

рская, О. Боднар, А. Станиславчук, В. Грубинко // Actual problems in modern phycology, Conferință Internațională. Y International Conference «Actual problems in modern phycology». – Chișinău: CEP USM, 2014. – P. 153–158.

24. Gennity, J. M. The binding of selenium to the lipids of two unicellular marine algae [Text] / J. M. Gennity, N. R. Bottino, R. A. Zingaro, A. E. Wheeler, K. J. Irgolic // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1984. – Vol. 118, Issue 1. – P. 176–182. doi: 10.1016/0006-291x(84)91083-0

25. Selenium [Text] // Alternative Medicine Review. – 2003. – Vol. 8, Issue 1. – P. 63–71.

26. Recommended Dietary Allowances [Text]. – Washington, 1989. doi: 10.17226/1349

Дата надходження рукопису 23.08.2017

Лукашів Ольга Ярославівна, аспірант, кафедра загальної біології та методики навчання природничих дисциплін, Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, Україна, 46027
E-mail: lukashiv5@gmail.com

Грубінко Василь Васильович, доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра загальної біології та методики навчання природничих дисциплін. Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, вул. М. Кривоноса, 2, м. Тернопіль, Україна, 46027

УДК: 577.3

DOI: 10.15587/2519-8025.2017.113599

ЗМІНА ДИНАМІЧНОЇ ВІДПОВІДІ АКТИВНОГО М'ЯЗУ *MUSCLE SOLEUS* ЗА УМОВ ЙОГО ІШЕМІЗАЦІЇ У АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕНІ C_{60} ФУЛЕРЕНУ

© В. Білобров, Д. Вулицька, О. Ноздренко, С. Зай, О. Мотузюк

*Досліджено ефекти дії біосумісних наноструктур C_{60} на механізми скорочення м'язу *muscle soleus* у алкохолізованих щурів за їх ішемічного ушкодження з метою оцінки терапевтичного ефекту фуллерену C_{60} на часовий розвиток загального патогенезу в ішемічно пошкодженій м'язовій системі.*

*Отримані дані свідчать про виражений захисний ефект C_{60} FAS на динаміку скорочення *muscle soleus* у алкохолізованих щурів при її ішемічному ушкодженні*

Ключові слова: фуллерени, ішемія, м'язи, наноструктури, скорочення, профілактика, корекція, радикал, алкохолізація, *muscle soleus*

1. Вступ

Серед патологій, які розвиваються у скелетних м'язах за різних травм, ішемічні порушення становлять понад 35 %. Вони є однією з основних причин післяопераційних ускладнень та можуть після гострої артеріальної оклюзії призвести до ампутації кінцівок і навіть смертності [1, 2].

У людей, які зловживають алкоголем, досить часто діагностують так званий синдром позиційної ішемії, спричинений стисненням однієї з кінцівок вагою власного тіла внаслідок тривалого перебування у вимушеній позиції [3, 4]. Актуальною проблемою наразі залишається відсутність ефективної терапії ішемічних ушкоджень при дії етанолу [5]. Сьогодні значну зацікавленість викликає новий клас вуглецевих наноструктур – C_{60} -фуллерени, якому притаманні унікальні фізико-хімічні властивості та біологічна активність. 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, а завдяки наявності кон'югованої системи подвійних міжвуглецевих зв'язків – взаємодіяти з вільними радикалами та нейтралізувати їх [6].

2. Літературний огляд

Фуллерени виступають потужними поглиначами вільних радикалів, утворення яких відбувається при ішемічній травмі окремих органів. Дослідження токсичності C_{60} фуллеренів показали, що за низьких концентрацій вони не виявляють токсичних ефектів щодо нормальних клітин, є неімуногенними та неалергенними, здатні регулювати вільнорадикальні процеси у клітинах і тканинах організму, зокрема нейтралізувати надлишок вільних радикалів [7, 8].

