УДК 577.353: 611.018.62: 611.73: 616.74: 616-005.4

Перспективи застосування C_{60}-фулерену як засобу профілактики і корекції ішемічно-реперфузійних порушень у скелетній м'язовій тканині

С.Ю. Зай[1], Д.О. Заводовський[2], К.І. Богуцька[2], Д.М. Ноздренко[2], Ю.І. Прилуцький[2]

[1]Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки, Луцьк,
[2]Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, Київ; e-mail: prylut@ukr.net

Нині актуальною проблемою залишається відсутність точних діагностичних тестів для швидкого виявлення рівня ішемічної травми, що має важливе значення для ефективності подальшої її терапії. У цьому контексті триває пошук специфічних маркерів ішемії, а також нових терапевтичних агентів для попередження, профілактики і лікування ішемічної травми. Водорозчинні нанорозмірні C_{60}-фулерени як потужні антиоксиданти можуть виступати перспективними засобами для корекції різних станів м'язової системи, в основі розвитку яких лежить деструктивна дія вільнорадикальних процесів.

Ключові слова: C_{60}-фулерен; ішемія; м'язове скорочення; скелетні м'язи.

Серед патологій, які розвиваються у скелетних м'язах за різних травм, ішемічні порушення становлять понад 35% [1]. Вони є однією з основних причин післяопераційних ускладнень та можуть після гострої артеріальної оклюзії призвести до ампутації кінцівок і навіть смертності [2, 3]. Нині вкрай актуальною є проблема відсутності точних діагностичних тестів для швидкого встановлення рівня ішемічної травми, що має вирішальне значення для ефективності подальшої її терапії [4], адже це патологічний процес з швидким розвитком у часі: так, уже після першої години ішемізації сила скорочення ушкодженого м'яза зменшується до 40% від вихідного рівня, а після двох годин – на 90%, після чого, навіть за проведення необхідних терапевтичних заходів, відновлення скорочувальної відповіді спостерігається лише на третій тиждень після реперфузії [5].

Патогенез розвитку ішемії зумовлений зниженням припливу артеріальної крові і значним збільшенням споживання тканинами кисню та субстратів обміну речовин. Причинами такого порушення можуть бути різні природні, патогенні чинники і несприятливі умови, вплив яких призводить до зменшення просвіту артеріальних судин і утруднення руху крові по ним. Якщо ішемія розвивається в окремому скелетному м'язі, вона вважається локальною; якщо ж виникає одночасно в різних м'язах, як це часто відбувається за політравм після дорожньо-транспортних пригод або внаслідок шлуночкової недостатності, тоді мова йде про генералізовану. Проте з фізіологічної точки зору в основі розвитку всіх різновидів ішемії скелетних м'язів лежать чотири основні шляхи патогенезу (або їх поєднання):

1) обтураційний – характеризується зменшенням просвіту артеріальних судин внаслідок повної або часткової їх закупорки тромбом, емболом, потовщення їх стінок завдяки набряку, розвитку атеросклеротичної бляшки або розростання сполучної тканини;

2) компресійний – відбувається внаслідок стискання стінки судини ззовні наростаючою пухлиною, сполучно-тканинним рубцем, стороннім тілом, джгутом (в експериментальних дослідженнях моделювання компресійної ішемії називають «турнікетною ішемією»);

© С.Ю. Зай, Д.О. Заводовський, К.І. Богуцька, Д.М. Ноздренко, Ю.І. Прилуцький

3) ангіоспастичний – нейрогенний рефлекторний спазм артерій;

4) гуморальний – ішемія зумовлена надмірним утворенням в ендотелії судин або в інших клітинно-тканинних структурах вазоконстрикторних гуморальних речовин (катехоламінів, простагландинів, тромбоксану А2, ангіотензину-2, вазопресину, серотоніну) чи підвищенням чутливості до них м'язів артеріальних судин, а також недостатнім синтезом і активністю деяких з них (гістаміну, простагландинів Е, І, А тощо).

З функціональної точки зору ішемія скелетних м'язів буває двох видів: фізіологічна і патологічна. Перший – тимчасовий та оборотний, має пристосувальне значення. Типовий приклад – та, що виникає у скелетних м'язах під час і після фізичних тренувань. Другий вид – біологічно недоцільний, не відповідає метаболічним і функціональним потребам м'яза, становить загрозу її девіталізації [5, 6]. Незалежно від шляху розвитку ішемії ішемічноушкоджені м'язи мають спільні ознаки, до яких можна віднести: збліднення, зміну лінійної і об'ємної швидкості кровотоку в мікросудинах, зниження пульсації артеріальних судин, а також тиску них, зменшення кількості функціонуючих кровоносних і лімфатичних мікросудин, підвищення проникності їхніх стінок, зниження тургору м'яза та парціального тиску кисню (pO_2) у крові, тканині, органі (розвиток гіпоксемії крові та тканинної гіпоксії), наростання ацидозу в тканині, активація анаеробних і пригнічення аеробних процесів, порушення трофіки і зниження температури тканини або органа, зміну чутливості тканин (парестезія, біль), зниження функціональної активності як окремих міоцитів, так і тканини загалом.

Внаслідок зниження припливу крові по артеріальних судинах зменшується доставка до м'яза кисню, поживних і регуляторних речовин. Це може призвести до прогресуючого розладу в ньому метаболічних, морфологічних і фізіологічних процесів. Найбільш чутливою до ішемії є нервова тканина (гине вже через 5-6 хв), м'язова виявляє більшу толерантність і може переносити тривалу ішемію (більше ніж 6 год), а кісткова є найбільш резистентною до ішемії [5, 7].

Отже, наслідки ішемії скелетного м'яза залежать від ступеня ушкодження мікроциркуляторного русла, рівня тканинної гіпоксії, кількості та співвідношення продуктів метаболізму, Na^+, K^+, H^+, рівня механічних ушкоджень м'яза тощо [3, 8, 9].

За неповної ішемії скелетного м'яза можуть розвиватись ішемічний стаз, дистрофія, гіпотрофія та атрофія, за прогресуючої та повної – спочатку виникає некробіоз, некроз (м'язовий інфаркт) і надалі відбувається формування рубця. Наслідки порушень залежать від таких факторів: локалізації і різної чутливості тканини або органа до гіпоксії (доведена особливо висока чутливість до нестачі кисню нервової тканини і міокарда), ступеня розвитку колатерального кровообігу (добре розвинений у м'язах кінцівок; відносну недостатність відзначають у серцевому м'язі), тривалості ішемії та гіпоксії тканин, діаметра ураженої артеріальної судини, що васкуляризує м'яз (при закритті просвіту більш великої судини виникають значні некротичні ураження тканин) тощо.

