

Original article

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2024-51-05>

УДК 577.32+57.04

**C₆₀ ФУЛЕРЕН ПОКРАЩУЄ ВІДНОВЛЕННЯ БІОМЕХАНІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ
СКОРОЧЕННЯ *MUSCLE SOLEUS* ЩУРІВ ПІСЛЯ ХРОНІЧНОЇ
АЛКОГОЛІЗАЦІЇ****Д. М. Ноздренко¹, В. Нан², Т. Ю. Матвієнко¹, К. І. Богуцька¹,
Т. Я. Шевчук², В. П. Берест³, Ю. І. Прилуцький^{1,*}**¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13,
м. Київ, 01601, Україна;²Волинський національний університет імені Лесі Українки, проспект Волі, 13, м. Луцьк, 43025, Україна;³Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи 4,
м. Харків, 61022, Україна*e-mail: prylut@ukr.net

Надійшла до редакції 11 січня 2024 р. Переглянута 14 травня 2024 р.

Прийнята до друку 17 травня 2024 р.

Актуальність. Відновлення біомеханічних параметрів скорочення пошкоджених алкогольною міопатією м'язів є доволі складним і тривалим процесом. Відтак, пошук ефективних терапевтичних засобів для його прискорення є вкрай актуальним завданням у біомедицині.

Мета роботи. Дослідження дії водного розчину C₆₀ фулеренів (C₆₀ФВР) на динаміку скорочення скелетних м'язів щурів після 9-ти місячної хронічної алкоголізації та через 2 місяці після припинення вживання алкоголю.

Матеріали та методи. При аналізі міотичної відповіді з використанням тензометрії оцінювали такі біомеханічні параметри як час зменшення силової відповіді м'яза на 50% від початкового значення, величини сили скорочення та імпульсу сили м'яза.

Результати. Показано, що у тварин, які перорально одержували алкоголь і C₆₀ФВР (щоденна доза 1 мг/кг) разом (схема II) упродовж експерименту, має місце збільшення силової відповіді м'яза на 40–45±2% порівняно з групою алкоголізованих тварин та на 12–15±1% порівняно з групою щурів, які одержували C₆₀ФВР через 1 год після прийому алкоголю (схема I). Позитивний ефект застосування C₆₀ФВР за схемою II і схемою I склав 34±2% та 10±1%, відповідно, порівняно з групою алкоголізованих тварин у випадку реєстрації часу зменшення силової відповіді м'яза на 50% від початкового значення. Після 2-х місячної реабілітації рівень мінімальної сили скорочення м'яза при застосуванні C₆₀ФВР в обох схемах відрізнявся приблизно на 15±1% щодо групи алкоголізованих тварин, а часу зменшення силової відповіді на 50% достовірно не було зафіксовано. Нарешті, застосування C₆₀ФВР виявило суттєве збільшення величини імпульсу сили м'яза: до 86±4% (схема I) і майже до контрольних значень — 94±2% (схема II).

Як цитувати: Ноздренко ДМ, Нан В, Матвієнко ТЮ, Богуцька КІ, Шевчук ТЯ, Берест ВП, Прилуцький ЮІ. C₆₀ фулерен покращує відновлення біомеханічних параметрів скорочення *muscle soleus* щурів після хронічної алкоголізації. Біофізичний вісник. 2024;51:64–74. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2024-51-05>

In cites: Nozdrenko DM, Nan W, Matvienko TYu, Bogutska KI, Shevchuk TYa, Berest VP, Prylutskyu YuI. C₆₀ fullerene improves the recovery of biomechanical parameters of muscle soleus contraction in rats after chronic alcoholization. Biophysical Bulletin. 2024;51:64–74. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2024-51-05> (in Ukrainian)

Open Access. This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

© Ноздренко Д. М., Нан В., Матвієнко Т. Ю., Богуцька К. І., Шевчук Т. Я., Берест В. П., Прилуцький Ю. І., 2024.

Висновки. Одержані результати вказують на перспективність використання C₆₀ФВР для відновлення біомеханічних параметрів скорочення скелетних м'язів за тривалого розвитку алкогольної міопатії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: C₆₀ фулерен; *muscle soleus*; алкогольна міопатія; відновлення; біомеханічні параметри скорочення скелетного м'яза.

Алкогольна міопатія, яка зустрічається у 40–60% хронічних алкоголіків [1], представляє собою сукупність метаболічних та біомеханічних змін у скелетних м'язах [2]. Хронічне зловживання алкоголем є однією з причин загальної дисфункцій скелетних м'язів, їх атрофії із супутньою втратою м'язової маси і, як наслідок, порушення рухливості кінцівок загалом [3]. Алкоголь порушує усі ланки обміну речовин м'язової і кісткової тканин. Комплексні дослідження впливу етанолу на м'язову і кісткову тканини виявили достовірні специфічні ознаки атрофії м'язових волокон селективного характеру [3, 4]. Зокрема, атрофуються м'язові волокна ІІВ типу, наприклад, зі зниженням усієї м'язової маси до 30%. Встановлено, що алкогольна проксимальна міопатія веде до зменшення розміру волокон без зміни їх кількості [4]. Середній діаметр м'язових волокон за дії етанолу складає 80% від їх діаметру у контрольних групах [5]. Такі порушення є найбільш поширеним розладом функціонування скелетних м'язів, які спостерігаються приблизно у 50% пацієнтів, що зловживають алкоголем [6]. Вони скорочують час виникнення м'язової втоми та мають довготривалий перебіг. Відновлення біомеханічних параметрів скорочення пошкоджених алкогольною міопатією м'язів може тривати місяці, а іноді й роки. Тому пошук ефективної методики прискорення цього процесу є вкрай актуальним завданням у біомедицині.

