

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2025-53-06>

УДК 57.013:57.04:57.05:577.353:616.7:616.8

C₆₀ ФУЛЕРЕН СПРИЯЄ ВІДНОВЛЕННЮ СКОРОТЛИВОЇ АКТИВНОСТІ MUSCULUS GASTROCNEMIUS ЩУРІВ ПІСЛЯ НЕЙРОГЕННОЇ АТРОФІЇ

**Д. М. Ноздренко¹, М. С. Ангелов¹, І. М. Варенюк¹,
М. Е. Держинський¹, К. І. Богуцька¹, В. С. Теплюк², І. М. Неділько³,
В. П. Берест⁴, Ю. І. Прилуцький^{1,*}**

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

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

³Комунальний заклад вищої освіти «Волинський медичний інститут», вул. Лесі Українки, 2, Луцьк, 43016, Україна;

⁴Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи 4, Харків, 61022, Україна

*e-mail: prylut@ukr.net

Надійшла до редакції 13 квітня 2025 р. Переглянута 14 травня 2025 р.

Прийнята до друку 19 травня 2025 р.

Актуальність. Відновлення скоротливої активності скелетних м'язів після нейрогенної атрофії є складним і тривалим процесом. Відтак, пошук ефективних терапевтичних засобів для його прискорення є вкрай актуальним завданням сучасної біомедицини. Атрофія скелетних м'язів супроводжується зменшенням м'язової маси, втомлюваністю та зниженням скоротливої здатності, що пов'язано з активацією оксидативного стресу, запаленням і катаболічними реакціями.

Денервація запускає складні сигнальні каскади за участю Ca²⁺ та факторів транскрипції, які сприяють розпаду білків й порушенню функціональності міоцитів. Мітохондріальна дисфункція, мітофагія та порушення окисного фосфорилування поглиблюють дегенеративні процеси у м'язових волокнах. Крім атрофії м'язів, спостерігається ремоделювання оточуючих тканин, зокрема фіброз і девакуляризація, що ускладнює регенерацію. Одним із ключових факторів ініціації атрофії є окислювальний стрес, тому сучасні терапевтичні підходи спрямовані на його нейтралізацію за допомогою антиоксидантів, стовбурових клітин та позаклітинних везикул.

Мета роботи — дослідження дії C₆₀ фулеренів, що володіють антиоксидантними властивостями, на механокінетику скорочення *m. gastrocnemius* щурів упродовж 30 діб після нейрогенної атрофії, викликаній пошкодженням сідничного нерва.

Матеріали та методи. При аналізі міотичної відповіді з використанням тензометрії оцінювали такі механокінетичні параметри як рівень максимальної сили скорочення м'яза, час досягнення його максимальної сили скорочення та час утримання максимальної сили скорочення *m. gastrocnemius*. Додатково проводили гістологічні дослідження *m. gastrocnemius*.

Як цитувати: Ноздренко ДМ, Ангелов МС, Варенюк ІМ, Держинський МЕ, Богуцька КІ, Теплюк ВС, Неділько ІМ, Берест ВП, Прилуцький ЮІ. C₆₀ фулерен сприяє відновленню скоротливої активності *musculus gastrocnemius* щурів після нейрогенної атрофії. Biophysical Bulletin. 2025;53:72–81. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2025-53-06>

Citation: Nozdrenko DM, Anhelov MS, Vareniuk IM, Dzerzhynsky ME, Bogutska KI, Tepluk VS, Nedilko IM, Berest VP, Prylutsky YuI. C₆₀ fullerene promotes recovering rat *musculus gastrocnemius* contracting activity after neurogenic atrophy. Biophysical Bulletin. 2025;53:72–81. <https://doi.org/10.26565/2075-3810-2025-53-06> (in Ukrainian)

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

© Ноздренко Д. М., Ангелов М. С., Варенюк І. М., Держинський М. Е., Богуцька К. І., Теплюк В. С., Неділько І. М., Берест В. П., Прилуцький Ю. І., 2025.

Результати. Показано, що у травмованих тварин, які перорально щоденно вживали водний розчин C₆₀ фулерену (C₆₀ФВР) у дозі 1 мг/кг упродовж експерименту, мала місце позитивна динаміка досліджуваних механокінетичних параметрів скорочення *m. gastrocnemius* на рівні 29–39±3% порівняно з групою тварин, які не вживали C₆₀ФВР, що підтверджується гістологічним аналізом цих м'язів на 30 добу після ініціації пошкодження сідничного нерва.

Висновки. Одержані результати свідчать про перспективність використання C₆₀ФВР для відновлення скоротливої активності скелетних м'язів після нейрогенної атрофії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: C₆₀ фулерен; *m. gastrocnemius*; нейрогенна атрофія; механокінетичні параметри м'язового скорочення; гістологічний аналіз.

Нейрогенна атрофія — найважчий тип м'язової атрофії — може бути спричинена травмою або захворюванням нерва, що з'єднується з м'язом, і виникає, як правило, раптово, аніж фізіологічна атрофія, а відновлення її наслідків потребує значного часу [1]. Пошкодження сідничного нерва (*n. ischiadicus*) ініціює молекулярні процеси, які викликають трансформацію м'язової дисфункції в атрофічний стан [2].