Анатомо-фізіологічні аспекти патогенезу ішемічної травми скелетних м'язів. Найбільш часто ішемічна травма скелетних м'язів зустрічається при багатоуламкових переломах, тупих травмах кінцівок з ушкодженням та розчавленням м'язів, політравмах, опіках, укусах отруйних змій. Описані випадки розвитку цього ушкодження через довгочасне перебування у вимушеному положенні на операційному столі при урологічних операціях, тривалій ходьбі, за повторних операцій на тромбованих судинах, стиснутих гіпсовою пов'язкою [10-12].

Багато фасціальних перегородок у м'язах межують з довгими кістками, які не дають змоги їм розширюватися за збільшення внутрішньотканинного тиску, що часто супроводжує ішемічну травму з перших хвилин пато-

генезу. Підвищення тиску в м'язі призводить до його збільшення і в міжперегородковому просторі, що зумовлює зменшення, а іноді і повне припинення артеріального притоку крові. Ішемія, яка розвивається при цьому, з часом призводить до необоротних некротичних змін у м'язах, судинах і нервах.

Усі морфологічні фактори, які сприяють розвитку м'язового ішемічного гіпертензійного синдрому, поділяють на детерміновані та індивідуальні. До першої групи належать особливості анатомічної будови м'якого остову ділянки передпліччя, а саме наявність щільних фасціальних футлярів і вузлів апоневротичного типу, ступінь розвитку м'язів тощо. Індивідуальні фактори можуть бути зумовлені напрямом зміщення кісткових уламків, типами первинних і вторинних уражень м'язів та судинно-нервових пучків.

Встановлено, що різноманітним кістково-фасціальним перегородкам, які обмежують скелетні м'язи, властивий відносно постійний тиск. Нормальний клітинний метаболізм відбувається за pO_2 5-7 мм рт. ст., капілярного тиску перфузії більше ніж 25 мм рт. ст. та внутрішньотканинного тиску 4-6 мм рт. ст. Накопичення понаднормової кількості рідини в інтерстиціальному просторі чи зменшення об'єму перегородки внаслідок зовнішнього (травматичного) впливу призводить до зростання внутрішньоперегородкового тиску. Але до певного рівня це компенсується підвищенням тиску перфузії (збільшення тиску в судинах, які кровопостачають тканини перегородки), що розглядають як фізіологічну компенсаторну реакцію. Його прогресуюче зростання може призвести до пригнічення аутогенних механізмів і розвитку внутрішньотканинних ушкоджень. Так, доведено, що за підвищення внутрішньоперегородкового тиску зростає також і венозний [13]. Коли він стає вищим за тиск перфузії, настає колапс капілярів, наслідком чого є порушення периферичного кровотоку. Постачання кисню тканинам припиняється. Гіпоксія призводить до накопичення у тканинах вазоактивних субстанцій, зокрема гістаміну та серотоніну, які збільшують проникність ендотелію судин. Рідина переміщується з просвіту судин в інтерстиціальний простір, внаслідок чого підвищується внутрішньоклітинний тиск, викликаючи ушкодження тканин. Провідність по нервових волокнах порушується, pH тканин зменшується під впливом накопичення анаеробних метаболітів. Розвивається некроз м'язової тканини, що може привести до втрати кінцівки або навіть життя травмованим. Значення внутрішньоперегородкового тиску, яке призводить до колапсу капілярів, достовірно не відоме, але у клінічній практиці його вважають близько 30 мм рт. ст. і за цією межею виконують невідкладну медичну інвазивну корекцію, без якої за тривалості ішемії 2-3 год відбуваються як м'язові некротичні зміни, так і нервова деградація, а кількість некротизованої тканини в ураженому м'язі становить до 60% [1, 13].

За ішемічної травми скелетного м'яза спостерігається кореляція між внутрішньом'язовим та внутрішньокістковом тиском. Так, в експериментах на кроликах зі штучною турнікетною ішемією показано, що вона викликає підвищення підфасціального тиску, яке, у свою чергу, призводить до зменшення внутрішньокісткового [14]. Такий зв'язок спостерігається за збільшення першого з 20-30 до 60-70 мм рт. ст., а за подальшого збільшення до 80-90 мм рт. ст. кров'яний тиск зменшується. Таке зниження свідчить про перекриття кровотоку по артеріям. Однак за припинення ішемізації значення внутрішньокісткового тиску у проксимальному метафізі великогомілкової кістки збільшується і перевищує тканинний тиск. Це говорить про відновлення кровообігу в кістковому мозку.

За ішемічної травми скелетного м'яза спостерігається висока кореляція між тривалістю ішемізації та подальшою життєздатністю м'язового волокна [4]. Незважаючи на те, що різні типи волокон виявляють значні метаболічні та функціональні відмінності, це не впливає істотно на їхню толерантність до

травм від ішемії-реперфузії [5].

На клітинному рівні для ішемічної травми скелетного м'яза характерною є міграція нейтрофілів у ендомізій, а потім у перимізій через 24 год після 2 год ішемії і подальшої реперфузії [5]. Для відновлення функціональності м'яза після ішемічного ушкодження важливу роль відіграє імунна система. Зокрема, виявлено кореляцію часу відновлення скелетних м'язів після ішемічної травми з активністю макрофагів (саме з цим пов'язана поява макрофагосфокусованого напрямку терапії ішемічної травми) [15]. Проте структурний процес відновлення починається лише в кінці першого тижня після 2 год ішемізації. Отже, існують функціональні і морфологічні докази ішемічного та реперфузійного ушкодження м'язових тканин навіть через тиждень після реперфузії. А затримка часу початку терапевтичних заходів, особливо в перші години ішемізації, значно гальмує подальші процеси регенерації та зменшує рівень функціонального відновлення травмованого м'яза [5].

Біохімічні аспекти патогенезу ішемічної травми скелетних м'язів. На біохімічному рівні ішемічне ушкодження скелетного м'яза являє собою послідовність біохімічних реакцій, які ініціюються за умов гіпоксії вже після декількох хвилин ішемізації, незалежно від етіологічних особливостей тканини, і є наслідком недостатнього кровопостачання [1]. Більшість клітин гинуть внаслідок активації хімічних речовин, які продукуються під час та після ішемізації і можуть утворитись упродовж декількох днів навіть після відновлення нормального кровотоку. Подальша розробка адекватної біохімічної моделі ішемічного процесу є актуальною як з фундаментальної точки зору, так і для пошуку та ідентифікації специфічних біохімічних маркерів для швидкого встановлення рівня ішемічного ушкодження скелетних м'язів, оскільки це має вирішальне значення для його наступного лікування. Однак досі відсутні точні діагностичні тести, доступні для досягнення цієї мети [4].