Здатність вуглецевих наночастинок C₆₀ фулеренів та їх похідних інактивувати активні форми кисню (АФК) вперше було продемонстровано Krustic зі співавт. [7]. C₆₀ фулерен проявляє сильнішу дію, ніж найефективніший природний антиоксидант — вітамін Е, запобігаючи пошкодженню цілісності клітинних мембран, і, таким чином, сприяє підтримці трансмембранного потенціалу [8]. C₆₀ фулерени проявляють захисний ефект за нейродегенерації різноманітної етіології, зокрема спостерігається значне збільшення толерантності нервової тканини до гіпоксії шляхом впливу на гени, які відповідають за збільшення експресії глутаматних метаболічних рецепторів та аденозину [9]. Це є важливим фактом, адже одним з головних аспектів ефективного відновлення функціонування скелетного м'яза після алкогольної міопатії є збереження стану інервуючого м'яз нерва. Наявні експериментальні дані вказують на ефективність застосування C₆₀ фулеренів проти фіброзної дегенерації міжхребцевих дисків, де їх дія проявляється у вираженому протизапальному ефекті [10].

У попередніх експериментах *in vivo* було показано, що застосування водорозчинних C₆₀ фулеренів за низьких доз призводить до значних позитивних ефектів після ініціацій ішемічного пошкодження [11, 12], втоми [13, 14], атрофії [15] та механічної травми [16] скелетних м'язів. Зрозуміло, що ці ефекти істотно залежать від використовуваних схем введення водного розчину C₆₀ фулеренів (C₆₀ФВР) на тлі ініціації тієї чи іншої патології.

Таким чином, метою цієї роботи було з'ясувати вплив C₆₀ФВР на відновлення основних біомеханічних параметрів скорочення скелетних м'язів щурів (час зменшення силової відповіді м'яза на 50% від початкового значення, величини сили скорочення та імпульсу сили м'яза) після 9-ти місячної хронічної алкоголізації та через 2 місяці після припинення вживання алкоголю за різних схем введення цієї наносполуки.

МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ

Приготування та характеризування C₆₀ФВР

Для отримання C₆₀ФВР був використаний метод, заснований на переведенні C₆₀ фулеренів з толуолу у воду з одночасною обробкою ультразвуком (8 Гц, 8 год) [17]. Отриманий темно-коричневий C₆₀ФВР за максимальної концентрації 0,15 мг/мл є стабільним упродовж 12–18 місяців у діапазоні температур +(4–25) °С.

Важливо зазначити, що C₆₀ фулерен є гідрофобною молекулою, яка здатна вбудовуватися у біологічні мембрани і, таким чином, проникати в клітину шляхом пасивної дифузії або ендоцитозу [18, 19].

За даними [20, 21] водорозчинні C₆₀ фулерени у концентраціях до 14,4 та 24 мкг/мл не проявляли токсичної дії на тимоцити щурів та мезенхімальні стовбурові клітини людини, відповідно. C₆₀ фулерен в діапазоні концентрацій 3,6–144 мкг/мл продемонстрував низьку токсичність проти клітин ембріональної нирки людини (НЕК293) зі значенням IC₅₀ 383,4 мкг/мл [22]. Відсутність токсичної дії C₆₀ фулерену спостерігали у діапазоні доз 75–150 мг/кг, розраховане значення LD₅₀ становило 721 мг/кг [22]. Встановлено, що радіоактивно-мічені C₆₀ фулерени після внутрішньовенного введення мишам накопичуються переважно у печінці, селезінці, шлунку та крові і виводяться з організму упродовж 72 год переважно із сечею [23, 24]. Нещодавні результати [25] свідчать про подовжену кінетику елімінації водорозчинних C₆₀ фулеренів з організму щурів, що сприяє їх тривалій (не менше 48 год) компенсаторній активації ендогенної антиоксидантної системи у відповідь на стимуляцію м'язів.

Методом атомно-силової мікроскопії (АСМ) визначали розмір частинок C₆₀ фулеренів (їх агрегатів) у водному розчині. АСМ дослідження були виконані на зондовому мікроскопі “Solver Pro” (NT-MDT), обладнаному оптичним мікроскопом Integra Spectra (NT-MDT). АСМ візуалізація зразків відбувалася у напівконтактному режимі з використанням АСМ зондів типу NSG10 (NT-MDT). Як підкладку використовували свіжосколоту атомно-гладку поверхню слюди (V1 grade, SPI Supplies), на обмежену ділянку якої наносили краплю C₆₀ФВР. Вимірювання проводили на сухих шарах після повного випаровування води.

In vivo експеримент. Експерименти проводили на щурах-самцях лінії Wistar віком від 1 до 10 місяців (наприкінці досліду). 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 21.02.2006 р., м. Київ, «Про захист тварин від жорстокого поводження» під час проведення медико-біологічних досліджень.

Контрольна група щурів (n=7) одержувала 100% питну воду.

Кожна тварина у групі «алкоголізація» (n=7) була поміщена в окрему клітку для отримання 40% етанолу у питній воді [26]. Споживання кількості етанолу розраховували щодо 0,5% ваги тіла тварини. Перерахунок дози етанолу проводили кожну добу упродовж експерименту [27]. Тривалість алкоголізації становила 9 місяців. Цільове значення 40% етанолу у питній воді було обрано з тих міркувань, що воно відтворює концентрації алкоголю у крові, зареєстровані у хронічних алкоголіків [28].

Піддослідні тварини групи «C₆₀+алкоголізація» на тлі алкоголізації перорально вживали C₆₀ФВР у щоденній дозі 1 мг/кг ваги тварини упродовж експерименту. Прийом C₆₀ФВР проводили двома способами: через 1 год після алкоголю (схема І; n=7)

та разом з алкоголем (схема II; n=7). Контроль кількості вжитого C₆₀ФВР здійснювали шляхом відмови доступу тварин до 100% питної води до повного використання ними досліджуваної наносполуки.

Важливо зазначити, що використана в наших експериментах доза C₆₀ФВР (1 мг/кг), як найбільш ефективна, була обрана на основі проведених раніше досліджень [29]. Крім того, ця доза не є токсичною: вона значно нижча за значення LD₅₀, яке становило 600 мг/кг ваги щура за перорального введення [30].

Анестезію тварин (для дослідження функціональної активності *muscle soleus*) здійснювали внутрішньочеревним введенням нембуталу (40 мг/кг).