Атрофія скелетних м'язів характеризується зменшенням м'язової маси та площі поперечного перерізу м'яза, внаслідок чого відбувається підвищення втомлюваності м'яза, зниження сили його скорочення і, відповідно, здатності до фізичних навантажень [3]. На сьогодні досліджено декілька патофізіологічних процесів, залучених до атрофії скелетних м'язів, включно з окислювальним стресом і запаленням, які активують системи убіквітин-протеасом, аутофагії лізосом і mTOR [3, 4]. Денервація ініціює плейотропні ефекти у скелетних м'язах, а молекулярні механізми, що лежать в основі нейрогенної м'язової атрофії, мають спільні риси з іншими причинами м'язової атрофії, включно з активацією чинників транскрипції FOXO та відповідною індукцією убіквітин-протеасомальної та лізосомальної деградації [2].

Після пошкодження *n. ischiadicus* м'яз перебуває у розслабленому стані, що підвищує внутрішньоклітинні рівні Ca²⁺, пов'язані з такими клітинними сигнальними шляхами як AMPK, cGMP, PLC-β, CREB і кальциневрин [5]. Крім того, ферменти, які беруть участь у циклі трикарбонових кислот і окислювальному фосфорилуванні, активуються надходженням Ca²⁺ у мітохондрії під час скорочення м'язів. Пошкодження *n. ischiadicus* спричиняє мітофагію та атрофію скелетних м'язів завдяки підвищеній чутливості до індукованого Ca²⁺ відкриття пори переходу проникності у мітохондріях, що перешкоджає нормальному синтезу білка в міоцитах [5].

Втрата рухової іннервації ініціює клітинні сигнальні шляхи у денервованих міофібрилах, спричиняючи локалізований прокатаболічний стан. Більшість форм м'язової атрофії супроводжуються значним підвищенням розпаду м'язових білків, що, в свою чергу, призводить до зростання м'язової жорсткості [6]. Навколишні тканини, окрім скелетних м'язів, також піддаються ремоделюванню, включно з прогресуючою деваскуляризацією та активацією фіброадипогенних попередників, які сприяють накопиченню фіброзно-жирової тканини та збільшенню рівня м'язової жорсткості. Нарешті, функціональне відновлення м'яза ускладняються нездатністю рухових нервових волокон, які регенерують, швидко вступати в контакт зі специфічними руховими шляхами. Це викликає підвищене фіброзоутворення у допоміжній системі м'яза та порушення точнісного позиціонування суглобів [7].

Окислювальний стрес є одним з ключових факторів, який ініціює атрофію скелетних м'язів [8, 9]. Він активується на ранніх стадіях м'язової атрофії та може регулюватися різними чинниками. Окислювальний стрес, зазвичай, визначають як дисбаланс між продукуванням оксидантів і антиоксидантів та характеризують утворенням токсичних вільних радикалів, особливо активних форм кисню (АФК). Наразі стратегії лікування атрофії скелетних м'язів спрямовані саме на «боротьбу» з окислювальним стресом і

здебільшого включають застосування антиоксидантних препаратів, стовбурових клітин і позаклітинних везикул [8].

Як перспективні антиоксиданти розглядають одну з алотропних видозмін вуглецю — C_{60} фулерени [10, 11]. Ця видозміна наведена під № 3 — у таблиці 1 посилання [11]. Молекулі C_{60} притаманна висока відновлювальна здатність, завдяки якій вона діє у біологічних системах як ефективний уловлювач АФК. У попередніх експериментах було показано, що застосування водорозчинних C_{60} фулеренів за низьких доз сприяє відновленню динаміки м'язового скорочення та фізіологічного стану організму після ішемічного пошкодження [12], механічної травми [13] та атрофії, викликаной ахіллотенотомією [14], скелетних м'язів щурів. Таким чином, метою цієї роботи було дослідити вплив C_{60} фулеренів-антиоксидантів на відновлення скоротливої активності *m. gastrocnemius* щурів шляхом оцінки механокінетичних параметрів скорочення м'яза та його гістологічного аналізу після нейрогенної атрофії, викликаной пошкодженням *n. ischiadicus*.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для отримання водного розчину C_{60} фулерену (C_{60} ФВР) використовували метод, що базується на перенесенні молекул C_{60} з толуолу у воду за ультразвукової обробки (8 Гц, 8 годин) [15]. Отриманий C_{60} ФВР у максимальній концентрації 0,15 мг/мл зберігає стабільність упродовж 12–18 місяців за температури +4–25°C. Він є типовим наноколоїдом, що містить як окремі молекули C_{60} , так і їх наноагрегати [16].

Експерименти проводили на щурах-самцях лінії Wistar віком від 1 до 2 місяців (наприкінці досліду) вагою 110–170±5 г. Протокол дослідження був затверджений комісією з питань біоетики ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка згідно з правилами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» і норм біомедичної етики згідно із Законом України №3447–IV 21.02.2006 р., м. Київ, «Про захист тварин від жорстокого поводження» під час проведення медико-біологічних досліджень.

Тварин випадковим чином розподіляли на такі піддослідні групи: контроль (n=7); група «травма» (n=7; перерізання *n. ischiadicus*); група «травма+ C_{60} » (n=7; щоденне пероральне застосування C_{60} ФВР у дозі 1 мг/кг маси тіла тварини після ініціації травми).

Зазначимо, що вибір вищевказаної дози C_{60} ФВР ґрунтується на її високій ефективності за терапії різних м'язових патологій *in vivo* [12–14]. Крім того, загальна доза 30 мг/кг в експерименті значно нижча за значення LD_{50} , яке становило 600 мг/кг у випадку перорального введення щурам [17] і тому є безпечною для біотестування.