Встановлено, що після 2 год ішемії скелетного м'яза та подальшої реперфузії суттєво знижується концентрація АТФ одночасно зі значним збільшенням вмісту лактату (з 25 до 114 ммоль/кг сухої маси). А вже після 3 год розвитку процесу внутрішньом'язовий запас АТФ становить близько 5% від вихідного рівня, а пул глікогену вичерпаний на 88% [7]. З функціональної точки зору ці дані вказують на те, що значна кількість високоенергетичних фосфатних сполук витрачається ішемічноушкодженою м'язовою клітиною на підтримку гомеостазу, особливо під час першої години ішемізації, і, як наслідок, порушення обміну речовин призводить до значного зростання втомлюваності ішемізованого м'яза [16].

Найхарактернішими біохімічними сполуками, які, з одного боку, легко ідентифікувати у клінічних дослідженнях за ішемічної травми, а, з іншого, вміст яких значно змінюється у бік зростання, є фермент креатинфосфокіназа і міоглобін у сироватці крові та міоглобін у сечі. На лабораторних тваринах (свинях) була змодельована ішемічна травма задніх кінцівок, викликана оклюзією зовнішньої та внутрішньої клубової артерії упродовж 5 год з подальшим відновленням регіонарного кровотоку. У сироватці крові цих тварин визначали концентрацію креатинкінази, гістаміну, міоглобіну, активності моноамінооксидази та діамінооксидази. Встановлено важливу роль гістаміну в генезі набряку м'язової тканини у реперфузійний період та підтверджено значне підвищення у плазмі крові вмісту міоглобіну та креатинкінази, що добре узгоджується з даними Kostler з співавт. [17].

Якщо узагальнити основні біохімічні шляхи розвитку патологічних змін за ішемічної травми скелетного м'яза, можна виділити такі аспекти:

1) нестача кисню в ішемізованому міоциті знижує вміст необхідної АТФ;

2) міоцити беруть участь в анаеробному метаболізмі, виробляючи молочну кислоту; внаслідок різкої зміни внутрішньоклітинного pH відбувається збій у роботі іонних насосів і клітини стають деполяризованими, що сприяє

проникненню Ca^{2+} всередину;

3) іонні насоси не можуть впоратися з перенесенням кальцію з клітини і його внутрішньоклітинний вміст стає занадто високим;

4) надлишок цих іонів призводить до генерації патогенних хімічних речовин, зокрема вільних радикалів і кальційзалежних ферментів (кальпаїн, ендонуклеази, АТФази і фосфоліпази);

5) мембрана міоцита при надлишковій кількості фосфоліпаз стає більш проникною, внаслідок чого більше іонів і патогенних хімічних речовин потрапляють всередину клітини; відбувається руйнування мітохондрій, продукуються додаткові токсини і фактори;

6) у разі некротичної загибелі ішемічноушкодженої клітини токсичні речовини потрапляють у міжклітинний простір; активується каскад відповіді на запальний процес і фагоцитарні клітини поглинають такі тканини;

7) формується набряк тканин через витік макромолекул (альбуміни) з ушкоджених кровоносних судин внаслідок їх вазоконстрикції [3, 5, 6, 8, 16].

Загалом усі ці процеси є вкрай небезпечними для самої ушкодженої тканини, адже вона втрачає 75% міоглобіну, 70% креатиніну, 66% калію і 75% фосфору. Після механічного чи хірургічного відновлення кровопостачання попередньо ішемізованого м'яза ці речовини надходять у кровоносне русло, розвивається ацидоз, тяжкі загальні і, в першу чергу, гемодинамічні розлади [18].

Не меншу загрозу для організму становлять і вільні радикали, які інтенсивно утворюються за ішемічної травми м'яза. Зокрема, супероксид- і гідроксид-радикали є основним патогенним чинником у процесі ішемічно-реперфузійних ушкоджень м'язової тканини. Вони включають ініціацію перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), пряме інгібування мітохондріальних ферментів дихального ланцюга, інактивацію гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази, інгібування АТФ-азної активності, інактивацію мембранних натрієвих каналів та деякі інші патофізіологічні процеси [9, 19]. Особливістю появи значної кількості супероксид-радикала є те, що він з'являється у набагато більших кількостях вже на етапах реперфузії, наступних за самою ішемізацією, і швидко реагує з оксидом азоту (NO) [20].

Отже, у скелетному м'язі за ішемічної травми функціонують три основні джерела утворення вільних радикалів:

1) під час реперфузії кисень, який надходить у тканини, ініціює окиснення ксантину і гіпоксантину ксантиноксидазою, що призводить до утворення значної кількості радикала супероксид-аніона і пероксиду водню;

2) ушкоджені ішемією мітохондрії здатні продукувати більшу кількість електронів завдяки їх "витоку" з електронно-транспортного ланцюга. Ці електрони беруть участь в утворенні радикала супероксид-аніона;

3) тканини підвищують кількість хемоатрактантів для нейтрофілів, зокрема лейкотрієну B4 та тромбоцитактивуючого фактора. Крім того, за ішемічної реперфузії збільшується експресія адгезивних молекул на ендотелії. Притягнені у вогнище ушкодження активовані нейтрофіли також вивільняють вільні радикали. Останні провокують вазоконстрикцію, яка є характерним проявом ішемічних ушкоджень [1].

Одним з механізмів, за допомогою яких вільні радикали викликають ушкодження тканин, є взаємодія гідроксильного радикала з атомами водню метильних груп поліненасичених жирних кислот. Цей процес ініціює перекисне окиснення мембранних ліпідів, яке, у свою чергу, призводить до підвищення проникності клітинних мембран.

Початкові патологічні ефекти після тривалої ішемії-реперфузії можуть бути неповними, тим самим продовжуючи каскад ішемічно-реперфузійних змін до кількох діб. Відновлення механокінетичних характеристик скелетних м'язів починається лише у кінці першого тижня після 2 год ішемізації [21]. Збільшення часу ішемії від 1 до 2 год значно затримує процеси регенерації [5].

Використання C_{60}-фулеренів для попередження, профілактики і лікування ішемічної травми скелетних м'язів. Значну зацікавленість викликає новий клас вуглецевих наноструктур – C_{60}-фулерен, якому притаманні унікальні фізико-хімічні властивості та біологічна активність [22-32]. Завдяки майже сферичній формі, малому розміру (0,72 нм у діаметрі) та гідрофобним властивостям молекула C_{60} здатна локалізуватись у клітинній мембрані та проникати всередину клітин [33-36], а завдяки наявності кон'югованої системи подвійних міжвуглецевих зв'язків – взаємодіяти з вільними радикалами та нейтралізувати їх [37-39]. Крім того, відзначають також антибактеріальні та антивірусні ефекти, вплив на сигнальні системи клітини, активність окремих ензимів та процеси ПОЛ [37, 40].