При ішемічному пошкодженні, яке підсилене зловживанням алкоголем спостерігається надмірна активація у м'язовій тканині процесів вільнорадикального перекисного окиснення та загальне зменшення роботи антиоксидантних систем організму. Враховуючи вищесказане, вивчення ефективності застосування фуллеренів в якості протектора вільних радикалів на динамічні характеристики ішемізованих скелетних м'язів є важливим питанням фізіології на сучасному етапі досліджень паталогічних станів пов'язаних з дисфункціями опорно-рухового апарату людини.

3. Мета та задачі дослідження

Мета дослідження – дослідити вплив та динамічний ефект фулерену C₆₀ для профілактики і корекції дієздатності м'язу при ішемічному скороченні у алкоголізованих щурів.

Для досягнення мети були поставлені наступні задачі:

1. Індукувати експериментальну алкоголізацію у щурів.
2. Викликати ішемію після початку хронічної алкоголізації.
3. Провести хронічний та гострий експеримент для дослідження ефекту C₆₀.
4. Показати терапевтичний ефект C₆₀.

4. Матеріали та методи

Експерименти проводилися на дорослих щурах лінії Вістар, середньою масою 150г, яких утримували в умовах стаціонарного віварію.

Експериментальні групи:

- інтактні тварини;
- алкоголізовані тварини з експериментально-індукованою ішемією тривалістю 1 год;
- алкоголізовані з експериментально-індукованою ішемією тривалістю 1 год та внутрішньочеревним введенням водного колоїдного розчину C₆₀ фулеренів упродовж 5 днів;
- алкоголізовані тварини з експериментально-індукованою ішемією тривалістю 2 год;
- алкоголізовані з експериментально-індукованою ішемією тривалістю 2 год та внутрішньочеревним введенням водного колоїдного розчину C₆₀ фулеренів упродовж 5 днів.

Оперативні втручання та забій тварин виконували відповідно до вимог “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, 1985) і норм біомедицинської етики, відповідно до законів України №: 3446-IV 21.02.2006 р., м. Київ, “Про захист тварин від жорстокого поводження” з проведенням медико-біологічних досліджень.

Дослідження було поділено на дві фази: хронічний і гострий експеримент. Для індукції експериментальної хронічної алкоголізації щурам протягом 30 календарних днів за допомогою металевого катетеру вводили 40 % спирт у дозі 2 мл/100 г. Водний колоїдний розчин C₆₀ фулеренів (концентрація 0,15 мг/мл) у дозі 1 мг/кг вводили внутрішньочеревно протягом 5 останніх днів алкоголізації.

Експериментальну індукцію ішемії здійснювали, через 30 днів після початку хронічної алкоголізації, шляхом перетискування джгутом зовнішньої клубової артерії (arteria iliaca externa), стегнової артерії (arteria femoralis) та її каудальних терміналей на рівні гомілки.

Для реєстрації зміни сили ізометричного скорочення muscle soleus використовували тензومترичну установку. Дослідження динамічних властивостей м'язового скорочення проводили в умовах активації м'язу з використанням методу модульованої стиму-

ляції. Стимуляцію здійснювали електричними імпульсами прямокутної форми із такими характеристиками: частота – 30 Гц, тривалість – 0,2 мс, тривалість стимуляційного пробігу – 3000 мс, час релаксації між стимуляційними пробігами – 3 хвтривалістю.

Одержані експериментальні криві відображають зміну у відсотках від контрольних значень непошкодженого м'язу, які приймали за 100 %.

5. Результати дослідження та їх обговорення

Для зручності опису отриманих результатів нами було проведено розподіл динамічної відповіді активного м'язу на окремі часові ділянки, які відповідали різним функціональним та часовим станам процесу скорочення. Силова відповідь м'язу була розділена на три функціональні ділянки.

– F1 – початок силової відповіді м'язу, яка співпадає з зміною частоти стимулюючого сигналу.

– F2 – відповідає виходу силової продуктивності м'язу на стаціонарний рівень, без помітного тренду (зсуву) у той чи інший бік.