Анестезію тварин здійснювали внутрішньочеревним введенням Золетилу (40 мг/кг).

M. gastrocnemius і *n. ischiadicus* виділяли з оточуючих тканин. Виділений нерв перерізували на 10 мм проксимальніше від розгалуження великогомілкового і малогомілкового нервів [18] і закріплювали на біполярному платиновому дротяному електроді для подальшої електричної стимуляції, а сухожилля м'яза під'єднували до тензометричної установки [19]. Краї шкіри навколо розтину підшивали до арматури верстата, утворюючи ванночку з м'язом і нервом, яку заповнювали вазеліновим маслом.

Дослідження наступних механокінетичних параметрів скорочення *m. gastrocnemius* для груп тварин «травма» і «травма+ C_{60} » [12–14] проводили на 30-ту добу після перерізання нерва:

- рівень максимальної сили скорочення м'яза (F_{max}) як показник загальної дисфункції м'язової системи. Зміна цього параметра може бути пов'язана як з порушеннями у нейронній компоненті, так і міотичними складовими досліджуваної патології;

- час досягнення максимальної сили скорочення м'яза ($t_{\max}$): максимальна генерація сили, на яку здатен активний м'яз, є важливим показником для швидких і нецілеспрямованих рухів. Величина його зміни порівняно з контролем вказує на рівень фізіологічної дисфункції нервово-м'язового препарату під час реалізації ним максимальних силових завдань;

- час утримання максимальної сили скорочення м'яза ($t_{\text{hold max}}$) як показник адаптивності м'язової системи до нових станів, викликаних патологічним впливом.

Важливо зазначити, що такі дослідження базуються на експериментально встановленому факті, що до 30 діб процеси атрофічної дегенерації в м'язі практично не відбуваються [20].

Для реєстрації електрофізіологічних сигналів використовували 12-ти розрядний аналого-цифровий та цифро-аналоговий перетворювач (АЦП-ЦАП, NI USB-6009, USA). Вихідні імпульси ЦАП формувалися генератором імпульсів (DS2A, Digitimer, USA), які здійснювали стимуляцію нервів (електричні імпульси тривалістю 2 мс, частотою 50 Гц і напругою 7 В). Тензометричні сигнали через підсилювач (Brownlee model 440, USA) подавали на АЦП і реєстрували з частотою 10 кГц.

Механокінетику скорочення *m. gastrocnemius* піддослідних щурів вивчали за різних електростимуляцій, а саме: *стимуляція 1* — скорочення, викликані 5 с стимуляційними пулами частотою 50 Гц, загальною тривалістю 200 с та *стимуляція 2* — скорочення, викликані 5 с стимуляційними пулами з різним часом (1, 2 і 3 с, відповідно) досягнення максимальної частоти 50 Гц, загальною тривалістю 200 с.

Зразки *m. gastrocnemius* фіксували у 10% формаліні і заливали у парафін. Виготовляли зрізи товщиною 5 мкм і забарвлювали їх гематоксиліном та пікрофуксином за Ван-Гізоном. Цифрові мікрофотографії зразків отримували за допомогою мікроскопа, суміщеного з комп'ютером (мікроскоп Olympus BX41 і цифрова фотокамера Olympus C-5050 Zoom), та проводили їх гістологічний аналіз.

Статистичний аналіз результатів проводили, використовуючи дисперсійний аналіз ANOVA у програмі Statistica 8.0. Кожна з одержаних експериментальних кривих скорочення *m. gastrocnemius* є результатом усереднення 10 аналогічних вимірювань ($M \pm SE$). Для оцінки достовірності виявлених змін застосовували двофакторний дисперсійний аналіз ANOVA з *post-hoc* тестом за Бонферроні. Значення $p < 0,05$ вважалися достатніми для висновку про значущість відмінностей між групами.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Біомеханіка скорочення *m. gastrocnemius*

Механокінетику скорочення *m. gastrocnemius* піддослідних щурів вивчали за різних електростимуляцій (Рис. 1). Це необхідно для оцінки максимальної сили скорочення *m. gastrocnemius* (*стимуляція 1*, Рис. 2), часу досягнення максимальної сили скорочення *m. gastrocnemius* (*стимуляція 2*, Рис. 3) та її утримання (*стимуляція 2*, Рис. 4) на тлі нейрогенної атрофії.

Як видно з Рис. 2, максимальна сила *m. gastrocnemius* у контролі зменшується до рівня $88-70 \pm 6\%$ для 1-50 послідовного скорочення м'яза. У групі «травма» (30 діб після перерізання *n. ischiadicus*) відбувається зниження силової відповіді *m. gastrocnemius* на $26-35 \pm 2\%$ для 1-50 послідовного скорочення м'яза порівняно з контролем. Нарешті, у групі «травма+C₆₀» (30 діб після перерізання *n. ischiadicus* та за використання C₆₀ФВР) рівень силової відповіді *m. gastrocnemius* зріс на $20-25 \pm 3\%$ для 1-50 послідовного скорочення м'яза порівняно з групою «травма», суттєво наблизившись до контрольних значень.