Як зазначалося вище, саме вільні радикали (зокрема, супероксид- і гідроксид-радикали) є основним патогенним чинником у процесі ішемічно-реперфузійних ушкоджень м'язової тканини. Вони ініціюють ПОЛ, інгібують мітохондріальні ферменти дихального ланцюга та АТФ-азну активність, інактивують гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназу, мембранні натрієві канали тощо [9]. Антиоксидантами, які використовують у терапії гіперактивації ПОЛ мембран, є вітаміни А, К, Е, С та мікроелементи цинк, мідь, залізо, селен і марганець як кофактори ферментів системи антиоксидантного захисту [41].

Здатність C_{60}-фулеренів та їх похідних інактивувати вільні радикали кисню вперше було продемонстровано Krustic зі співавт. [42]. Показано, що водорозчинний C_{60}-фулерен є кращим антиоксидантом, ніж природний вітамін Е [37]. Одна молекула C_{60} здатна вловлювати 34 метильних радикали, а також інактивувати супероксид- та пероксид-аніони як *in vivo*, так і *in vitro* [38, 42, 43]. Хімічна функціоналізація C_{60}-фулерену супроводжується зниженням електронно-акцепторних і антиоксидантих властивостей каркасу. У дослідженнях *in vitro* та *in vivo* показано, що ці наноструктури та їх похідні не виявляють гострої токсичності [44-47].

Основною перевагою використання C_{60}-фулеренів як потужних антиоксидантів є їхня здатність локалізуватися всередині клітини у мітохондріях та інших органелах, саме у яких за патологічних станів відбувається утворення вільних радикалів [48, 49]. C_{60}-фулерени та їх похідні здатні захищати клітини (наприклад, нейрони, клітини гепатоми, епітеліальні клітини) від різноманітних токсинів [50-54].

Monti та співавт. [55] виявили захисну активність модифікованих C_{60}-фулеренів проти окисного стресу, індукованого апоптозом у мононуклеарних клітинах периферичної крові людини. За попередньої обробки мишей метамфетаміном та морфієм вони сприяють ефективному зниженню летальності клітин головного мозку, яка є наслідком окисного стресу [56].

Показано, що крім нейропротекторної активності C_{60}-фулерени проявляють і гепатопротекторну: їх водні суспензії, приготовлені без використання полярних органічних розчинників, не лише не є токсичними для щурів, але і захищають їх печінку від вільних радикалів [43]. Інтоксикацію щурів здійснювали за допомогою тетрахлоретану (CCl_4), що призводило до утворення радикалів трихлорметилу – CCl_2, які викликали серйозні ушкодження печінки за реакції з киснем. Ці радикали швидко ініціюють ланцюгову реакцію ПОЛ. У щурів, яким попередньо вводили C_{60}-фулерени за інтоксикації CCl_4, ушкодження печінки не виявлено. Показано, що інгаляції водних суспензій немодифікованого C_{60}-фулерену не викликали жодних токсичних проявів у легеневій тканині, а навпаки, знижували надмірний рівень ПОЛ [57]. Ці наноструктури також здатні впливати на перебіг запального процесу не лише внаслідок зниження активності ПОЛ, але й через ланку макрофагів. В експериментах *in vitro* продемонстровано, що похідні C_{60}-фулерену, захоплені макрофагами, спричинюють викид протизапальних цитокінів [58]. Встановлено антигістамінну і антиоксидантну дію полігід-

роксипохідних C_{60}-фулеренів, що, на думку авторів, є перспективним для застосування у терапії таких захворювань, як астма, поліартрити, хвороби серця і розсіяний склероз [59].

Захисний ефект фулеренолу $C_{60}(OH)_{24}$ вивчали *in vivo* у дозах 25, 50 і 100 мг/кг після хронічної доксорубіциніндукованої кардіо- та гепатотоксичності у щурів з колоректальним раком порівняно з добре відомим антиоксидантом – вітаміном С (100 мг/кг) [60]. За допомогою різних біохімічних і фізіологічних методик показано, що фулеренол виявляє протекторну активність у тканинах серця і печінки. Причому для низьких доз характерний більший захисний ефект. Це, ймовірно, зумовлено тим, що високі дози повільніше всмоктуються з кишечника. Отже, похідні C_{60}-фулеренів здатні виявляти захисний ефект проти окисноопосередкованої травми і він значно залежить від дози.

Встановлено більш ефективний захисний ефект водорозчинного фулеренолу від іонізуючого опромінення порівняно з традиційним радіопротектором – аміфостином [61]. Радіопротекторний ефект першого був найбільш виражений в селезінці, тонкому кишечнику і легенях за внутрішньоочеревинного введення щурам у дозі 100 мг/кг. Фулеренол краще від аміфостину сприяє зниженню індукованого радіацією ушкодження лейкоцитів (гранулоцитів і лімфоцитів), особливо упродовж перших 7 днів після опромінення.

Показано ефективність впливу C_{60}-фулерену на кількість вільних радикалів і процеси руйнування на моделі ад'ювантного артриту у щурів [62]. Виявлено захисний ефект препарату, який проявлявся у збільшенні активності антиоксидантних ферментів, супероксиддисмутази (СОД) в печінці і нирках, каталази у нирках порівняно з контрольною групою. Також зазначено, що захисна дія C_{60}-фулерену спрямована на пригнічення деструктивних процесів у сполучній тканині. Встановлено, що деякі похідні C_{60}-фулерену, діючи як каталізатори, здатні імітувати дію СОД – ферменту, який бере участь у нейтралізації радикала супероксид-аніона.

Доведено, що активні форми кисню (АФК) відіграють ключову роль у запуску біохімічного каскаду індукції запрограмованої загибелі клітини та, поєднуючись між собою, викликають значні токсичні ушкодження [63]. Водночас введення молекул, здатних адсорбувати супероксидний аніон-радикал ($\cdot O_2^-$) та гідроксид-радикал, протектує такі внутрішньоклітинні макромолекули, як білки, ліпіди і ДНК від ушкоджень, захищаючи клітини від апоптозу [64]. Крім того, деякі композити на основі C_{60}-фулерену і білка достатньо ефективно поглинають $\cdot O_2^-$ [65]. Враховуючи, що за ішемічного ушкодження скелетного м'яза найбільшу деструктивну небезпеку становлять АФК, використання C_{60}-фулеренів має значно покращити толерантність м'яза до ішемії і прискорити його післятравматичне відновлення [9]. На користь перспективності цього медико-біологічного застосування C_{60}-фулеренів вказують деякі дослідження, де ці наночастинки проявили себе як ефективні поглиначі вільних радикалів, джерелами яких були ішемічні ушкодження травматичного походження тонкої кишки, а також легень ішемічно-реперфузійного ґенезу [54, 66, 67]. Про таку потенційну можливість застосування C_{60}-фулеренів свідчить також нещодавно клінічно доведена здатність інших наночастинок вуглецю, відомих як гідрофільні вуглецеві кластери, покращувати кровотік і нормалізувати вміст супероксиду та оксиду азоту (NO) за ішемічного ушкодження головного мозку травматичного ґенезу [68].