– F3 – кінцева фаза активності м'язу.

На рис. 1 представлені результати тетанічного скорочення muscle soleus у групах MS_(AI-1) та MS_(FAL-1). Слід відмітити, що спостерігається значне збільшення тривалості фаз F1 і F3, та зменшення фази F2 у двох групах порівняно з контрольною, у якій на фазу F1 припадає 28,8 %, фазу F2 – 66,1 %, а фазу F3 – 5,1 % від сумарного часу тетанічного скорочення (рис. 2).

У групі MS_(AI-1) силова відповідь м'язу зберігається на стаціонарному рівні протягом 985±43,53 мс (p≤0,01) тетанічного скорочення, що становить 49,67±2,19 % від контрольного значення (Рис.1). Фази F1 і F3 становлять 1746±38,06 мс (p≤0,01) та 269±17,62 мс (p≤0,01), тобто зростають порівняно з нативним м'язом на 50,52±7,75 % та 43,12±2,64 % відповідно. Таким чином у групі MS_(AI-1) на фазу F1 припадає 58,2 % сумарного часу скорочення, а на фази F2 та F3 – 32,8 % та 9 % відповідно (рис. 2).

Максимальний середній час утримання сили ішемізованим muscle soleus у алкоголізованих щурів за умови введення розчину фулеренів, на ділянці F2 становив 1130,9,08±86,38 мс, що становить 57,01±7,64 % від контрольного значення, тобто порівняно з групою MS_(AI-1) зростає на 7,23 % (p≤0,01). Фаза наростання силової відповіді триває 1640,2±81,69 мс (p≤0,01), і порівняно з контрольною групою зростає на 47,32±4,98 %, а кінцева фаза скорочення – на 33,3±6,61 %, тобто триває 229,5±15,17 мс (p≤0,01). Отже, у групі MS_(FAL-1) на фазу F1 припадає 54,7 %, фазу F2 – 37,7 %, а фазу F3 – 7,7 % від сумарного часу тетанічного скорочення (рис. 2).

Зі збільшенням тривалості ішемії до 2 год спостерігаємо ще більше зростання часу, необхідного для виходу силової відповіді на стаціонарний рівень – F1, та зменшення тривалості фази утримання сили на високому рівні без помітного зсуву у той чи інший бік – F2 (рис. 3).