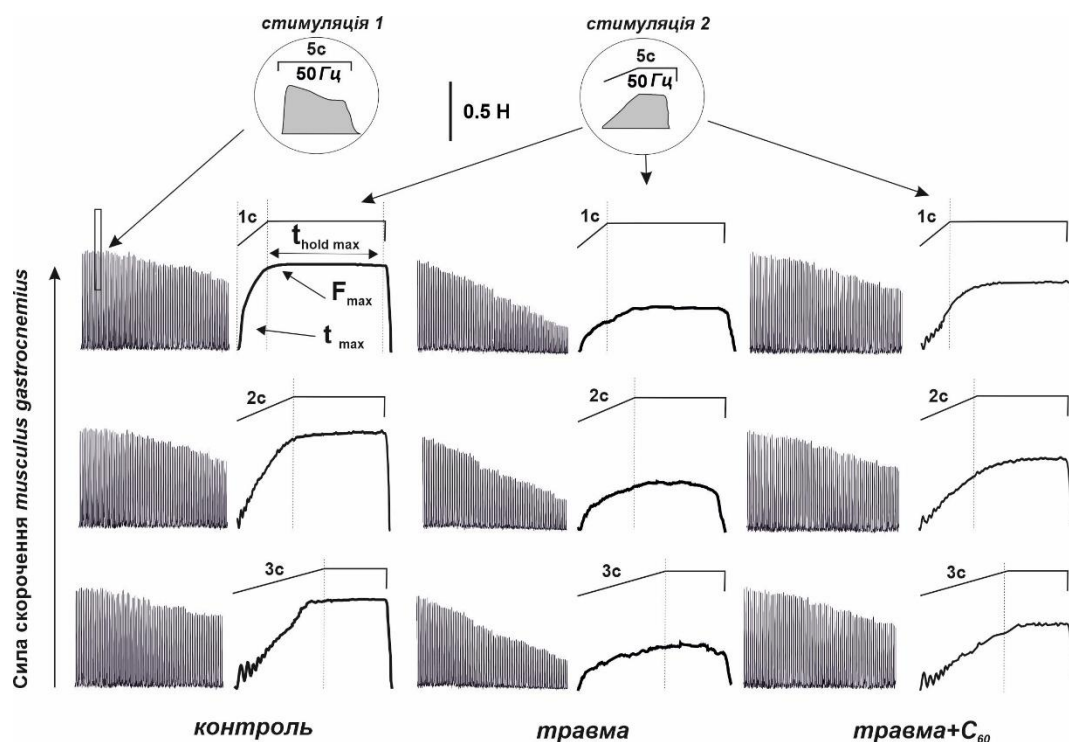


Рис. 1. Сила скорочення *m. gastrocnemius* щура за різних електростимуляцій (стимуляція 1 і стимуляція 2); травма та травма+C₆₀ — сила скорочення *m. gastrocnemius* через 30 діб після перерізання *n. ischiadicus* та за введення C₆₀ФВР у щоденній дозі 1 мг/кг, відповідно; $t_{hold\ max}$ — час утримання максимальної сили скорочення м'яза, F_{max} — рівень максимальної сили скорочення м'яза, t_{max} — час досягнення максимальної сили скорочення м'яза; контроль — нативний м'яз.

Fig. 1. Rat *m. gastrocnemius* contraction force under different electrical stimulations (stimulation 1 and stimulation 2); injury and injury+C₆₀ — contraction force of the *m. gastrocnemius* 30 days after *n. ischiadicus* transection and with administration of C₆₀FAS at a daily dose of 1 mg/kg, respectively; $t_{hold\ max}$ — time of holding the maximum muscle contraction force, F_{max} — level of maximum muscle contraction force, t_{max} — time of reaching the maximum muscle contraction force; control — native muscle.

Зазначимо, що ці результати добре узгоджуються з даними [21] щодо впливу екзогенних антиоксидантів C₆₀ фулеренів на розвиток втомлювальних процесів скелетних м'язів, викликаних їх довготривалою безрелаксативною стимуляцією.

Час досягнення максимальної сили скорочення *m. gastrocnemius* є одним з найважливіших механокінетичних параметрів скорочення м'яза, який відповідає за точність позиціонування суглобів. Його збільшення вказує на рівень фізіологічної дисфункції нервово-м'язового препарату під час реалізації ним еферентних сигналів [22]. Аналіз цього параметру (Рис. 3) показав його суттєве збільшення навіть через 30 діб після перерізання *n. ischiadicus* до 2380 ± 26 мс, 3655 ± 38 мс і 5240 ± 55 мс за 1, 2 і 3 с наростаючого стимуляційного сигналу, відповідно (у контролі — 1050 ± 12 мс, 2060 ± 22 мс і 3070 ± 28 мс, відповідно). Використання C₆₀ФВР суттєво зменшило цей параметр до 1450 ± 25 мс, 2450 ± 30 мс і 3270 ± 32 мс, відповідно, і, таким чином, позитивний ефект склав 39–41±3% порівняно з групою «травма».