Показано, що при внутрішньовенному введенні $C_{60}(FC_4S)$ за 15 хв до оклюзії у дозах 10 і 100 мкг/кг значно знижується рівень фокальної церебральної ішемії [69]. Не було зафіксовано змін pH, газового складу крові, частоти серцевих скорочень та артеріального тиску, що дає змогу використати цей розчин C_{60}-фулеренів як захисний агент за ішемічних ушкоджень тканин.

Відомо, що різні типи антиоксидантів здатні послаблювати ішемічно-реперфузійне

ушкодження легень. Lai та співавт. [66] оцінювали здатність водорозчинного похідного C_{60}-фулерену – $C_{60}(ONO_2)_{7\pm2}$ – знижувати прояв ішемічно-реперфузійного ушкодження ізольованих легень щура. Показано, що він має антиоксидантні властивості і здатний вивільнювати оксид азоту, проявляючи ефекти, подібні до дії нітрогліцерину. Експериментальний протокол включав 10 хв стабілізації, 45 хв ішемії і 60 хв реперфузії. Легені вентилювали газовою сумішшю, яка містила 95% O_2 і 5% CO_2. Ішемія викликала підвищення тиску в легеневій артерії, збільшення маси легень і коефіцієнта фільтрації у контролі, проте $C_{60}(ONO_2)_{7\pm2}$ обмежував їх зростання, що розглядали як зменшення ішемічно-реперфузійного ушкодження легень.

Системне застосування карбоксифулерену сприяло зменшенню частоти розладів моторики і смертності мишей на моделі сімейного бічного аміотрофічного склерозу. Lin зі співавт. [53] досліджували нейропротекторний ефект водорозчинного карбоксифулерену за ішемічно-реперфузійної травми головного мозку щурів. Карбоксифулерен вводили тваринам внутрішньовенно (6 мг/кг) або інтрацеребровентрикулярно (0,1 і 0,3 мг/кг) за 30 хв перед ішемією-реперфузією. При внутрішньовенному введені зменшення розміру інфаркту не спостерігали, що, можливо, пов'язано з нездатністю досліджуваних наночастинок долати гематоенцефалічний бар'єр. Водночас місцева попередня обробка карбоксифулереном у дозі 0,3 мг призводила до захисного ефекту, який проявлявся у зменшенні ділянки інфаркту, зниженні ПОЛ і підвищенні вмісту відновленого глутатіону, що є наслідками ішемічно-реперфузійної травми.

Для ефективного відновлення функціонування скелетного м'яза після ішемічного ушкодження одну з вирішальних ролей відіграє збереження стану іннервуючого м'яз нерва. Нещодавно була доведена захисна роль водорозчинних похідних C_{60}-фулеренів за нейродегенерації різноманітної етіології та значне збільшення толерантності нервової тканини до гіпоксії за їх терапевтичного застосування за допомогою впливу на гени, відповідальні за збільшення експресії глутаматних метаботропних рецепторів та аденозину (має нейропротекторну властивість завдяки інгібуванню вивільнення глутамату, який є нейромедіатором, пов'язаним з ексайтотоксичністю та індукованою загибеллю клітин) [70, 71].

Дослідження також вказують на ефективність C_{60}-фулеренів у боротьбі із запальним заміщенням сполучною тканиною – фіброзною дегенерацією міжхребцевих дисків, де дія цих наночастиник виявляється не лише у поглинанні вільних радикалів, а і у вираженому протизапальному ефекті [72].

Важливим показником при вивченні патогенезу ішемічного ушкодження м'язової тканини є кінетика розвитку втоми, яка викликається безрелаксаційними пулами стимуляцій. За нормальних умов її зміни у динаміці скорочення *muscle soleus* виявляються лише після 5-6 год стимуляції [73]. За умов ішемізації вже після 30-40 хв *muscle soleus* не спроможний відповідати генерацією сили на сигнал стимуляції [74]. Лінійне зниження силової відповіді ішемізованого м'яза проявлялось упродовж усього часу експерименту. Виявлено захисний ефект водорозчинних C_{60}-фулеренів на розвиток м'язової втоми на рівні 15 і 20-23% за його внутрішньовенного і внутрішньом'язового введення щурам у дозі 1-1,5 мг/кг, відповідно [75]. Важливо відзначити, що за першого варіанту введення C_{60}-фулерену зменшення силової відповіді *muscle soleus* припинялось і утримувалося на досягнутому рівні упродовж 2 год безрелаксаційної стимуляції.

Зміна швидкості досягнення силою свого стаціонарного рівня при скороченні є одним з найважливіших показників кінетики скорочення скелетних м'язів [76]. Цей компонент м'язової динаміки особливо важливий при контролі точнісного позиціонування [77]. Ішемічне ушкодження м'язової тканини призводить до зменшення цієї швидкості, що

ускладнює, а в деяких випадках і повністю блокує можливість точнісного позиціювання суглоба таким м'язом. Проведений біомеханічний експеримент з вивчення швидкості досягнення силою свого стаціонарного рівня виявив значний захисний ефект на кінетику скорочення C_{60}-фулеренів, внутрішньовенне введення яких сприяло максимальному збільшенню швидкості скорочення на 25% від контролю порівняно з 15%-м захисним ефектом за внутрішньом'язового введення [78].

Оцінювався вплив водного розчину немодифікованого C_{60}-фулерену на динаміку перебігу процесів розвитку силової відповіді на стимуляційне подразнення м'яза (*muscle soleus*) на фоні ішемічних порушень, які виникають за перші 5 год та впродовж 5 діб після 2 год ішемізації і наступної реперфузії. Захисна дія препарату (порівняно зі змінами у рівнях генерації сили між початком і кінцем стимуляційних пулів) становила 15% в перші 5 год після ішемізації і зростала до 90% за 5-ту добу експерименту. У цьому разі його внутрішньовенне введення було найбільш оптимальним – 92%-й захисний ефект при 63%-му за внутрішньом'язового введення [74].

