



УДК 57.044:[612.36+616-002.1]

ВПЛИВ ВОДРОЗЧИННИХ C_{60} ФУЛЕРЕНІВ НА РОЗВИТОК ГОСТРОГО КОЛІТУ У ЩУРІВ

Г. М. Кузнєцова, Н. В. Дзюбенко, І. О. Черещук, Т. В. Рибальченко

*Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна
e-mail: biophys@gmail.com*

У терапії гострого коліту різної етіології традиційно використовують протизапальні засоби, які, проте, мають низку недоліків у вигляді кишкових та позакишкових ускладнень і недостатньої ефективності. Тому пошук нових засобів, ефективних при запаленні товстої кишки, є актуальним. Мета роботи – оцінити можливі протизапальні та протекторні властивості водорозчинних C_{60} фулеренів на моделі гострого виразкового коліту щурів. Модель відтворювали ректальним введенням 0,5 мл 10% розчину оцтової кислоти. C_{60} фулерени (0,5 мг/кг маси тіла) у вигляді стабільного водного розчину вводили тваринам через 24 та 48 год після індукції коліту внутрішньоочеревинно або ректально, тварин виводили з експерименту через 24 год після останнього введення. Стан товстої кишки оцінювали на макроскопічному рівні за 10-бальною шкалою, проникність епітеліального бар'єра товстої кишки – за добовою екскрецією барвника фенолового червоного, стан печінки – за рівнем трансаміназ, стан нирок – за рівнем креатиніну та сечовини у сироватці крові. Встановлено, що у разі введення C_{60} фулеренів внутрішньоочеревинно спостерігається зменшення ураження слизової оболонки товстої кишки у частини тварин (у 3 з 6), а у разі введення C_{60} ректально пошкодження слизової оболонки є вірогідно слабшим у всієї групи (3 бали проти 5). Також C_{60} фулерени за обох способів введення частково коригували місцеві та системні зміни: мало місце відновлення цілісності епітеліального бар'єра слизової оболонки товстої кишки, функцій нирок і печінки. Отже, C_{60} фулерени коригують локальні та системні наслідки гострого коліту, водночас їхні протекторні властивості за місцевого застосування більш виражені, порівняно з їхньою системною дією.

Ключові слова: гострий коліт, C_{60} фулерени.

ВСТУП

Захворювання травного тракту посідають друге місце (після респіраторних) у загальній захворюваності людства. Запальні захворювання кишечника (ЗЗК), серед них і виразковий коліт, належать до найбільш складних патологій травної системи за поширеністю (50–200 на 100 тис. населення), клінічною картиною та прогнозом [13]. Етіологія виразкового коліту достеменно невідома. Серед його

причин називають спадковість, особливості харчування, автоімунні процеси, тривале застосування нестероїдних протизапальних засобів тощо [11]. Це захворювання може мати гострий або хронічний характер, характеризується набряком, гіперемією, виразково-деструктивними змінами слизової оболонки товстої кишки. Запальний процес практично завжди починається у слизовій оболонці прямої кишки і може обмежуватися цим відділом або поширюватися на ободову кишку, охоплюючи її ліві відділи, або на всю товсту кишку. Зміни зачіпають, як правило, тільки слизову оболонку товстої кишки, хоча у разі прогресування захворювання і/чи за тяжких його форм охоплюють підслизову основу та поширюються до м'язового шару. Системні ускладнення виразкового коліту зумовлені переважно метаболічними й електролітними розладами і надходженням у системний кровотік медіаторів запалення, при цьому у хворих спостерігають ураження шкіри та слизових оболонок (до 19 %), печінки (до 30 %), суглобів і хребта (до 30 %), сечовидільної системи (до 23 %) [3]. Загалом позакишкові ускладнення мають місце у 10–65 % хворих на ЗЗК [14].

У терапії гострого коліту різної етіології та загострень неспецифічного виразкового коліту наразі застосовують протизапальні засоби, зокрема, препарати на основі 5-аміносаліцилової кислоти, кортикостероїди, імунодепресанти [6]. Проте традиційні засоби мають низку недоліків, а саме побічні ефекти у вигляді ерозій, крововиливів і порушення функцій шлунково-кишкового тракту (аміносаліцилати, імунодепресанти); гепатитів, панкреатитів (імунодепресанти); пригнічення кровотворення (аміносаліцилати, імунодепресанти), зростання ризику інфекцій (імунодепресанти, кортикостероїди); гормональних розладів (кортикостероїди), алергічних реакцій [2, 4]. При цьому ризик і тяжкість побічних ефектів зростають за тривалого прийому препаратів.