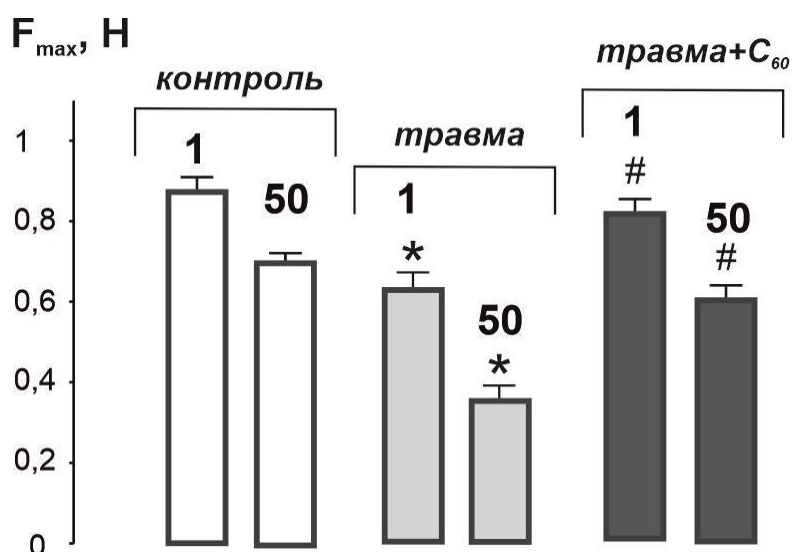


Рис. 2. Максимальна сила скорочення *m. gastrocnemius* (F_{max}) щура за використання стимуляції 1: травма та травма+C₆₀ — сила скорочення *m. gastrocnemius* через 30 діб після перерізування *n. ischiadicus* та за введення C₆₀ФВР у щоденній дозі 1 мг/кг, відповідно; контроль — нативний м'яз; 1 і 50 — перше і 50-е послідовне скорочення м'яза; * $p < 0,05$ щодо контрольної групи; # $p < 0,05$ щодо групи «травма».

Fig. 2. Maximum contraction force of the rat *m. gastrocnemius* (F_{max}) using stimulation 1: injury and injury+C₆₀ — contraction force of the *m. gastrocnemius* 30 days after *n. ischiadicus* transection and with administration of C₆₀FAS at a daily dose of 1 mg/kg, respectively; control — native muscle; 1 and 50 — the first and 50th consecutive contraction of the muscle; * $p < 0.05$ relative to the control group; # $p < 0.05$ relative to the "injury" group.

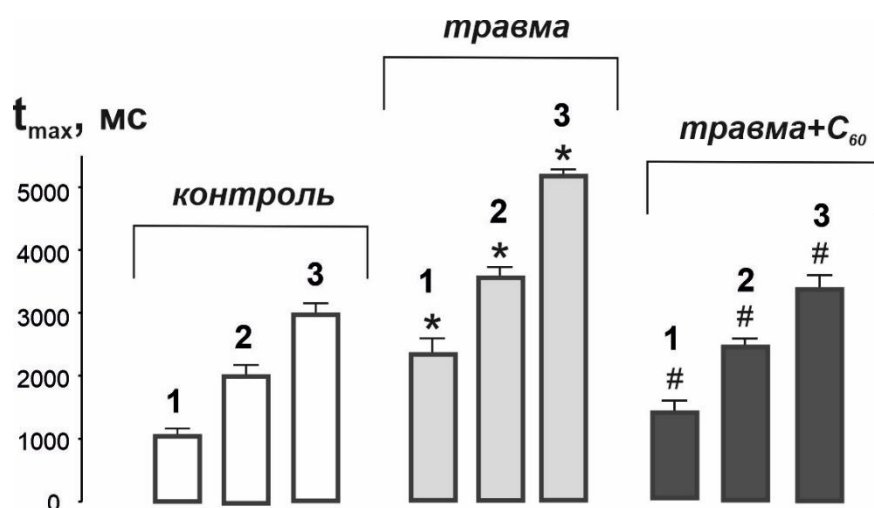


Рис. 3. Час досягнення максимальної сили скорочення *m. gastrocnemius* (t_{max}) щура за використання стимуляції 2: травма та травма+C₆₀ — сила скорочення *m. gastrocnemius* через 30 діб після перерізування *n. ischiadicus* та за введення C₆₀ФВР у щоденній дозі 1 мг/кг, відповідно; контроль — нативний м'яз; 1, 2 і 3 — тривалість наростаючого стимуляційного сигналу: 1, 2 і 3 с, відповідно, * $p < 0,05$ щодо контрольної групи; # $p < 0,05$ щодо групи «травма».

Fig. 3. Time to reach maximum contraction force of the rat *m. gastrocnemius* (t_{max}) using stimulation 2: injury and injury+C₆₀ — contraction force of the *m. gastrocnemius* 30 days after *n. ischiadicus* transection and with administration of C₆₀FAS at a daily dose of 1 mg/kg, respectively; control — native muscle; 1, 2 and 3 — duration of the increasing stimulation signal: 1, 2 and 3 s, respectively, * $p < 0.05$ relative to the control group; # $p < 0.05$ relative to the "injury" group.

Час утримання максимальної сили скорочення м'яза (досягнутого стаціонарного стану) є показником його адаптивності до нових станів, змінених патологічним впливом. Свідченням цього є наявність флуктуаційних коливань на фазах утримання стаціонарного стану або його зниження під час максимальної стимуляції внаслідок залишкових патологічних станів у м'язовій системі піддослідних тварин [23, 24].

Час утримання максимальної сили скорочення *m. gastrocnemius* зменшився до 3080 ± 35 мс, 1730 ± 20 мс та 870 ± 12 мс за 1, 2 і 3 с наростаючого стимуляційного сигналу, відповідно (у контролі — 3930 ± 44 мс, 2950 ± 35 мс та 1970 ± 20 мс, відповідно) (Рис. 4). Використання C_{60} ФВР збільшило цей параметр до 3720 ± 40 мс, 2890 ± 35 мс та 1810 ± 20 мс, відповідно, і, таким чином, позитивний ефект склав $17\text{--}52 \pm 3\%$ порівняно з групою «травма».