Таким чином, подальший розвиток медичних нанотехнологій із застосуванням водорозчинних C_{60}-фулеренів (у вигляді ін'єкції їх колоїдного розчину) з урахуванням виражених у них антиоксидантних властивостей та відсутності даних про викликані гострі та хронічні інтоксикації відкриває нові можливості у профілактиці і корекції скоротливої активності ішемічноушкодженого м'яза.

С.Ю. Зай[1], Д.А. Заводовский[2], Е.И. Богуцкая[2], Д.Н. Ноздренко[2], Ю.И. Прилуцкий[2]

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ C_{60}-ФУЛЛЕРЕНА КАК СПОСОБА ПРОФИЛАКТИКИ И КОРРЕКЦИИ ИШЕМИЧНО-РЕПЕРФУЗИОННЫХ НАРУШЕНИЙ В СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Актуальной проблемой на сегодня остается отсутствие точных диагностических тестов для быстрого выявления ишемической травмы, что имеет важное значение для эффективности ее дальнейшей терапии. В этой связи продолжается поиск специфических маркеров ишемии, а также новых терапевтических агентов для предупреждения, профилактики и лечения ишемической травмы. Водорастворимые наноразмерные C_{60}-фуллерены как мощные антиоксиданты могут выступать перспективными средствами для коррекции разных состояний мышечной системы, в основе развития которых лежит деструктивное действие свободных радикалов.

Ключевые слова: C_{60}-фуллерен; ишемия-реперфузия; мышечное сокращение; скелетные мышцы.

S.Yu. Zay[1], D.A. Zavodovskyi[2], K.I. Bogutska[2], D.N. Nozdrenko[2], Yu.I. Prylutskyy[2]

PROSPECTS OF C_{60} FULLERENE APPLICATION AS A MEAN OF PREVENTION AND CORRECTION OF ISCHEMIC-REPERFUSION INJURY IN THE SKELETAL MUSCLE TISSUE

A lack of accurate diagnostic tests for the rapid detection of ischemic injury remains an urgent problem. In this context, a search for specific markers of ischemia as well as new therapeutic agents for prevention and treatment of ischemic injury continues. Water-soluble nano-sized C_{60} fullerenes, as powerful antioxidants, can act as promising means for correction of various muscle system states, in the base of which lie the destructive effects of free radicals.

Key words: C_{60} fullerene; ischemia-reperfusion; muscle contraction; skeletal muscles.

[1]Lesya Ukrainka Eastern European National University, Lutsk;
[2]Taras Shevchenko National University of Kyiv

REFERENCES

1. Murdock M, Murdoch MM. Compartment syndrome: a review of the literature. Clin Podiatr Med Surg. 2012; 29(2): 301-10.
2. Bortolotto SK, Morrison WA, Messina A. The role of mast cells and fibre type in ischaemia reperfusion injury of murine skeletal muscles. J Inflamm (Lond). 2004; 1(1): 2-8.
3. Erkut B, Özyazıcıoğlu A, Karapolat BS et al. Effects of ascorbic acid, alpha-tocopherol and allopurinol on ischemia-reperfusion injury in rabbit skeletal muscle: an experimental study. Drug Target Insights. 2007; 2: 249-58.
4. Turóczi Z, Arányi P, Lukáts Á et al. Muscle fiber viability, a novel method for the fast detection of ischemic muscle injury in rats. PLoS One. 2014; 9(1): e84783.
5. Rácz IB, Illyés G, Sarkadi L, Hamar J. The functional and morphological damage of ischemic reperfused skeletal muscle. Eur Surg Res. 1997; 29(4): 254-63.
6. Tidball JG. Mechanisms of muscle injury, repair, and