У патогенезі ЗЗК суттєва роль на всіх стадіях процесу належить активним формам кисню. При цьому останні виступають як вторинні месенджери у прозапальних сигнальних шляхах, залучені до ескалації процесу, відіграють провідну роль у знешкодженні патогену та спричиняють пошкодження біомакромолекул і, таким чином, призводять до загибелі власних клітин організму та прояву симптоматики захворювання. Оксидативний стрес і недостатність антиоксидантів у тканинах спостерігаються у багатьох осіб, що страждають на ЗЗК. Тому застосування антиоксидантів є перспективним, і пошуки та дослідження в цьому напрямі тривають [17].

C_{60} фулерен – це молекула близької до сферичної форми діаметром 0,72 нм, поверхня якої складається з 60 атомів вуглецю, з'єднаних між собою одинарними і подвійними хімічними зв'язками. Його синтезують за допомогою доступних хімічних методів і характеризують високою хімічною стабільністю й унікальними фотофізичними властивостями [5]. Завдяки наявності на поверхні системи π-кон'югованих подвійних зв'язків між гекса- і пентагональними структурами, водорозчинні C_{60} фулереми здатні ефективно уловлювати вільні радикали і, таким чином, виступати як антиоксиданти [23]. C_{60} фулереми є гідрофобними, тобто здатні взаємодіяти безпосередньо з ліпідним матриксом біомембран і проникати всередину клітини [20], у фізіологічних концентраціях є нетоксичними у системах *in vitro* й *in vivo* за гострої та хронічної дії [12, 22, 32]. Завдяки здатності як уловлювати [23], так і емітувати вільні радикали [16], C_{60} фулереми виявляють протипухлинні та протизапальні властивості [10, 18, 21] і, таким чином, є потенційними фармацевтичними сполуками нового класу. Тому метою роботи було оцінити можливі протизапальні та протекторні властивості водорозчинних C_{60} фулеренів на моделі гострого виразкового коліту щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на 24 білих лабораторних щурах-самках з масою $125,8 \pm 10$ г, яких утримували в умовах віварію за природного освітлення на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до питної води. Всі роботи проведені відповідно до принципів біоетики (Протокол № 4 від 05.10.2016 р. ННЦ “Інститут біології та медицини” Київського національного університету імені Тараса Шевченка), законодавчих норм і положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та наукових цілей” (Страсбург, 1986), “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом біоетики (Київ, 2001).

Гострий коліт відтворювали одноразовим ректальним введенням 0,5 мл 10% розчину оцтової кислоти [7]. За 15 хв до введення розчину оцтової кислоти тваринам очищали кишечник ректальним введенням 2 мл дистильованої води з подальшим масажем черева для кращого випорожнення. Використовували стабільний водний колоїдний розчин C₆₀ фулеренів за концентрації 0,15 мг/мл, приготований за методикою [25, 27], який вводили тваринам у об’ємі, еквівалентному кількості C₆₀ фулеренів 0,5 мг/кг маси тіла щура (близько 0,4 мл залежно від маси тварини).

Дослід тривав 3 доби. Після моделювання гострого коліту («0» доба) розчин C₆₀ фулеренів вводили через 24 та 48 год внутрішньоочеревинно або ректально. З тваринами груп порівняння здійснювали всі маніпуляції та вводили фізіологічний розчин тими ж способами, що і тваринам дослідних груп. Було сформовано 4 дослідні групи: 1 – контроль; 2 – гострий коліт; 3 – гострий коліт і розчин C₆₀ фулеренів внутрішньоочеревинно; 4 – гострий коліт і розчин C₆₀ фулеренів ректально.

Для оцінювання проникності епітеліального бар’єра товстої кишки тваринам вводили по 0,2 мл 0,5% водного розчину фенолового червоного (що відповідає 1 мг барвника) внутрішньошлунково на 48-му год дослідження та протягом наступних 24 год збирали сечу. Тварин при цьому утримували в індивідуальних камерах із вільним доступом до води та не годували. До 0,2 мл добової сечі додавали 2 мл дистильованої води та 0,2 мл концентрованого розчину NaOH. Пробі фотометрували при 560 нм проти води, кількість виділеного барвника визначали за калібрувальним графіком і перераховували на добову кількість сечі [9].