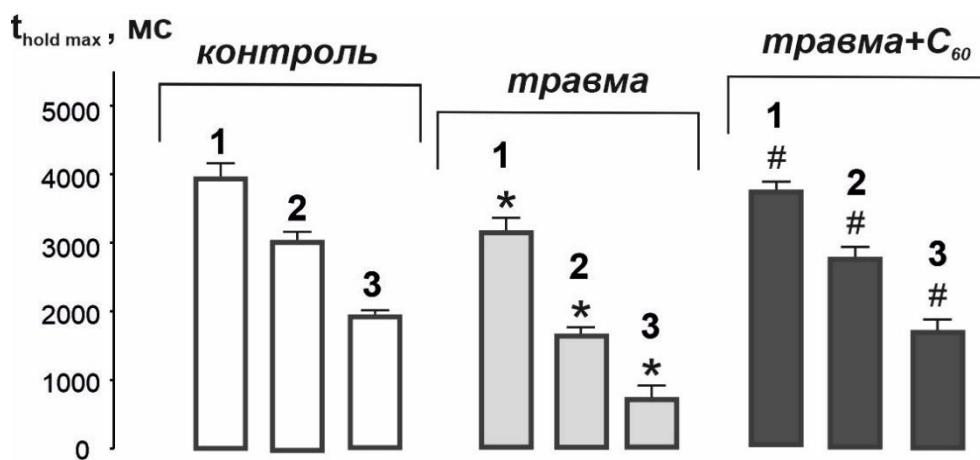


Рис. 4. Час утримання максимальної сили скорочення *m. gastrocnemius* ($t_{hold\ max}$) щура за використання стимуляції 2: травма та травма+ C_{60} – сила скорочення *m. gastrocnemius* через 30 діб після перерізання *n. ischiadicus* та за введення C_{60} ФВР у щоденній дозі 1 мг/кг, відповідно; контроль – нативний м'яз; 1, 2 і 3 – тривалість наростаючого стимуляційного сигналу: 1, 2 і 3 с, відповідно, * $p < 0,05$ щодо контрольної групи; # $p < 0,05$ щодо групи «травма».

Fig. 4. Time of holding the maximum muscle contraction of the rat *m. gastrocnemius* ($t_{hold\ max}$) using stimulation 2: injury and injury+ C_{60} – contraction force of the *m. gastrocnemius* 30 days after *n. ischiadicus* transection and with administration of C_{60} FAS at a daily dose of 1 mg/kg, respectively; control – native muscle; 1, 2 and 3 – duration of the increasing stimulation signal: 1, 2 and 3 s, respectively, * $p < 0.05$ relative to the control group; # $p < 0.05$ relative to the "injury" group.

Отже, дослідження скоротливої активності *m. gastrocnemius* щурів на тлі нейрогенної атрофії за перорального щоденного введення C_{60} ФВР у дозі 1 мг/кг упродовж експерименту виявило позитивну динаміку вищеописаних біомеханічних параметрів скорочення м'яза, а саме на рівні $29\text{--}39 \pm 3\%$. Можна припустити, що C_{60} фулерени здатні впливати на активність ендогенних антиоксидантів, перешкоджаючи виникненню дисфункції в м'язі щурів і покращуючи його скоротливу активність після нейрогенної атрофії, що відкриває перспективу їх практичного використання у біомедицині.

Гістологічний аналіз

Гістологічні дослідження засвідчили, що м'язові волокна *m. gastrocnemius* щурів контрольної групи мають чітку поперечну посмугованість, без будь-яких відхилень від нормальної будови (Рис. 5А).

У щурів групи «травма» через 30 діб спостерігаються значні деструктивні зміни м'язових волокон у *m. gastrocnemius* (Рис. 5Б). Частина м'язових волокон фрагментована, частина є звивистими. Поперечна посмугованість нечітка. М'язові волокна тонші порівняно з контрольною групою, неоднакової товщини, спостерігається фіброз. Збільшується кількість аморфної речовини сполучної тканини.

У щурів групи «травма+C₆₀» через 30 діб також спостерігаються деструктивні зміни м'язових волокон у *m. gastrocnemius* (Рис. 5В): частина м'язових волокон нормальної товщини, а частина тонкі; не усі м'язові волокна мають чітку поперечну посмугованість; на деяких ділянках має місце розростання колагенових волокон. Проте гістологічні зміни у цій групі тварин менш виражені, ніж у групі тварин з травмою, які не отримували C₆₀ФВР.

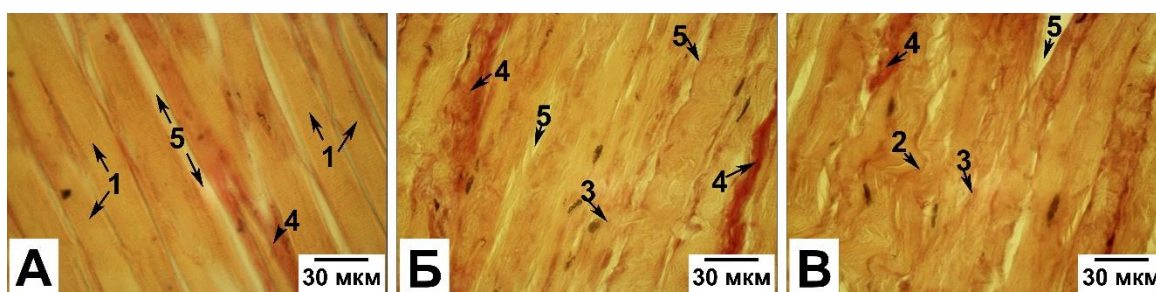


Рис. 5. М'язові волокна *m. gastrocnemius* щура: А) контроль; Б) через 30 діб після травми; В) через 30 діб після травми при застосуванні C₆₀ФВР. Забарвлення гематоксиліном та пікрофуксином за Ван-Гізоном. Масштаб – 30 мкм. Стрілками показано: 1 — незмінені м'язові волокна; 2 — звивисті м'язові волокна; 3 — фрагментовані м'язові волокна; 4 — колагенові сполучнотканинні волокна; 5 — аморфна речовина сполучної тканини.