regeneration. Compr Physiol. 2011; 1(4): 2029-62.
7. Carvalho AJ, McKee NH, Green HJ. Metabolic and contractile responses of fast and slow twitch rat skeletal muscles to ischemia and reperfusion. Plast Reconstr Surg. 1997; 99(1): 163-71.
8. Vignaud A, Hourde C, Medja F, Agbulut O, Butler-Browne G, Ferry A. Impaired skeletal muscle repair after ischemia-reperfusion injury in mice. J Biomed Biotechnol. 2010; 2010: 724914.
9. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. Pharmacol Rev. 2001; 53(1): 135-59.
10. Ghobrial TF, Egleseder WA Jr, Bleckner SA. Proximal ulna shaft fractures and associated compartment syndromes. Am J Orthop. 2001: 30(9): 703-7.
11. Mendelson S, Mendelson A, Holmes J. Compartment syndrome after acute rupture of the peroneus longus in a high school football player: a case report. Am J Orthop. 2003; 32(10): 510-2.
12. Suzuki T, Moirmura N, Kawai K, Sugiyama M. Arterial injury associated with acute compartment syndrome of the thigh following blunt trauma. Injury. 2005; 36(1): 151-9.
13. Matsen FA. Compartment syndrome. New York, 1980.
14. Strafun SS, Dolgopolov OV, Nozdrenko DM. The influence of the acute ischemia on the contractive function and strength of skeletal muscle in experiment. J Orthoped, Traumatol, Prosthetics. 2010; 1: 56-60. [Ukrainian].
15. Hammers DW, Rybalko V, Merscham-Banda M, Hsieh PL, Suggs LJ, Farrar RP. Anti-inflammatory macrophages improve skeletal muscle recovery from ischemia-reperfusion. J Appl Physiol. 2015; 118(8): 1067-74.
16. Khoma OM, Zavodovskyi DA, Nozdrenko DM, Dolhopolov OV, Miroshnichenko MS, Motuzjuk OP. Dynamics of ischemic skeletal *soleus muscle* contraction in rats. Fiziol Zh. 2014; 60(1): 34-40. [Ukrainian].
17. Kostler W, Strohm PC, Sudkamp NP. Acute compartment syndrome of the limb. Injury. 2005; 36(8): 992-8.
18. Sever MS, Vanholder R. Crush syndrome: a case report and review of the literature. J Emerg Med. 2015; 48(6): 730-1.
19. Wang XT, Tian Y, Xu WX, Cui LH, Xiang SY, Lü SC. Protective effects of modeled superoxide dismutase coordination compound (MSODa) against ischemia/reperfusion injury in rat skeletal muscle. Cell Physiol Biochem. 2015; 37(2): 465-76.
20. Matheis G, Sherman MP, Buckberg GD, Habron DM, Young HH, Ignarro LJ. Role of L-arginine-nitric oxide pathway in myocardial reoxygenation injury. Am J Physiol. 1992; 262(Pt 2): H616-20.
21. Loerakker S, Oomens CW, Manders E et al. Ischemia-reperfusion injury in rat skeletal muscle assessed with T2-weighted and dynamic contrast-enhanced MRI. Magn Reson Med. 2011; 66(2): 528-37.
22. Prylutskyy YuI, Durov SS, Bulavin LA et al. Structure and thermophysical properties of fullerene C_{60} aqueous solutions. Int J Thermophys. 2001; 22(3): 943-55.
23. Prylutskyy YuI, Yashchuk VM, Kushnir KM et al. Biophysical studies of fullerene-based composite for bionanotechnology. Mater Sci Engineer C. 2003; 23(1-2): 109-11.
24. Golub A, Matyshevska O, Prylutska S et al. Fullerenes immobilized at silica surface: topology, structure and bioactivity. J Mol Liq. 2003; 105(2-3): 141-7.
25. Scharff P, Carta-Abelmann L, Siegmund C et al. Effect of X-ray and UV irradiation of the C_{60} fullerene aqueous solution on biological samples. Carbon. 2004; 42(5-6): 1199-201.
26. Prylutska SV, Burlaka AP, Klymenko PP, Grynyuk II, Prylutskyy YuI, Schuetze Ch, Ritter U. Using water-soluble C_{60} fullerenes in anticancer therapy. Cancer Nanotechnol. 2011; **2(1): 105-10.**
27. Prylutskyy YuI, Buchelnikov AS, Voronin DP, Kostjukov VV, Ritter U, Parkinson JA, Evstigneev MP. C_{60} fullerene aggregation in aqueous solution. Phys Chem Chem Phys. 2013; 15(23): 9351-60.
28. Prylutskyy YuI, Petrenko VI, Ivankov OI et al. On the origin of C_{60} fullerene solubility in aqueous solution. Langmuir. 2014; 30: 3967-70.
29. Skamrova GB, Laponogov IV, Buchelnikov AS et al. Interceptor effect of C_{60} fullerene on the *in vitro* action of aromatic drug molecules. Eur Biophys J. 2014; 43(6-7): 265-76.
30. Astefanei A, Núñez O, Galceran MT. Characterisation and determination of fullerenes: a critical review. Anal Chim Acta. 2015; 882: 1-21.
31. Kumar A. Fullerenes for biomedical applications. J Environ Appl Biores. 2015; 3(4): 175-91.
32. Ritter U, Prylutskyy YuI, Evstigneev MP et al. Structural features of highly stable reproducible C_{60} fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques. Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct. 2015; 23(6): 530-4.
33. Foley S, Crowley C, Smaihi M, Bonfils C, Erlanger BF, Seta P, Larroque C. Cellular localisation of a water-soluble fullerene derivative. Biochem Biophys Res Commun. 2002; 294(1): 116-9.
34. Schuetze C, Ritter U, Scharff P, Bychko A, Prylutska S, Rybalchenko V, Prylutskyy Yu. Interaction of N-fluorescein-5-isothiocyanate pyrrolidine-C_{60} compound with a model bimolecular lipid membrane. Mater Sci Engineer C. 2011; 31(5): 1148-50.
35. Prylutska SV, Matyshevska OP, Grynyuk II, Prylutskyy YuI, 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.
36. Montellano A, Da Ros T, Bianco A, Prato M. Fullerene C□□ as a multifunctional system for drug and gene delivery. Nanoscale. 2011; 3(10): 4035-41.
37. Wang IC, Tai LA, Lee DD. C_{60} and water-soluble derivatives as antioxidants against radical-initiated lipid peroxidation. J Med Chem. 1999; 42(22): 4614-20.
38. Prylutska SV, Grynyuk II, Matyshevska OP, Prylutskyy YuI, Ritter U, Scharff P. Anti-oxidant properties of C_{60} fullerenes *in vitro*. Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct. 2008; 16(5-6): 698-705.