Біомеханічний аналіз

Для реєстрації електрофізіологічних сигналів використовували 12-ти розрядний аналого-цифровий та цифро-аналоговий перетворювач (АЦП-ЦАП). Вихідні імпульси ЦАП запускали ізольовані стимулятори (DS2A, Digitimer), які здійснювали стимуляцію нервів. Вхідні сигнали через підсилювач (Brownlee) подавали на АЦП і реєстрували з частотою 10 кГц. Для підготовки до модульованої стимуляції еферентів у сегментах L7-S1 перерізували вентральні корінці у місцях їхнього виходу зі спинного мозку [31]. Філаменти перерізаних вентральних корінців закріплювали на стимулюючих електродах і здійснювали циклічний розподіл послідовності стимулів. Стимуляцію еферентів здійснювали електричними імпульсами тривалістю 2 мс, сформованими за допомогою генератора імпульсів. Зусилля вимірювали за допомогою напівпровідникових тензодатчиків, наклеєних на жорсткі сталеві балки, встановлені на рухомі частини лінійного двигуна. Контроль зовнішнього навантаження на м'яз здійснювали за допомогою системи механостимуляторів. При аналізі міотичної відповіді аналізували такі основні біомеханічні параметри як час зменшення силової відповіді м'яза на 50% від початкового значення, величини сили скорочення та імпульсу сили м'яза, що слугують маркерами дисфункцій *muscle soleus* [12, 15, 16]. Зазначимо, що імпульс сили м'яза, як розрахована площа під силовою кривою за допомогою програмного забезпечення Origin 9.4, є показником загальної працездатності м'яза за застосованої стимуляції [29].

Слід зауважити, що у цьому дослідженні ми вивчали процес відновлення біомеханічних параметрів м'язового скорочення після тривалої алкогольної інтоксикації через 2 місяці після припинення вживання алкоголю. Вибір саме цього терміну пов'язаний з даними [32, 33], які показують, що за повної відмови від алкоголю м'язова та нервова системи відновлюються понад місяць.

Статистичний аналіз

Статистичний аналіз результатів проводили методами варіаційної статистики у програмі Statistica 8.0. Кожна з одержаних експериментальних кінетичних кривих є результатом усереднення 10-ти аналогічних вимірювань. Для оцінки достовірності виявлених змін застосовували дисперсійний аналіз ANOVA з наступним тестом множинного порівняння Бонферроні. Відмінності при значеннях $p < 0,05$ вважалися значущими.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Моніторинг розміру частинок C₆₀ фулеренів, присутніх у водному розчині, є важливим етапом дослідження, оскільки це пов'язано з їх специфічною біоактивністю і токсичністю [34]. АСМ дослідження виявило високий ступінь дисперсності молекул C₆₀

у розчині (Рис. 1). Отже, одержаний C_{60} ФВР (0,15 мг/мл) є типовим колоїдом, що містить як поодинокі C_{60} фулерени (~0,7 нм), так і їх наноагрегати розміром ~1,4–20 нм, що добре узгоджується з даними [35].

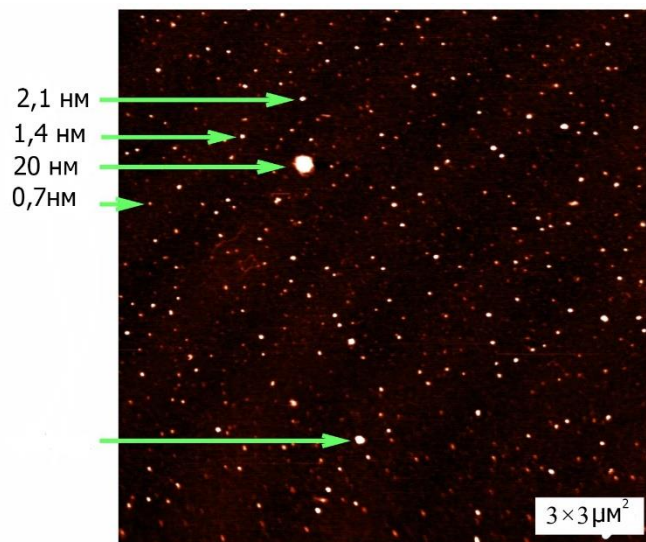


Рис. 1. АСМ зображення наночастинок C_{60} фулеренів, осаджених із C_{60} ФВР (0,15 мг/мл) на свіжосколоту атомно-гладку поверхню слюди. Цифри біля стрілочок вказують розмір (висоту) наночастинок.

Fig. 1. AFM image of C_{60} fullerene nanoparticles deposited with C_{60} FAS (0.15 mg/ml) on a freshly chipped atomically smooth mica surface. The numbers next to the arrows indicate the size (height) of the nanoparticles.

Сила скорочення *muscle soleus* піддослідних тварин після 9-ти місячної хронічної алкоголізації та 2-х місяців реабілітаційного періоду була проаналізована за 1 Гц безрелаксаційної стимуляції тривалістю 1800 с (Рис. 2). При реєстрації силових відповідей алкоголізованих тварин виявлено зниження силової активності м'яза до 50–70±3% від контрольних значень наприкінці досліду. У щурів, які одержували разом алкоголь і C_{60} ФВР (схема II), простежується збільшення силової відповіді м'яза упродовж експерименту на 40–45±2% порівняно з групою алкоголізованих тварин та на 12–15±1% порівняно з групою щурів, які одержували C_{60} ФВР через 1 год після прийому алкоголю (схема I).

Для більш якісного аналізу одержаних результатів ми дослідили зміни основних біомеханічних маркерів м'язової активності [12, 15, 16] (Рис. 3 та Рис. 4, відповідно).

Час зменшення силової відповіді м'яза на 50% від початкового (контроль) значення (t_{50}) склало 1241±25 с у групі алкоголізованих тварин. При застосуванні C_{60} ФВР цей час склав 1521±13 (схема I) і 1675±15 с (схема II). Таким чином, позитивний ефект застосування C_{60} ФВР за схемою II і схемою I склав 34±2% та 10±1%, відповідно, порівняно з групою алкоголізованих тварин. Зазначимо, що після 2-х місячної реабілітації часу зменшення силової відповіді на 50% від початкового (група алкоголізованих тварин) значення не було зафіксовано у групах тварин « C_{60} +алкоголізація» (Рис. 3).