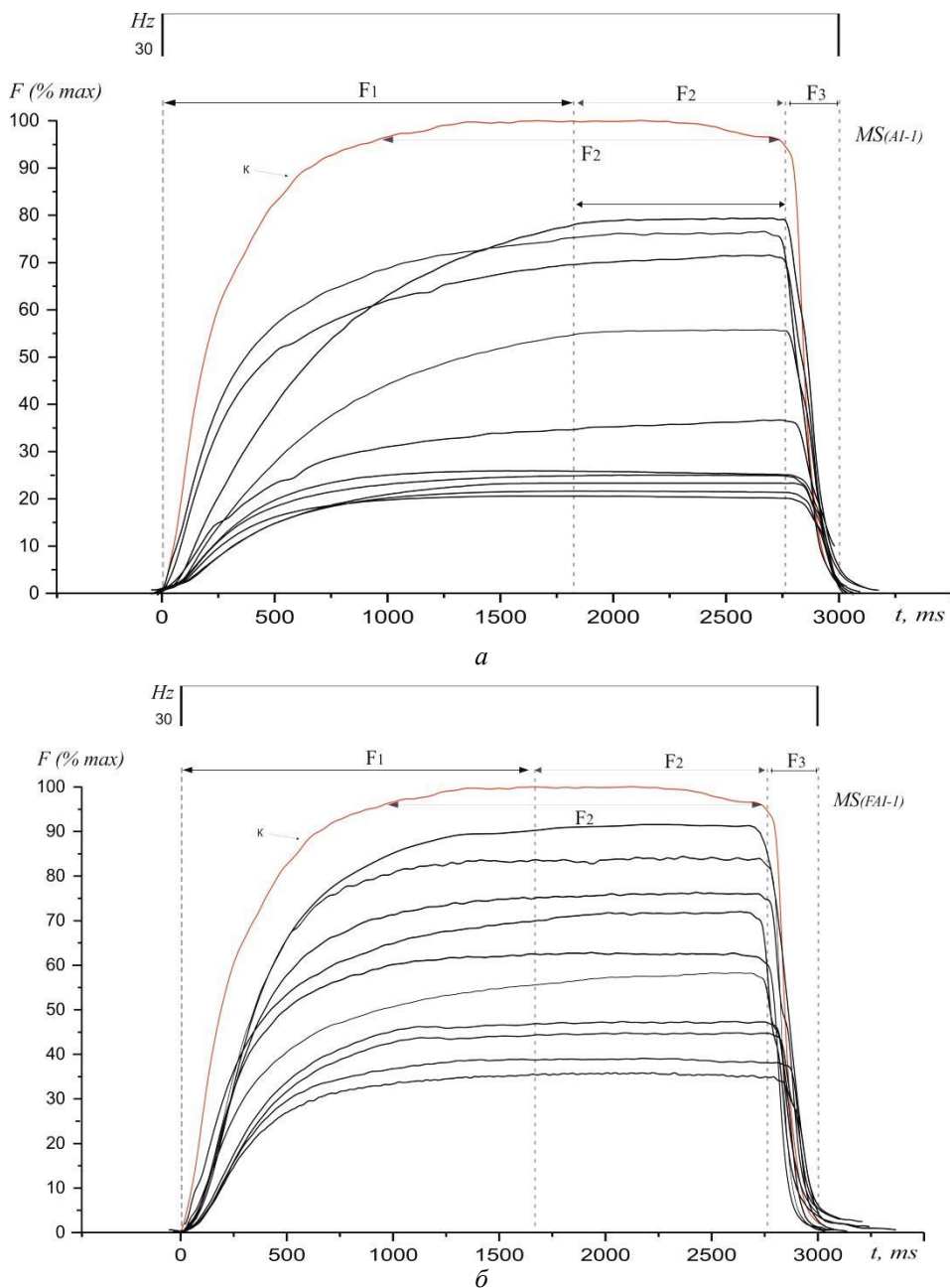


Рис.1. Зміна силової відповіді *muscle soleus* у групах $MS_{(AI-1)}$ та $MS_{(FAI-1)}$. $F_{(% \max)}$ – сила скорочення, Hz – частота стимуляції, t – час, F1-F3 – контрактильні фази: a – група $MS_{(AI-1)}$; b – група $MS_{(FAI-1)}$; червоним кольором показано перше тетанічне скорочення у контрольній групі (100%)

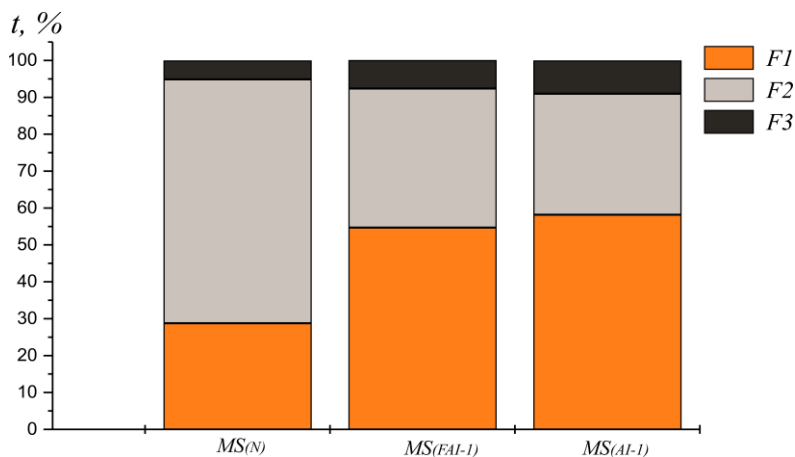


Рис. 2. Тривалість контрактильних фаз (F1-F3) тетанічного скорочення *muscle soleus* у групах $MS_{(AI-1)}$ та $MS_{(FAI-1)}$. t – час (3000 мс=100%)