Fig. 5. Muscle fibers of the rat *m. gastrocnemius*: A) control; B) 30 days after injury; C) 30 days after injury with the usage of C₆₀FAS. Staining with hematoxylin and picrofuchsin according to Van Gieson. Scale bar — 30 μm. Arrows indicate: 1 — unchanged muscle fibers; 2 — sinuous muscle fibers; 3 — fragmented muscle fibers; 4 — collagen connective tissue fibers; 5 — amorphous connective tissue substance.

ВИСНОВКИ

Таким чином, у проведених тестах цього дослідження має місце позитивна динаміка механокінетичних параметрів скорочення *m. gastrocnemius* щурів (на рівні 29–39±3%) на тлі нейрогенної атрофії за перорального щоденного введення C₆₀ФВР у дозі 1 мг/кг упродовж експерименту, що підтверджується гістологічним аналізом цих м'язів на 30 добу після ініціації пошкодження сідничного нерва. Відтак, це може слугувати підґрунтям для проведення подальших доклінічних випробувань антиоксидантів C₆₀ фулеренів, здатних зменшувати/корегувати патологічні стани м'язової системи, що виникають за атрофії скелетних м'язів унаслідок їх невикористання.

ПОДЯКА

Дослідження виконано за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України [тема №24БП018-02, 2024–2026].

КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів.

Authors' ORCID ID

D. M. Nozdrenko  <https://orcid.org/0000-0001-7254-1533>
M. S. Anhelov  <https://orcid.org/0009-0000-9620-4689>
I. M. Varenjuk  <https://orcid.org/0000-0002-9881-5536>
K. I. Bogutska  <https://orcid.org/0000-0003-0202-8042>
V. S. Tepluk  <https://orcid.org/0000-0002-0611-2797>
V. P. Berest  <https://orcid.org/0000-0001-7779-154X>
Yu. I. Prylutsky  <https://orcid.org/0000-0002-9847-4137>

REFERENCES

1. Burns TM, Graham CD, Rose MR, Simmons Z. Quality of life and measures of quality of life in patients with neuromuscular disorders. *Muscle Nerve*. 2012;46(1):9–25. <https://doi.org/10.1002/mus.23245>
2. Ehmsen JT, Höke A. Cellular and molecular features of neurogenic skeletal muscle atrophy. *Exp Neurol*. 2020;331:113379. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113379>
3. Yin L, Li N, Jia W, Wang N, Liang M, Yang X, Du G. Skeletal muscle atrophy: From mechanisms to treatments. *Pharmacol Res*. 2021;172:105807. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105807>
4. Xu X, Talifu Z, Zhang C-J, Gao F, Ke H, Yun-Zhu P, et al. Mechanism of skeletal muscle atrophy after spinal cord injury: A narrative review. *Front Nutr*. 2023;10:1099143. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1099143>
5. Yadav A, Dabur R. Skeletal muscle atrophy after sciatic nerve damage: Mechanistic insights. *Eur J Pharmacol*. 2024;970:176506. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2024.176506>
6. Michael K. Relationship of skeletal muscle atrophy to functional status: a systematic research review. *Biol Res Nurs*. 2000;2(2):117–31. <https://doi.org/10.1177/109980040000200205>
7. Zambon AA, Falzone YM, Bolino A, Previtali SC. Molecular mechanisms and therapeutic strategies for neuromuscular diseases. *Cell Mol Life Sci*. 2024;81(1):198. <https://doi.org/10.1007/s00018-024-05229-9>
8. Zhang H, Qi G, Wang K, Yang J, Shen Y, Yang X, et al. Oxidative stress: Roles in skeletal muscle atrophy. *Biochem Pharmacol*. 2023;214:115664. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115664>
9. Chen K, Yin Q, Guan J, Yang J, Ma Y, Hu Y, et al. Association between the oxidative balance score and low muscle mass in middle-aged US adults. *Front Nutr*. 2024;11:1358231. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1358231>
10. Eswaran SV. Water soluble nanocarbon materials: a panacea for all? *Curr Sci*. 2018;114:1846–50. <https://doi.org/10.18520/cs/v114/i09/1846-1850>
11. Mahor A, Singh PP, Bharadwaj P, Sharma N, Yadav S, Rosenholm JM, Bansal KK. Carbon-based nanomaterials for delivery of biologicals and therapeutics: A cutting-edge technology. *C-J Carbon Res*. 2021;7(1):19. <https://doi.org/10.3390/c7010019>
12. Nozdrenko DM, Bogutska KI, Prylutsky YuI, Korolovych VF, Evstigneev MP, Ritter U, Scharff P. Impact of C₆₀ fullerene on the dynamics of force-speed changes in soleus muscle of rat at ischemia-reperfusion injury. *Fiziol Zh*. 2015;61(2):48–59. <https://doi.org/10.15407/fz61.02.048>
13. Nozdrenko DN, Matvienko TY, Vygovska OV, Soroca VM, Bogutska KI, Nuryshchenko NE, et al. Activation of the cold and menthol receptor TRPM8 improves the post-traumatic recovery of rat muscle soleus during fullerene treatment. *Nanosistemi, Nanomateriali, Nanotehnologii*. 2020;18(1):205–16. <https://doi.org/10.15407/nnn.18.01.205>
14. Nozdrenko D, Prylutska S, Bogutska K, Nurishchenko NY, Abramchuk O, Motuziuk O, et al. Effect of C₆₀ fullerene on recovery of muscle soleus in rats after atrophy induced by achillotenotomy. *Life (Basel)*. 2022;12(3):332. <https://doi.org/10.3390/life12030332>
15. Ritter U, Prylutsky YI, 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. *Fuller Nanotub Carbon Nanostruct*. 2015;23(6):530–4. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2013.870900>
16. Prilutski YI, Durov SS, Yashchuk VN, Ogul'chansky TY, Pogorelov VE, Astashkin Y., et al. Theoretical predictions and experimental studies of self-organization C₆₀ nanoparticles in water solution and on the support. *Europ Phys J D*. 1999;9(1–4):341–3. <https://doi.org/10.1007/s100530050452>
17. 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>
18. Saito H, Dahlin LB. Expression of ATF3 and axonal outgrowth are impaired after delayed nerve repair. *BMC Neurosci*. 2008;9:88. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-9-88>