Зміна рівня мінімальної сили скорочення є одним з найчутливіших маркерів м'язової дисфункції. Її зменшення у групі алкоголізованих тварин склало понад 70% (1,15 Н у контролі). При застосуванні C_{60} ВРФ цей показник склав 0,52±0,05 Н (схема I)

і $0,69 \pm 0,07$ Н (схема II). Позитивний ефект застосування C₆₀ВРФ за схемою II склав понад $70 \pm 3\%$ порівняно з групою алкоголізованих тварин та понад $25 \pm 1\%$ порівняно з групою щурів, які одержували C₆₀ФВР за схемою I (Рис. 3).

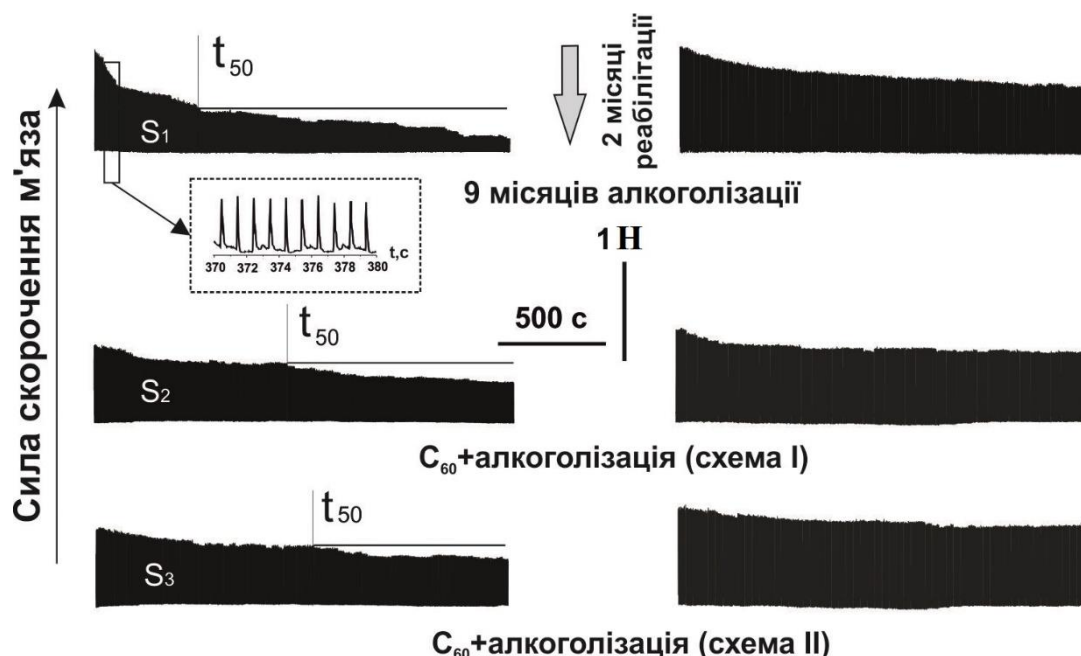


Рис. 2. Сила скорочення *muscle soleus* щурів, викликана 1 Гц безрелаксаційною стимуляцією тривалістю 1800 с, після 9-ти місячної хронічної алкоголізації та через 2 місяці припинення вживання алкоголю: S — імпульс сили м'яза (розрахована площа під силовою кривою); t_{50} — час досягнення силою 50% рівня від початкового значення; алкоголізація — щури, які одержували алкоголь упродовж експерименту; C₆₀+алкоголізація — щури, які одержували алкоголь і C₆₀ФВР (1 мг/кг) упродовж експерименту за різних схем введення нанополуки: через 1 год після прийому алкоголю (схема I) та разом з алкоголем (схема II).

Fig. 2. The force contraction of the *muscle soleus* of rats, induced by 1 Hz by non-relaxation stimulation lasting 1800 s, after 9 months of chronic alcoholism and 2 months after cessation of alcohol consumption: S — impulse of muscle strength (calculated area under the force curve); t_{50} is the time for the force to reach 50% of the initial level; alcoholization — rats that received alcohol during the experiment; C₆₀+alcoholization — rats treated with alcohol and C₆₀FAS (1 mg/kg) during the experiment with different schemes of nanocompound administration: 1 h after alcohol intake (scheme I) and together with alcohol (scheme II).

Після 2-х місячної реабілітації рівень мінімальної сили скорочення у групі алкоголізованих тварин склав $0,73 \pm 0,10$ Н, що майже на $40 \pm 2\%$ менше порівняно з контролем (Рис. 3). Застосування C₆₀ФВР в обох схемах показало рівень мінімальної сили $0,99 \pm 0,10$ Н, який відрізнявся приблизно на 15% щодо групи алкоголізованих тварин. Важливо зазначити також, що у групах тварин «C₆₀+алкоголізація» майже відсутня відмінність між максимальною та мінімальною силами м'язового скорочення, а саме значення їх різниці відповідає за якість та ефективність виконання точних рухів [36].

Аналіз величини імпульсу сили м'яза дозволяє оцінити рівень м'язової активності у системі рівноваги «сила — зовнішнє навантаження», що є фізіологічним аналогом працездатності м'язової системи. Значення цього параметру в групі алкоголізованих тварин склала $23 \pm 1\%$ від контролю, прийнятого за 100%. При застосуванні C₆₀ВРФ цей показник склав $61 \pm 2\%$ (схема I) і $72 \pm 3\%$ (схема II). Навіть після 2-х місячної

реабілітації рівень імпульсу сили м'яза в групі алкоголізованих тварин склав $68 \pm 4\%$, що слугує доказом суттєвих патологічних змін у м'язовій тканині, які відбулися за 9-ти місячної алкоголізації тварин. Застосування C_{60} ВРФ виявило суттєве збільшення цього показника: до $86 \pm 4\%$ (схема I) і майже до контрольних значень — $94 \pm 2\%$ (схема II) (Рис. 4).