Через 72 год після початку досліду тварин забивали способом інгаляції CO₂ та подальшої цервікальної дислокації. Товсту кишку видаляли, розтинали по лінії прикріплення очеревини й аналізували внутрішню поверхню. Стан товстої кишки оцінювали за 10-бальною шкалою [28], при цьому вважали: 0 – пошкодження немає; 1 – локалізована гіперемія, без виразки; 2 – виразка без гіперемії або потовщення стінки кишки; 3 – виразка із запаленням в одному місці; 4 – два або більше сайтів виразки / запалення; 5 – великі сайти пошкодження завдовжки більше 1 см по всій довжині товстої кишки; 6–10 – пошкодження більше 2 см по довжині товстої кишки, де оцінка на 1 бал збільшується по кожному додатковому сантиметру ушкодження.

Одразу після умертвіння у тварин із пахової вени збирали кров, залишали на 20 хв для утворення згустку, після чого кров центрифугували 8 хв при 1000 г. У сироватці крові щурів за допомогою стандартних наборів реактивів (“Філісіт-Діагностика”, Україна) визначали активність ензимів аланін-амінотрансферази (КФ 2.6.1.2; АлАТ) і аспартат-амінотрансферази (КФ 2.6.1.1; АсАТ) – маркерів ушкодження печінки, і сечовини та креатиніну – маркерів фільтруючої функції нирок.

Статистичну обробку даних здійснювали методами варіаційної статистики з використанням для міжгрупових порівнянь ANOVA для даних з нормальним розпо-

ділом і критерію Манна–Уїтні – для даних з ненормальним розподілом [29]. Різницю між значеннями показників, що порівнювалися, вважали вірогідною при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У всіх тварин групи Коліт, починаючи з першої доби дослідження, спостерігали діарею різного ступеня вираженості. Під час розтину тварин було помітно, що стінка товстої кишки набрякла, її внутрішня поверхня – гіперемована та кровоточива. На слизовій оболонці були наявні невеликі виразки, а подекуди – досить значні. У деяких тварин на гіперемованому епітелії спостерігали нашарування некротичних мас. Ураження товстої кишки відповідало 5 балам за 10-бальною шкалою (рис. 1).

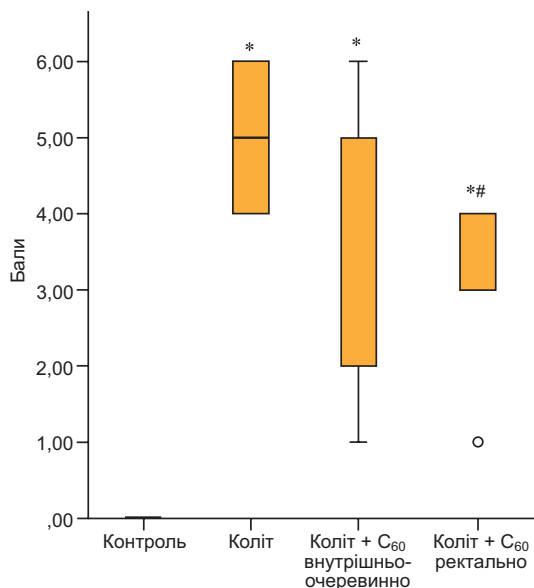


Рис. 1. Ураження товстої кишки щурів за умов гострого коліту і його корекції водним розчином C₆₀ фулеренів; * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, # – $p \leq 0,05$ порівняно з групою Коліт

Fig. 1. Colonic injury of rats experienced acute colitis and treated with C₆₀ fullerenes aqueous solution; * – $p \leq 0.05$ compared to control, # – $p \leq 0.05$ compared to colitis

Кількість барвника фенолового червоного у добовій сечі щурів цієї групи відповідала 24 % від його введеної кількості й вірогідно перевищувала відповідне значення групи контролю (3,6%) у 6,6 разу (рис. 2). Оскільки феноловий червоний не всмоктується в кишечнику [9] і може проникати крізь епітеліальний бар'єр тільки між клітинами при порушенні щільних та інших контактів, то збільшення його кількості у сечі свідчить про порушення цілісності епітеліального бар'єру товстої кишки. Активність АлАТ у сироватці крові щурів цієї групи вірогідно не змінювалася, проте активність АсАТ зростала більш ніж у 2,5 разу ($p < 0,05$) порівняно з контролем (рис. 5, 6). Такі зміни можуть свідчити про ураження тканин печінки. Кількість креатиніну і сечовини у сироватці крові за гострого коліту також вірогідно зростала (на 6,7 і 28 % відповідно) (рис. 3, 4), що може свідчити про порушення ниркової фільтрації та, відповідно, ураження нирок.