39. Scharff P, Ritter U, Matyshevska OP et al. Therapeutic reactive oxygen generation. Tumori. 2008; 94(2): 278-83.
40. Injac R, Prijatelj M, Strukelj B. Fullerenol nanoparticles: toxicity and antioxidant activity. Methods Mol Biol. 2013; 1028: 75-100.
41. Chen JR, Weng CN, Ho TJ, Chang IC, Lai SS. Identification of the copper-zinc superoxide dismutase activity in Micoplasma hyopneumoniae. Vet Microbiol. 2000; 73(4): 301-10.
42. Krustic PJ, Wasserman E, Keizer PN, Morton JR, Preston KF. Radical reactions of C_{60}. Science. 1991; 254(5035): 1183-5.
43. Gharbi N, Pressac M, Hadchouel M, Szwarc H, Wilson SR, Moussa F. C_{60} fullerene is a powerful antioxidant *in vivo* with no acute or subacute toxicity. Nano Lett. 2005; 5(12): 2578-85.
44. Sayes CM, Fortner JD, Guo W, Lyon D et al. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes. Nano Lett. 2004; 4(10): 1881-7.
45. Prylutska SV, Matyshevska OP, Golub AA, Prylutskyy YuI, Potebnya GP, Ritter U, Scharff P. Study of C_{60} fullerenes and C_{60}-containing composites cytotoxicity *in vitro*. Mater Sci Eng C. 2007; 27(5-8): 1121-4.
46. Prylutska SV, Grynyuk II, Grebinyk SM et al. Comparative study of biological action of fullerenes C_{60} and carbon nanotubes in thymus cells. Mat-wiss u Werkstofftech. 2009; 40(4): 238-41.
47. Didenko G, Prylutska S, Kichmarenko Y et al. Evaluation of the antitumor immune response to C_{60} fullerene. Mat-wiss u Werkstofftech. 2013; 44(2-3): 124-8.
48. Tsai MC, Chen YH, Chiang LY. Polyhydroxylated C_{60}, fullerenol, a novel free-radical trapper, prevented hydrogen peroxide- and cumene hydroperoxide-elicited changes in rat hippocampus in-vitro. J Pharm Pharmacol. 1997; 49(4): 438-45.
49. Lotharius J, Dugan LL, O'Malley KL. Distinct mechanisms underlie neurotoxin-mediated cell death in cultured dopaminergic neurons. J Neurosci. 1999; 19(4): 1284-93.
50. Huang SS, Mashino T, Mochizuki M. Effect of hexasulfobutylated C_{60} on the isolated aortic ring of guinea pig. Pharmacology. 2000; 64(2): 91-7.
51. Bisaglia M, Natalini B, Pellicciari R, Straface E, Malorni W, Monti D, Franceschi C, Schettini G. C3-fullero-tris-methanodicarboxylic acid protects cerebellar granule cells from apoptosis. J Neurochem. 2000; 74(3): 1197-204.
52. Straface E, Natalini B, Monti D et al. C3-fullero-tris-methanodicarboxylic acid protects epithelial cells from radiation-induced anoikia by influencing cell adhesion ability. FEBS Lett. 1999; 454(3): 335-40.
53. Lin AM, Fang SF, Lin SZ, Chou CK, Luh TY, Ho LT. Local carboxyfullerene protects cortical infarction in rat brain. Neurosci Res. 2002; 43(4): 317-21.
54. Chen YW, Hwang KC, Yen CC, Lai YL. Fullerene derivatives protect against oxidative stress in RAW 264.7 cells and ischemia-reperfused lungs. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2004; 287(1): R21-6.
55. Monti D, Moretti L, Salvioli S et al. C_{60} carboxyfullerene exerts a protective activity against oxidative stress-induced apoptosis in human peripheral blood mononuclear cells. Biochem Biophys Res Commun. 2000; 277(3): 711-7.
56. Mori T, Ito S, Matsubayashi K, Sawaguchi T. Comparison of nitric oxide synthase inhibitors, phospholipase A2 inhibitor and free radical scavengers as attenuators of opioid withdrawal syndrome. Behav Pharmacol. 2007; 18(8): 725-9.
57. Sayes CM, Marchione AA, Reed KL, Warheit DB. Comparative pulmonary toxicity assessments of C_{60} water suspensions in rats: few differences in fullerenetoxicity *in vivo* in contrast to *in vitro* profiles. Nano Lett. 2007; 7(8): 2399-406.
58. Baierl T, Seidel A. *In vitro* effects of fullerene C_{60} and fullerene black on immunofunctions of macrophages. Full Sci Technol. 1996; 4: 1073-85.
59. Ryan JJ, Bateman HR, Stover A, Gomez G et al. Fullerene nanomaterials inhibit the allergic response. J Immunol. 2007; 179(1): 665-72.
60. Injac R, Perse M, Cerne M, Potocnik N, Radic N, Govedarica B, Djordjevic A, Cerar A, Strukelj B. Protective effects of fullerenol $C_{60}(OH)_{24}$ against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats with colorectal cancer. Biomaterials. 2009; 30(6): 1184-96.
61. Trajkovic S, Dobric S, Jacevic V, Dragojevic-Simic V, Milovanovic Z, Dordevic A. Tissue-protective effects of fullerenol $C_{60}(OH)_{24}$ and amifostine in irradiated rats. Colloids Surf B Biointer-faces. 2007; 58(1): 39-43.
62. Ye S, Zhou T, Cheng K, Chen M, Wang Y, Jiang Y, Yang P. Carboxylic acid fullerene (C60) derivatives attenuated neuroinflammatory responses by modulating mitochondrial dynamics. Nanoscale Res Lett. 2015; 10(1): 953.
63. Paradise WA, Vesper BJ, Goel A, Waltonen JD, Altman KW, Haines GK, Radosevich JA. Nitric oxide: perspectives and emerging studies of a well known cytotoxin. Int J Mol Sci. 2010; 11(7): 2715-45.
64. Hur J, Pak SC, Koo BS, Jeon S. Borneol alleviates oxidative stress via upregulation of Nrf2 and Bcl-2 in SH-SY5Y cells. Pharm Biol. 2013; 51(1): 30-5.
65. Higashi N, Shosu T, Koga T, Niwa M, Tanigawa T. pH-responsive, self-assembling nanoparticle from a fullerene-tagged poly(L-glutamic acid) and its superoxide dismutase mimetic property. J Colloid Interface Sci. 2006; 298(1): 118-23.
66. Lai HS, Chen WJ, Chiang LY. Free radical scavenging activity of fullerenol on the ischemia-reperfusion intestine in dogs. World J Surg. 2000; 24(4): 450-4.
67. Lai YL, Murugan P, Hwang KC. Fullerene derivative attenuates ischemia-reperfusion-induced lung injury. Life Sci. 2003; 72(11): 1271-8.
68. Bitner BR, Marcano DC, Berlin JM, Fabian RH. Antioxidant carbon particles improve cerebrovascular dysfunction following traumatic brain injury. ACS Nano. 2012; 6(9): 8007-14.
69. Huang SS, Tsai SK, Chih CL, Chiang LY, Hsieh HM, Teng CM, Tsai MC. Neuroprotective effect of hexasulfobutyl-

ated C_{60} on rats subjected to focal cerebral ischemia. Free Radic Biol Med. 2001; 30(6): 643-9.
70. Giust D, Da Ros T, Martín M, Albasanz JL. [60]Fullerene derivative modulates adenosine and metabotropic glutamate receptors gene expression: a possible protective effect against hypoxia. J Nanobiotechnol. 2014; 12: 27-32.
71. Giust D, León D, Ballesteros-Yañez I, Da Ros T, Albasanz JL. Modulation of adenosine receptors by [60]fullerene hydrosoluble derivative in SK-N-MC cells. ACS Chem Neurosci. 2011; 2(7): 363-9.
72. Liu Q, Cui Q, Li XJ, Jin L. The applications of buckminsterfullerene C_{60} and derivatives in orthopaedic research. Connect Tissue Res. 2014; 55(2): 71-9.
73. Kalezic I, Bugaychenko LA, Kostyukov AI, Pilyavskii AI, Ljubisavljevic M, Windhorst U, Johansson H. Fatigue-related depression of the feline monosynaptic gastrocnemius-soleus reflex. J Physiol (Gr Brit). 2004; 556(Pt1): 283-96.
74. Nozdrenko DM, Bogutska KI, Prylutskyy YuI, Ritter U, Scharff P. C_{60} fullerene effect on the dynamics of fatigue processes in rat *soleus muscle* after ischemia-reperfusion. Biotechnol Acta. 2014; 7(3): 43-51.
75. Nozdrenko D, Prylutskyy Yu, Ritter U, Scharff P. Protective effect of water-soluble pristine C_{60} fullerene in ischemia-reperfusion injury of skeletal muscle. Int J Phys Pathophys. 2014; 5(2): 97-110.
76. Kostyukov I. Muscle hysteresis and movement control: a theoretical study. Neurosci. 1998; 83(1): 303-20.
77. Nozdrenko DN, Bogutska KI. About molecular mechanisms of fiber muscle contraction at transition to new equilibrium state: analysis of experimental data using three-componential electrical stimulating signal. Biopolymers and Cell. 2005; 21(3): 283-6. [Russian].
78. Nozdrenko DM, Bogutska KI, Prylutskyy YI, Korolovych VF, Evstigneev MP, Ritter U, Scharff P. Impact of C_{60} fullerene on the dynamics of force-speed changes in *soleus muscle* of rat at ischemia-reperfusion injury. Fiziol Zh. 2015; 61(2): 48-59. [Ukrainian].

Матеріал надійшов до редакції 16.12.2015