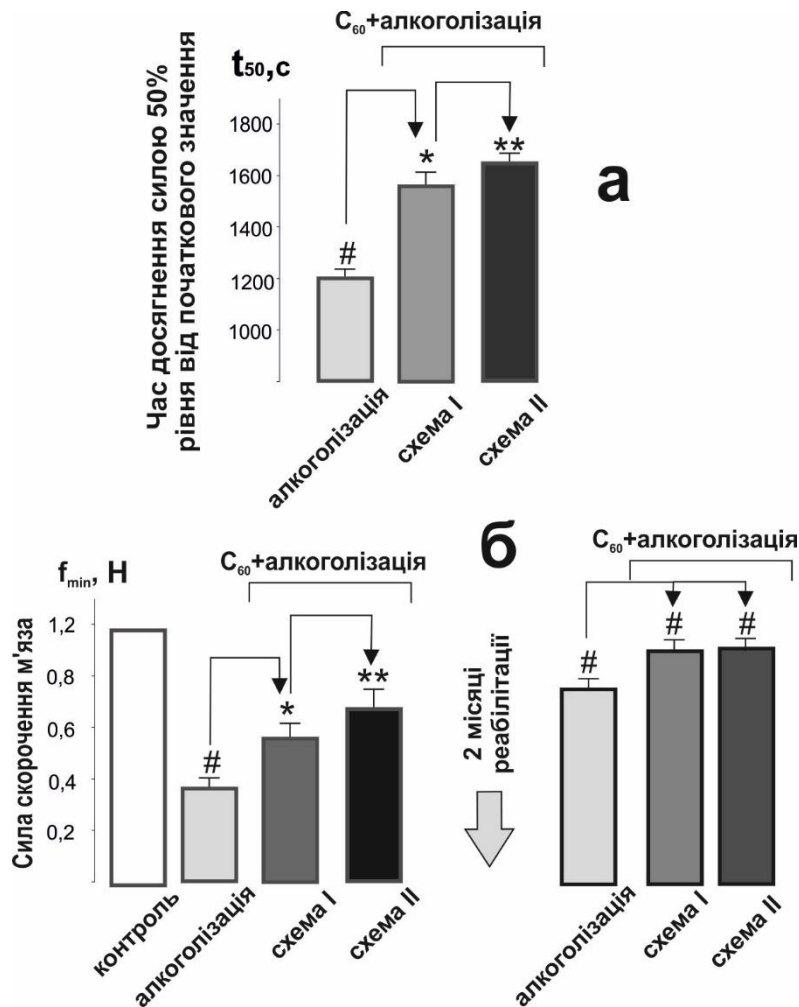


Рис. 3. Біомеханічні маркери скорочення *muscle soleus* щурів при застосуванні 1 Гц стимуляції тривалістю 1800 с після 9-ти місячної хронічної алкоголізації та через 2 місяця після припинення вживання алкоголю: алкоголізація — щури, які одержували алкоголь упродовж експерименту; C_{60} +алкоголізація — щури, які одержували алкоголь і C_{60} ФВР (1 мг/кг) упродовж експерименту за різних схем введення нанополуки: через 1 год після прийому алкоголю (схема I) та разом з алкоголем (схема II); а — час досягнення силою 50% рівня від початкового значення (t_{50}); б — мінімальний рівень силової відповіді м'яза на останньому скороченні стимуляційного тесту (f_{min}); # $p < 0,05$ щодо групи контроль; * $p < 0,05$ щодо групи алкоголізованих тварин; ** $p < 0,05$ щодо групи щурів, які одержували C_{60} ФВР за схемою I.

Fig. 3. Biomechanical markers of *muscle soleus* contraction in rats when applying 1 Hz stimulation lasting 1800 s after 9 months of chronic alcoholization and 2 months after cessation of alcohol consumption: alcoholization — rats that received alcohol during the experiment; C_{60} +alcoholization — rats treated with alcohol and C_{60} FAS (1 mg/kg) during the experiment with different schemes of nanocompound administration: 1 h after ingestion of alcohol (scheme I) and together with alcohol (scheme II); а — the time for the force to reach 50% of the initial level (t_{50}); б — the minimum level of force response of the muscle at the last contraction of the stimulation test (f_{min}); # $p < 0.05$ compared to the control group; * $p < 0.05$ compared to the group of alcoholized animals; ** $p < 0.05$ compared to the group of rats treated with C_{60} FAS according to scheme I.