При корекції гострого коліту внутрішньоочеревинним введенням водного розчину C₆₀ фулеренів, як і за умов некоригованої патології, у тварин мала місце діарея різного ступеня вираженості, при розтині також спостерігали набряк стінки товстої кишки, гіперемію і кровоточивість її внутрішньої поверхні, дрібні виразки та нашарування некротичних мас. Медіана ступеня ураження товстої кишки відповідала такій

при гострому коліті (рис. 1). Проте у частини тварин (у 3 з 6) ураження були значно менш вираженими: спостерігалися набряк стінки кишки, незначна гіперемія її внутрішньої поверхні та поодинокі виразки (не більше 2 у тварини), що, на нашу думку, може свідчити про здатність C₆₀ фулеренів частково коригувати наслідки гострого коліту у товстій кишці. Добова екскреція фенолового червоного у цій групі вірогідно знижувалася порівняно з групою Коліт і наближалася до рівня контролю (рис. 2), що свідчить про низьку проникність кишкової стінки та, відповідно, відновлення цілісності епітеліального бар'єру. Вміст креатиніну (рис. 3) та сечовини (рис. 4) у сироватці крові також відновлювався до рівня контролю, що може свідчити про нормалізацію ниркової фільтрації. Проте рівні трансаміназ залишалися підвищеними (рис. 5, 6), що може бути ознакою персистенції ураження печінки.

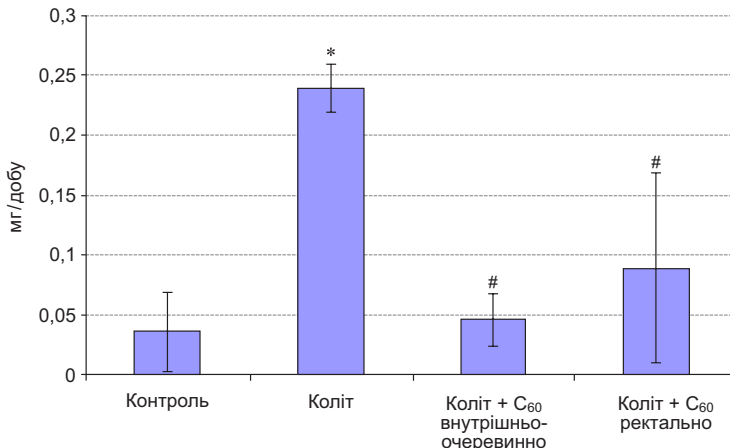


Рис. 2. Добова екскреція фенолового червоного при його внутрішньошлунковому введенні у дозі 1 мг на щура; * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, # $p \leq 0,05$ порівняно з групою Коліт

Fig. 2. Diurnal phenol red excretion after intragastrical administration at dose of 1 mg per rat; * $p \leq 0.05$ compared to control, # $p \leq 0.05$ compared to colitis

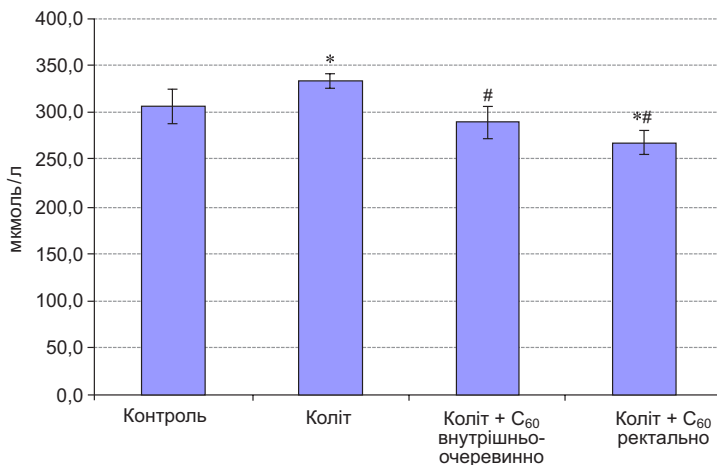


Рис. 3. Вміст креатиніну у сироватці крові щурів за умов гострого коліту та його корекції водним розчином C₆₀ фулеренів; * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, # – $p \leq 0,05$ порівняно з групою Коліт