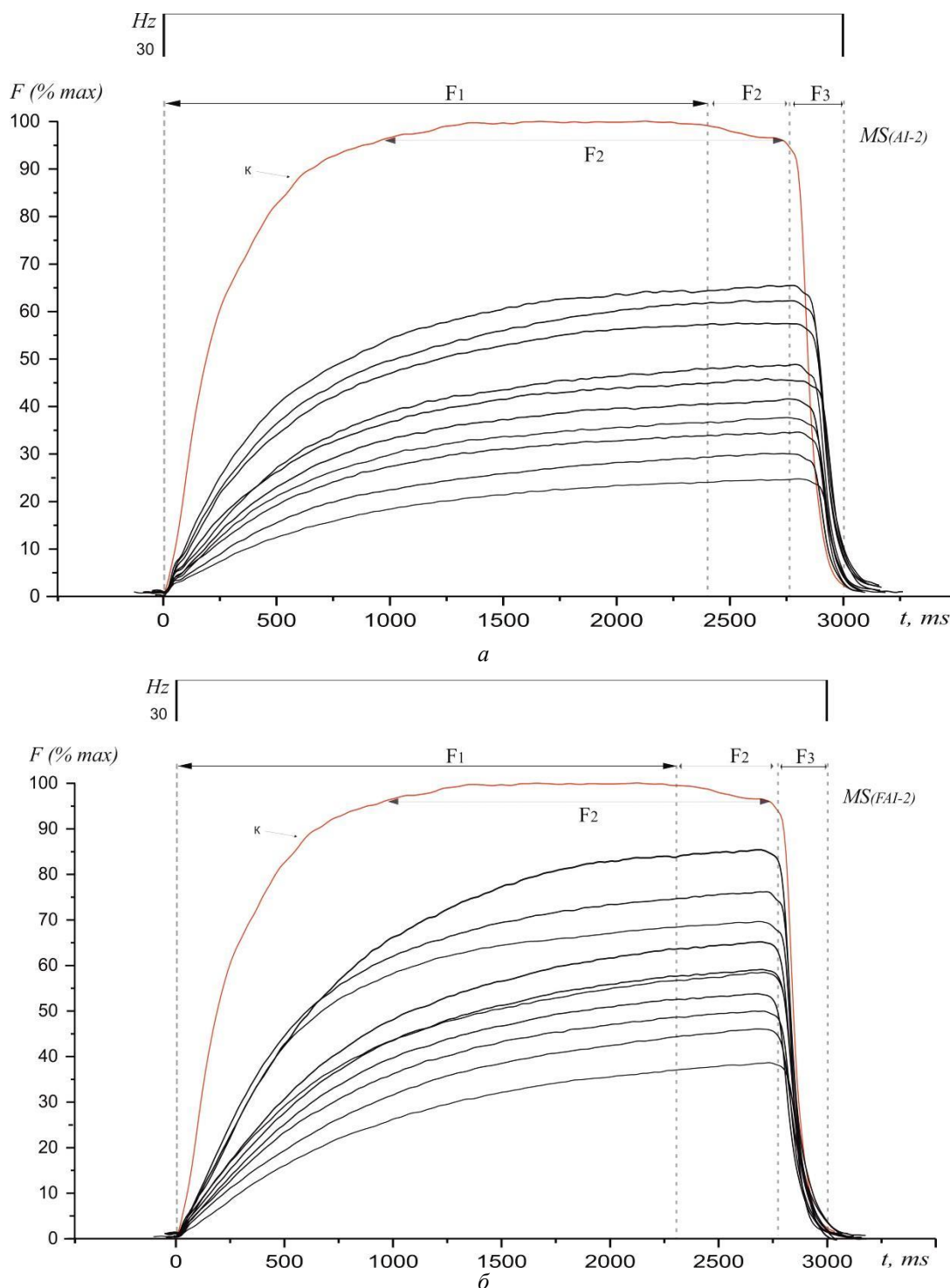


Рис. 3. Зміна силової відповіді *muscle soleus* у групах $MS_{(AI-2)}$ та $MS_{(FAI-2)}$. $F_{(\% \max)}$ – сила скорочення, Hz – частота стимуляції, t – час, F1-F3 – контрактильні фази: а – група $MS_{(AI-2)}$; б – група $MS_{(FAI-2)}$; червоним кольором показано перше тетанічне скорочення у контрольній групі (100 %)

У групі $MS_{(AI-2)}$ фаза F1, яка становить 79,06 % (рис. 4) від сумарного часу тетанічного скорочення, триває $2372 \pm 19,89$ мс і, порівняно з контрольною групою, зростає на $63,58 \pm 1,84$ % ($p \leq 0,01$) (рис. 3). Силу відповідь на стаціонарному