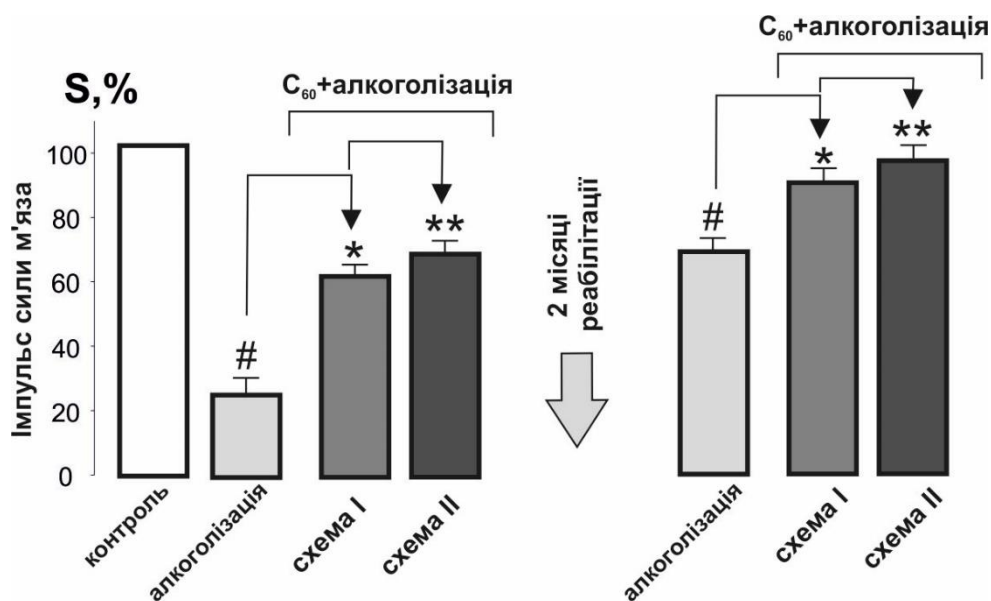


Рис. 4. Імпульс сили м'яза (S) при застосуванні 1 Гц стимуляції тривалістю 1800 с після 9-ти місячної хронічної алкоголізації та через 2 місяця після припинення вживання алкоголю: алкоголізація — щури, які одержували алкоголь упродовж експерименту; C₆₀+алкоголізація — щури, які одержували алкоголь і C₆₀ФВР (1 мг/кг) упродовж експерименту за різних схем введення наносполуки: через 1 год після прийому алкоголю (схема I) та разом з алкоголем (схема II); #p<0,05 щодо групи контроль; *p<0,05 щодо групи алкоголізованих тварин; **p<0,05 щодо групи щурів, які одержували C₆₀ФВР за схемою I.

Fig. 4. Impulse of muscle strength (S) when applying 1 Hz stimulation lasting 1800 s after 9 months of chronic alcoholization and 2 months after cessation of alcohol consumption: alcoholization — rats that received alcohol during the experiment; C₆₀+alcoholization — rats that received alcohol and C₆₀FAS (1 mg/kg) during the experiment with different schemes of nanocompound administration: 1 h after alcohol intake (scheme I) and together with alcohol (scheme II); #p<0.05 compared to the control group; *p<0.05 compared to the group of alcoholized animals; **p<0.05 compared to the group of rats treated with C₆₀FAS according to scheme I.

Відомо, що понад 90% спожитого алкоголю метаболізується окислювальними і неокислювальними шляхами, продукуючи такі хімічно-активні сполуки як ацетальдегід, ацетат, етиловий ефір жирної кислоти тощо [37]. Ці сполуки генерують АФК, які спричинюють підвищення окисного стресу та перекисне окислення ліпідів (ПОЛ), порушуючи таким чином структурну цілісність клітин та функції тканин і органів. На нашу думку, описані вище позитивні ефекти впливу водорозчинних C₆₀ фулеренів пов'язані саме з їх потужними антиоксидантними властивостями [30]: ефективно інактивуючи АФК, вони зменшують кількість пошкоджених міоцитів і, таким чином, знижують ступінь тяжкості алкогольної міопатії. Так, дані [38, 39] вказують на опосередкований вплив деяких потужних антиоксидантів на підвищення показників ПОЛ при пошкодженнях м'язів, викликаних алкоголем. У дослідженні [40] показано, що використання процистеїну підвищує рівень глутатіону у мітохондріях і тим самим послаблює викликаний алкоголем окисний стрес. Очевидно, що необхідне подальше *in vivo* тестування функціональної активності наночастинок C₆₀ фулеренів для відновлення м'язів за хронічного алкоголізму.

ВИСНОВКИ

Таким чином, показано, що рівень розвитку патологічних процесів у скелетному м'язі щурів на тлі їх тривалої хронічної алкоголізації зменшується при застосуванні як потенційного терапевтичного агенту водорозчинного C₆₀ фулерену в дозі 1 мг/кг. Крім того, покращуються процеси відновлення механокінетичних параметрів скорочення *muscle soleus* після припинення алкоголізації. Можна стверджувати, що запропонована схема введення C₆₀ФВР разом з алкоголем є найбільш ефективною і потребує подальших доклінічних випробувань.

КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Authors' ORCID ID

Д. М. Ноздренко <https://orcid.org/0000-0001-7254-1533>
В. Нан <https://orcid.org/0000-0002-5774-2596>
Т. Ю. Матвієнко <https://orcid.org/0000-0002-1069-809X>
К. І. Богуцька <https://orcid.org/0000-0003-0202-8042>
Т. Я. Шевчук <https://orcid.org/0000-0002-0598-8391>
В. П. Берест <https://orcid.org/0000-0001-7779-154X>
Ю. І. Прилуцький <https://orcid.org/0000-0002-9847-4137>

REFERENCES

1. Estruch R, Nicolas JM, Villegas E, Junque A, Urbano-Marquez A. Relationship between ethanol-related diseases and nutritional status in chronically alcoholic men. *Alcohol Alcohol*. 1993;28(5):543–550.
2. Fernandez-Sola J, Preedy VR, Lang CH, Gonzalez-Reimers E, Arno M, Lin JCI, et al. Molecular and cellular events in alcohol-induced muscle disease. *Alcohol Clin Exp Res*. 2007;31(12):1953–62. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00530.x>
3. Hunter RJ, Preedy VR, Neagoe C, Järveläinen HA, Martin CR, Lindros KO, Linke WA. Alcohol affects the skeletal muscle proteins, titin and nebulin in male and female rats. *J Nutr*. 2003;133(4):1154–7. <https://doi.org/10.1093/jn/133.4.1154>
4. Preedy VR, Adachi J, Peters TJ, Worrall S, Parkkila S, Niemela O, et al. Recent advances in the pathology of alcoholic myopathy. *Alcohol Clin Exp Res*. 2001;25(5):54S–59S. <https://doi.org/10.1097/0000374-200105051-00010>
5. Vary TC, Nairn AC, Lang CH. Restoration of protein synthesis in heart and skeletal muscle after withdrawal of alcohol. *Alcohol Clin Exp Res*. 2004;28(4):517–25. <https://doi.org/10.1097/01.alc.0000121653.80502.54>
6. Preedy VR, Adachi J, Ueno Y, Ahmed S, Mantle D, Mullatti N, et al. Alcoholic skeletal muscle myopathy: definitions, features, contribution of neuropathy, impact and diagnosis. *Eur J Neurol*. 2001;8(6):677–87. <https://doi.org/10.1046/j.1468-1331.2001.00303.x>
7. Krusic PJ, Wasserman E, Keizer PN, Morton JR, Preston KF. Radical reactions of C₆₀. *Science*. 1991;254(5035):1183–5. <https://doi.org/10.1126/science.254.5035.1183>
8. Wang IC, Tai LA, Lee DD, Kanakamma PP, Shen CK, Luh TY, et al. C₆₀ and water-soluble fullerene derivatives as antioxidants against radical-initiated lipid peroxidation. *J Med Chem*. 1999; 42(22):4614–20. <https://doi.org/10.1021/jm990144s>
9. 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. <https://doi.org/10.1186/s12951-014-0027-7>
10. Liu Q, Cui Q, Li XJ, Jin L. The applications of buckminsterfullerene C₆₀ and derivatives in orthopaedic research. *Connect Tissue Res*. 2014;55(2):71–9. <https://doi.org/10.3109/03008207.2013.877894>
11. Nozdrenko DM, Zavodovskiy DO, Matvienko TYu, Zay SYu, Bogutska KI, Prylutsky YuI, et al. C₆₀ fullerene as promising therapeutic agent for the prevention and correction of functioning skeletal muscle at ischemic injury. *Nanoscale Res Lett*. 2017;12(1):115. <https://doi.org/10.1186/s11671-017-1876-4>
12. Nozdrenko D, Matvienko T, Vygovska O, Bogutska K, Motuziuk O, Nurishchenko N, et al. Protective Effect of Water-Soluble C₆₀ Fullerene Nanoparticles on the Ischemia-Reperfusion Injury of the Muscle Soleus in Rats. *Int J Mol Sci*. 2021;22(13):6812. <https://doi.org/10.3390/ijms22136812>