19. 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. Biomed Res. 2018;29(19):3629–34. <https://doi.org/10.4066/biomedicalresearch.29-18-1055>
20. Gordon T, Fu SY. Long-term response to nerve injury. Adv Neurol. 1997;72:185–99.
21. Prylutsky Y, Nozdrenko D, Gonchar O, Prylutska S, Bogutska K, Franskevych D, et al. C₆₀ fullerene attenuates muscle force reduction in a rat during fatigue development. Heliyon. 2022;8(12):e12449. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12449>
22. Kostyukov AI, Cherkassky VL. Interaction of the movement-dependent, extrafusal and fusimotor after-effects in the firing of the primary spindle endings. Neuroscience. 1997;76(4):1257–66. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(96\)00431-9](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(96)00431-9)
23. Peng J, Chen X. Progress in research on the mechanism of denervated skeletal muscle atrophy. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. 2008;22(12):1511–4.
24. Giggins OM, Persson UM, Caulfield B. Biofeedback in rehabilitation. J Neuroeng Rehabil. 2013;10:60. <https://doi.org/10.1186/1743-0003-10-60>

C₆₀ FULLERENE PROMOTES RECOVERING RAT *MUSCULUS GASTROCNEMIUS* CONTRACTING ACTIVITY AFTER NEUROGENIC ATROPHY

D. M. Nozdrenko¹, M. S. Anhelov¹, I. M. Vareniuk¹, M. E. Dzerzhynsky¹, K. I. Bogutska¹,
V. S. Tepluk², I. M. Nedilko³, V. P. Berest⁴, Yu. I. Prylutsky^{1,*}

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

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

³Municipal Institution of Higher Education “Volyn Medical Institute”, 2 Lesya Ukrainka Str., Lutsk, 43016, Ukraine;

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

*Corresponding author: prylut@ukr.net

Submitted April 13, 2025; Revised May 14, 2025;

Accepted May 19, 2025

Background: Recovery of functional activity of skeletal muscles after neurogenic atrophy is a complex and long-term process. Therefore, the search for effective therapeutic means for its acceleration is an extremely urgent task in modern biomedicine. Skeletal muscle atrophy is characterized by a reduction in muscle mass, increased fatigue, and decreased contractile strength, driven by oxidative stress, inflammation, and activation of catabolic reactions. Denervation triggers complex signaling cascades involving Ca²⁺ and transcription factors that promote protein degradation and impair myocyte function. Mitochondrial dysfunction, mitophagy, and disrupted oxidative phosphorylation exacerbate degenerative changes in muscle fibers. In addition to muscle loss, surrounding tissues undergo remodeling, including fibrosis and devascularization, which further hinder regeneration. Oxidative stress is a key initiator of muscle atrophy, and current therapeutic strategies focus on its mitigation through antioxidants, stem cells, and extracellular vesicles.

Objective of the work was to study of the C₆₀ fullerenes with antioxidant properties on the mechanokinetics of rat *m. gastrocnemius* contraction for 30 days after neurogenic atrophy caused by sciatic nerve damage.

Methods: When analyzing the miotic response using tensometry, such mechanokinetic parameters as the level of maximum muscle contraction force, the time to reach its maximum contraction force and the time of holding the maximum force of *m. gastrocnemius* contraction were evaluated. Additionally, histological studies of *m. gastrocnemius* were performed.

Results: It was shown that in injured animals that received daily oral administration of C₆₀ fullerene aqueous solution (C₆₀FAS) at a dose of 1 mg/kg throughout the experiment, there was the positive dynamics in the studied mechanokinetic parameters of *m. gastrocnemius* contraction at the level of 29-39±3% compared to the group of animals that did not use C₆₀FAS, which was confirmed by histological analysis of these muscles on the 30th day after the initiation of sciatic nerve damage.

Conclusions: The results obtained indicate the prospects of using C₆₀FAS to recovering the functional activity of skeletal muscles after neurogenic atrophy.

KEYWORDS: C₆₀ fullerene; *m. gastrocnemius*; neurogenic atrophy; mechanokinetic parameters of muscle contraction; histological analysis.