рівні *muscle soleus* у групі $MS_{(AI-2)}$ підтримує протягом $352 \pm 17,19$ мс, що становить лише $17,75 \pm 4,88$ % від контроль-

ного значення ($p \leq 0,01$) (рис. 3). Фаза F2 складає 11,73 % від сумарного часу тетанічного скорочення (рис. 4).

Кінцева фаза активності м'язу складає 9,2 % від сумарного часу скорочення, і триває $276 \pm 18,97$ мс, тобто, порівнюючи з контролем, зростає на 44,57 % ($p \leq 0,01$).

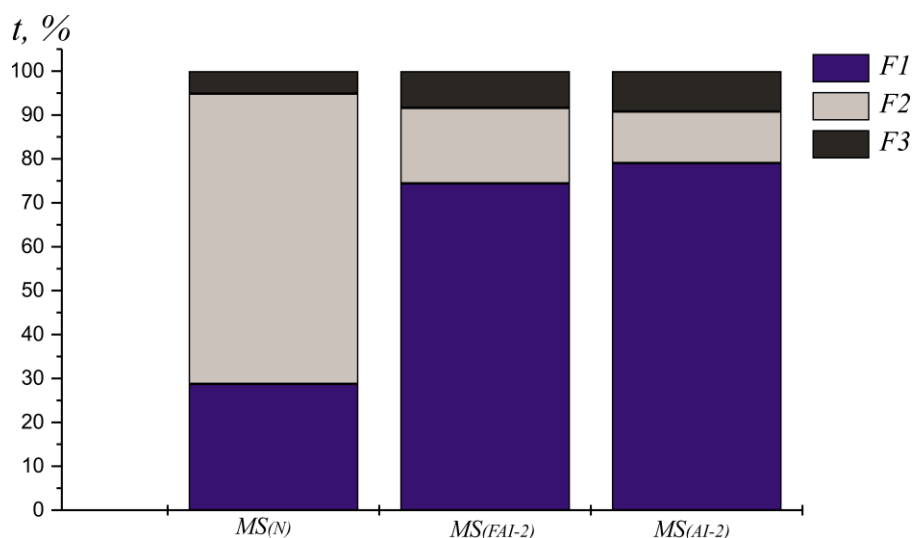


Рис. 4. Тривалість контрактильних фаз (F1-F3) тетанічного скорочення *muscle soleus* у групах MS_(AI-2) та MS_(FAI-2). t – час (3000 мс=100 %)