13. Prylutsky YuI, Vereshchaka IV, Maznychenko AV, Bulgakova NV, Gonchar OO, Kyzyma OA, et al. C₆₀ fullerene as promising therapeutic agent for correcting and preventing skeletal muscle fatigue. J Nanobiotechnology. 2017;15(1):8. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0246-1>
14. Vereshchaka IV, Bulgakova NV, Maznychenko AV, Gonchar OO, Prylutsky YuI, Ritter U, et al. C₆₀ fullerenes diminish the muscle fatigue in rats comparable to N-acetylcysteine or β-alanine. Front Physiol. 2018;9:517. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00517>
15. Nozdrenko D, Prylutska S, Bogutska K, Nurishchenko N, Abramchuk O, Motuziuk O, et al. Effect of C₆₀ Fullerene on Recovery of Muscle Soleus in Rats after Atrophy Induced by Achillotomomy. Life (Basel). 2022;12(3):332. <https://doi.org/10.3390/life12030332>
16. Nozdrenko D, Matvienko T, Vygovska O, Soroca V, Bogutska K, Zholos A, et al. Post-traumatic recovery of muscle soleus in rats is improved via synergistic effect of C₆₀ fullerene and TRPM8 agonist menthol. Applied Nanoscience. 2022;12(3):467–78. <https://doi.org/10.1007/s13204-021-01703-z>
17. Ritter U, Prylutsky YuI, Evstigneev MP, Davidenko NA, Cherepanov VV, Senenko AI, et al. Structural features of highly stable reproducible C₆₀ fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques. Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct. 2015;23(6):530–34. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2013.870900>
18. Foley S, Crowley C, Smaih 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. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00445-X](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00445-X)
19. Grebinyk A, Prylutska S, Buchelnikov A, Tverdokhle N, Grebinyk S, Evstigneev M, et al. C₆₀ fullerene as effective nanoplatfrom of alkaloid berberine delivery into leukemic cells. Pharmaceutics. 2019;11:586. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11110586>
20. Prylutska SV, Grynyuk II, Grebinyk SM, Matyshevska OP, Prylutsky YuI, Ritter U, et al. Comparative study of biological action of fullerenes C₆₀ and carbon nanotubes in thymus cells. Materialwissenschaft Werkstofftech. 2009; 40(4): 238–41. <https://doi.org/10.1002/mawe.200900433>
21. Tolkachov M, Sokolova V, Loza K, Korolovych V, Prylutsky Y, Epple M, et al. Study of biocompatibility effect of nanocarbon particles on various cell types *in vitro*. Materialwissenschaft Werkstofftech. 2016;47(2–3):216–21. <https://doi.org/10.1002/mawe.201600486>
22. Prylutska SV, Grebinyk AG, Lynchak OV, Byelinska IV, Cherepanov VV, Tauscher E, et al. *In vitro* and *in vivo* toxicity of pristine C₆₀ fullerene aqueous colloid solution. Fullerenes, Nanotubes Carbon Nanostruct. 2019;27:715–28. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2019.1634055>
23. Ji ZQ, Sun H, Wang H, Xie Q, Liu Y, Wang Z. Biodistribution and tumor uptake of C₆₀(OH)_x in mice. J Nanopart Res. 2006;8:53–63. <https://doi.org/10.1007/s11051-005-9001-5>
24. Nikolic N, Vranjes-Ethuric S, Jankovic D, Ethokic D, Mirkovic M, Bibic N, Trajkovic V. Preparation and biodistribution of radiolabeled fullerene C₆₀ nanocrystals. Nanotechnol. 2009;20:385102. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/38/385102>
25. Prylutsky Yu, Nozdrenko D, Gonchar O, Prylutska S, Bogutska K, Tauscher E, et al. The residual effect of C₆₀ fullerene on biomechanical and biochemical markers of the *muscle soleus* fatigue development in rats. J Nanomater. 2023;2023:2237574. <https://doi.org/10.1155/2023/2237574>
26. Song K, Coleman RA, Zhu X, Alber C, Ballas ZK, Waldschmidt TJ, Cook RT. Chronic ethanol consumption by mice results in activated splenic T cells. J Leukoc Biol. 2002;72(6):1109–16.
27. D'Souza El-Guindy NB, Kovacs EJ, De Witte P, Spies C, Littleton JM, de Villiers WJS, et al. Laboratory models available to study alcohol-induced organ damage and immune variations: choosing the appropriate model. Alcohol Clin Exp Res. 2010;34(9):1489–511. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2010.01234.x>
28. Collins MA, Neafsey EJ. Alcohol, Excitotoxicity and Adult Brain Damage: an Experimentally Unproven Chain-of-Events. Front Mol Neurosci. 2016;9:8. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2016.00008>
29. Motuziuk O, Nozdrenko D, Prylutska S, Vareniuk I, Bogutska K, Braniuk S, et al. The effect of C₆₀ fullerene on the mechanokinetics of muscle gastrocnemius contraction in chronically alcoholized rats. Heliyon. 2023;9(8):e18745. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18745>
30. Gharbi N, Pressac M, Hadchouel M, Szwarc H, Wilson SR, Moussa F. [60]fullerene is a powerful antioxidant *in vivo* with no acute or subacute toxicity. Nano Lett. 2005;5:2578–85. <https://doi.org/10.1021/nl051866b>
31. Nozdrenko DN, Berehovi SM, Nikitina NS, Stepanova LI, Beregova TV, Ostapchenko LI. The influence of complex drug cocarnit on the nerve conduction velocity in nerve tibialis of rats with diabetic polyneuropathy. Biomedical Research. 2018;29(19):3629–34. <https://doi.org/10.4066/BIOMEDICALRESEACH.29-18-1055>
32. Jung MK, Callaci JJ, Lauing KL, Otis JS, Radek KA, Jones MK, Kovacs EJ. Alcohol exposure and mechanisms of tissue injury and repair. Alcohol Clinical Exp Res. 2011;35(3):392–9. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2010.01356.x>

