., Lang F., Wieder T., Bosman G.J. The impact of erythrocyte age on eryptosis. Br J Haematol. 2012; 157 (5): 606-14.
17. Wong-Ekkabut J., Baoukina S., Triampo W., Tang I.M., Tieleman D.P., Monticelli L. Computer simulation study of fullerene translocation through lipid membranes. Nat Nanotechnol. 2008; 3 (6): 363-8.
18. Shpakova N.M. Temperature and osmotic sensitivity of red blood cells of different mammalian species. Biol Animals. 2010; 12 (1): 382-91 [Ukrainian].
19. Solomadin I.N., Marov N.V., Venediktova N.I., Kosenko E.A., Kaminskii Yu.G. Toxic effect of A $\beta$ <sub>25-35</sub> and C<sub>60</sub> fullerene on erythrocytes. Biology Bulletin. 2008; 35 (4): 436-40.
20. Trpkovic A., Todorovic-Markovic B., Kleut D., Misirkic M., Janjetovic K., Vucicevic L., Pantovic A., Jovanovic S., Dramicanin M., Markovic Z., Trajkovic V. Oxidative stress-mediated hemolytic activity of solvent exchange-prepared C<sub>60</sub> fullerene nanoparticles. Nanotechnol. 2010; 21 (37): 375102.

*Ин-т проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків*

*E-mail: bsan38@yahoo.com;*

*Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка*

*E-mail: prylyut@ukr.net;*

*Ин-т фізики НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов до редакції 14.03.2014*