Досягнення максимальної тетанічної сили *muscle soleus* у групі MS_(FAI-2) відбувалося протягом 2233,5±35,28 мс після початку стимуляції (ділянка F1) зі стабільним середнім утриманням максимальної сили впродовж 516±31,52 мс (ділянка F2) та подальшим її зниженням до вихідного рівня (ділянка F3) (рис. 3). Тривалість фази F3 становить 250,5±16,24 мс. Тривалість фази F2, порівняно з контролем, становить 26,02±6,11 % (p≤0,01). Порівнюючи з групою MS_(AI-2), слід відмітити, що тривалість F2 зростає у MS_(FAI-2) на 8,27 % (p≤0,01). Таким чином, на контрактильну ділянку F1 припадає 74,45 % сумарного часу скорочення, а на фази F2 та F3 – 17,2 % та 8,35 % відповідно (рис. 4)

6. Висновки

Наведені результати вказують на складність побудови досконалої моделі захисного впливу фулеренів на скорочення ішемізованого м'язу а саме для опису власне динамічних процесів, які перекривають весь спектр рухів пошкодженого м'язу. Біомеханічний аналіз захисної дії фулеренів на ішемічно пошкоджені м'язові волокна повинен включати детальний розрахунок кінематичних та динамічних характеристик руху [9, 10].

1. Отримані дані свідчать про виражений захисний ефект C₆₀ на динаміку скорочення *muscle*

soleus при її ішемічному ушкодженні. Це прямо вказує на те, що C₆₀ можуть розглядатись як перспективні лікарські засоби для профілактики і корекції дієздатності ішемічно пошкодженого м'язу. Отже, наше дослідження показало, що використання водного розчину фулеренів у дозі 1 мг/кг в якості протектора вільних радикалів на динамічні характеристики ішемізованих скелетних м'язів є ефективним на початкових стадіях ушкоджень, тобто при ішемії тривалістю 1 година. При збільшенні тривалості ішемії захисний вплив розчину знижується, що може бути пов'язано з необоротними ушкодженнями в скелетних м'язах спричиненими синергічним впливом двох патологій [11].

2. Отримані дані показують, що розвиток медичних нанотехнологій із застосуванням C₆₀, з урахуванням виражених у них антиоксидантних властивостей [12], і відсутності даних про гострі і хронічні інтоксикації ними - усе це відкриває нові можливості в лікуванні і профілактиці ішемічних патологій.

3. Захисна дія фуллеренів у вигляді ін'єкції їх колоїдного розчину, є перспективним для їх застосування для терапії ішемічних ушкоджень скелетних м'язів. Можна припустити, що розробка цього напрямку може допомогти в терапії і інших патологічних станів м'язової системи, в основі розвідку яких лежить патологічна дія вільнорадикальних процесів.

Література

1. Hirsch, A. Fullerenes: Chemistry and Reactions [Text] / A. Hirsch, M. Brettreich. – New York: John Wiley & Sons, 2005. – 440 p. doi: 10.1002/3527603492
2. Johnston, H. J. The Biological Mechanisms and Physicochemical Characteristics Responsible for Driving Fullerene Toxicity [Text] / H. J. Johnston, G. R. Hutchison, F. M. Christensen, K. Aschberger, V. Stone // Toxicological Sciences. – 2009. – Vol. 114, Issue 2. – P. 162–182. doi: 10.1093/toxsci/kfp265
3. Krusic, P. J. Radical Reactions of C₆₀ [Text] / P. J. Krusic, E. Wasserman, P. N. Keizer, J. R. Morton, K. F. Preston // Science. – 1991. – Vol. 254, Issue 5035. – P. 1183–1185. doi: 10.1126/science.254.5035.1183
4. Scharff, P. Effect of X-Ray and UV irradiation of the C₆₀ fullerene aqueous solution on biological samples [Text] / P. Scharff, L. Carta-Abelmann, C. Siegmund, O. P. Matyshevska, S. V. Prylutska, T. V. Koval et. al. // Carbon. – 2004. – Vol. 42, Issue 5-6. – P. 1199–1201. doi: 10.1016/j.carbon.2003.12.055
5. Gharbi, N. C₆₀ fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity [Text] / N. Gharbi, M. Pressac, M. Hadchouel, H. Szwarc, S. R. Wilson, F. Moussa // Nano Letters. – 2005. – Vol. 5, Issue 12. – P. 2578–2585. doi: 10.1021/nl051866b