33. Monte SM, Kril JJ. Human alcohol-related neuropathology. *Acta Neuropathol.* 2014;127(1):71–90. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1233-3>
34. Melnyk MI, Ivanova IV, Dryn DO, Prylutskyi YuI, Hurmach VV, Platonov M, et al. C₆₀ fullerenes selectively inhibit BK_{Ca} but not K_v channels in pulmonary artery smooth muscle cells. *Nanomedicine NBM.* 2019;19:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.03.018>
35. Prilutski YuI, Durov SS, Yashchuk VN, Ogul'chansky TYu, Pogorelov VE, Astashkin YuA, et al. Theoretical predictions and experimental studies of self-organization C₆₀ nanoparticles in water solution and on the support. *Eur Phys J D.* 1999;9(1–4):341–3. <https://doi.org/10.1007/s100530050452>
36. Kostyukov AI, Tomiak T. The force generation in a two-joint arm model: Analysis of the joint torques in the working space. *Front Neurobot.* 2018;12:77. <https://doi.org/10.3389/fnbot.2018.00077>
37. Schukit MA. Ethanol and methanol. In: Goodman & Gillman's Pharmacological Basis of Therapeutics. 12th ed. Brunton LL ed. New Delhi: McGraw Hill. 2011:629–47. Available from: https://books.google.com.ua/books?id=e_yAOpyaowC
38. Preedy VR, Patel VB, Reilly ME, Richardson PJ, Falkous G, Mantle D. Oxidants, antioxidants and alcohol: implications for skeletal and cardiac muscle. *Front Biosci.* 1999;4(5):58–66. <https://doi.org/10.2741/A480>
39. Preedy VR, Adachi J, Asano M, Koll M, Mantle D, Niemela O, et al. Free radicals in alcoholic myopathy: indices of damage and preventive studies. *Free Radical Biol Med.* 2002;32(8):683–7. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(01\)00794-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00794-8)
40. Otis JS, Guidot DM. Procysteine increases alcohol-depleted glutathione stores in rat plantaris following a period of abstinence. *Alcohol Alcoholism.* 2010;45(6):495–500. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agg066>

C₆₀ FULLERENE IMPROVES THE RECOVERY OF BIOMECHANICAL PARAMETERS OF MUSCLE SOLEUS CONTRACTION IN RATS AFTER CHRONIC ALCOHOLIZATION

D. M. Nozdrenko¹ , W. Nan² , T. Yu. Matvienko¹ , K. I. Bogutska¹ ,
T. Ya. Shevchuk² , V. P. Berest³ , Yu. I. Prylutskyi^{1*} 

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv, 64/13 Volodymyrska Str., Kyiv, 01601, Ukraine

*e-mail: prylut@ukr.net

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

³V. N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

Submitted January 11, 2024; Revised May 14, 2024;

Accepted May 17, 2024

Background: Recovery of biomechanical parameters of contraction of muscles damaged by alcoholic myopathy is a rather complex and long-term process. Therefore, the search for effective therapeutic means for its acceleration is an extremely urgent task in biomedicine.

Aim of work: The effect of C₆₀ fullerene aqueous solution (C₆₀FAS) on the dynamics of skeletal muscle contraction in rats after 9 months of chronic alcoholization and 2 months after cessation of alcohol consumption was investigated.

Materials and Methods: When analyzing the miotic response using tensometry, such biomechanical parameters as the time of reduction of the muscle force response by 50% from the initial value, the values of the contraction force and the impulse of the muscle force were evaluated.

Results: It has been shown that animals orally administered alcohol and C₆₀FAS (daily dose of 1 mg/kg) together (scheme II) during the experiment showed an increase in muscle force response by 40–45±2% compared with the group of alcoholized animals and by 12–15±1% compared with the group of rats administered C₆₀FAS 1 h after alcohol ingestion (scheme I). The positive effect of C₆₀FAS administration according to scheme II and scheme I was 34±2% and 10±1%, respectively, compared with the group of alcoholized animals in the case of recording the time of reduction of the muscle force response by 50% of the initial value. After 2 months of rehabilitation, the level of minimum muscle contraction force when using C₆₀FAS in both schemes differed by about 15±1% compared to the group of alcoholized animals, and the time of reduction of the force response by 50% was not significantly recorded. Finally, the use of C₆₀FAS revealed a significant increase in the magnitude of the muscle force impulse: up to 86±4% (scheme I) and almost to control values — 94±2% (scheme II).

Conclusions: The obtained results indicate the prospects of using C₆₀FAS to restore the biomechanical parameters of skeletal muscle contraction during long-term development of alcoholic myopathy.

KEY WORDS: C₆₀ fullerene; *muscle soleus*; alcoholic myopathy; recovery; biomechanical parameters of skeletal muscle contraction.