6. Prylutska, S. V. Anti-oxidant Properties of C₆₀ Fullerenes in vitro [Text] / S. V. Prylutska, I. I. Grynyuk, O. P. Matyshevska, Y. I. Prylutskyy, U. Ritter, P. Scharff // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. – 2008. – Vol. 16, Issue 5-6. – P. 698–705. doi: 10.1080/15363830802317148

7. Prilutski, Y. Study of Structure of Colloidal Particles of Fullerenes in Water Solution [Text] / Y. Prilutski, S. Durov, L. Bulavin, V. Pogorelov, Y. Astashkin, V. Yashchuk // Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. – 1998. – Vol. 324, Issue 1. – P. 65–70. doi: 10.1080/10587259808047135

8. Prylutskyy, Y. I. Structure and thermophysical properties of fullerene C₆₀ aqueous solutions [Text] / Y. I. Prylutskyy, S. S. Durov, L. A. Bulavin, I. I. Adamenko, K. O. Moroz, I. I. Geru et. al. // International Journal of Thermophysics. – 2001. – Vol. 22, Issue 3. – P. 943–956. doi: 10.1023/a:1010791402990

9. Lai, Y.-L. Fullerene derivative attenuates ischemia-reperfusion-induced lung injury [Text] / Y.-L. Lai, P. Murugan, K. C. Hwang // Life Sciences. – 2003. – Vol. 72, Issue 11. – P. 1271–1278. doi: 10.1016/s0024-3205(02)02374-3

10. Lai, H.-S. Free Radical Scavenging Activity of Fullerenol on the Ischemia-reperfusion Intestine in Dogs [Text] / H.-S. Lai, W.-J. Chen, L.-Y. Chiang // World Journal of Surgery. – 2000. – Vol. 24, Issue 4. – P. 450–454. doi: 10.1007/s002689910071

11. Yang, D.-Y. Systemic administration of a water-soluble hexasulfonated C₆₀ (FC4S) reduces cerebral ischemia-induced infarct volume in gerbils [Text] / D.-Y. Yang, M.-F. Wang, I.-L. Chen, Y.-C. Chan, M.-S. Lee, F.-C. Cheng // Neuroscience Letters. – 2001. – Vol. 311, Issue 2. – P. 121–124. doi: 10.1016/s0304-3940(01)02153-x

12. Nozdrenko, D. M. C₆₀ Fullerene as Promising Therapeutic Agent for the Prevention and Correction of Skeletal Muscle Functioning at Ischemic Injury [Text] / D. M. Nozdrenko, D. O. Zavodovskyi, T. Y. Matvienko, S. Y. Zay, K. I. Bogutska, Y. I. Prylutskyy et. al. // Nanoscale Research Letters. – 2017. – Vol. 12, Issue 1. – P. 115–120. doi: 10.1186/s11671-017-1876-4

*Рекомендовано до публікації д-р біол. наук Мірошниченком М. С.
Дата надходження рукопису 23.08.2017*

Білобров Владислав Юрійович, ННЦ «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 60, м. Київ, Україна, 01033
E-mail: cyper29695@gmail.com

Вулицька Дарія Олександрівна, ННЦ «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 60, м. Київ, Україна, 01033
E-mail: cyper29695@gmail.com

Ноздренко Олександр Дмитрович, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, бул. Тараса Шевченка, 13, м. Київ, Україна, 01601

Зай Світлана Юрійвна, аспірант, кафедра фізіології людини та тварин, Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки, пр. Волі, 13, м. Луцьк, Україна, 43025

Мотузюк Олександр Петрович, кандидат біологічних наук, кафедра фізіології людини та тварин, Східноєвропейський національний університет ім. Лесі Українки, пр. Волі, 13, м. Луцьк, Україна, 43025