Fig. 3. Serum blood creatinin of rats experienced acute colitis and treated with C₆₀ fullerenes aqueous solution; * – $p \leq 0.05$ compared to control, # – $p \leq 0.05$ compared to colitis

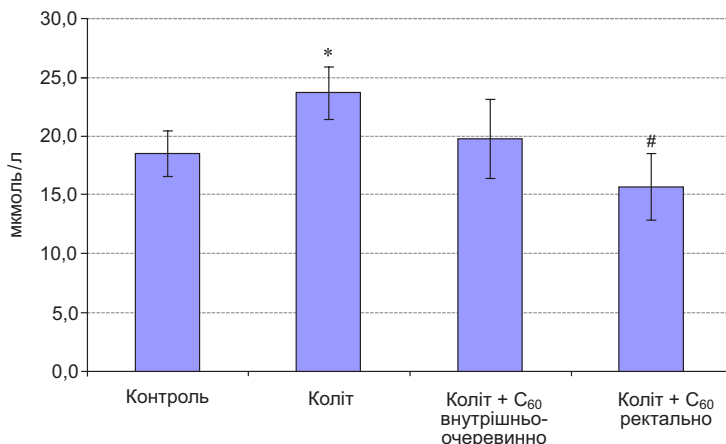


Рис. 4. Вміст сечовини у сироватці крові щурів за умов гострого коліту та його корекції водним розчином C₆₀ фулеренів; * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, # – $p \leq 0,05$ порівняно з групою Коліт

Fig. 4. Serum blood urea of rats experienced acute colitis and treated with C₆₀ fullerenes aqueous solution; * – $p \leq 0.05$ compared to control, # – $p \leq 0.05$ compared to colitis

У разі введення розчину C₆₀ фулеренів ректально випорожнення тварин здебільшого були нормальними. Під час розтину спостерігали незначні гіперемію та кровоточивість слизової оболонки товстої кишки, поодинокі виразки (не більше 2 у тварини). У частини тварин (2 з 6) слизова оболонка макроскопічних ознак пошкодження і запалення не мала. Медіана ступеня ураження товстої кишки тварин цієї групи відповідала 3 балам, що вірогідно менше за значення групи Коліт (рис. 1). Добова екскреція фенолового червоного у цій групі, як і у разі введення розчину C₆₀ фулеренів внутрішньоочеревинно, наближалася до рівня контролю (рис. 2), що доводить відновлення цілісності епітеліального бар'єру. Вміст сечовини й активності АлАТ і АсАТ у сироватці крові відновлювалися до рівня контролю, а вміст креатиніну був навіть нижчим (рис. 3–6), що може свідчити про відновлення стану печінки та нирок.

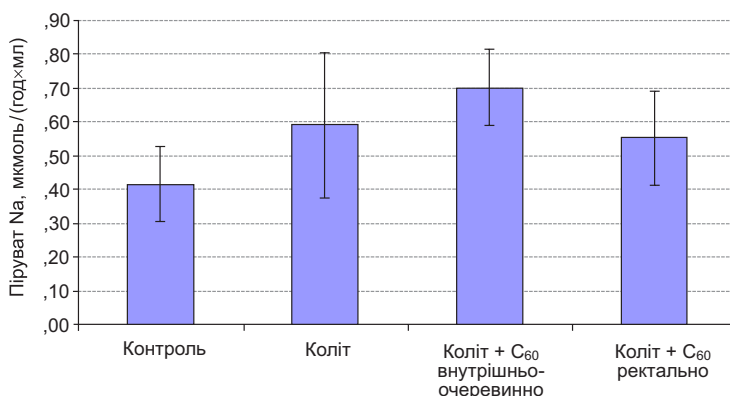


Рис. 5. Аланін-амінотрансферазна активність сироватки крові щурів за умов гострого коліту і його корекції водним розчином C₆₀ фулеренів

Fig.5. Serum blood alanine aminotransferase activity of rats experienced acute colitis and treated with C₆₀ fullerenes aqueous solution

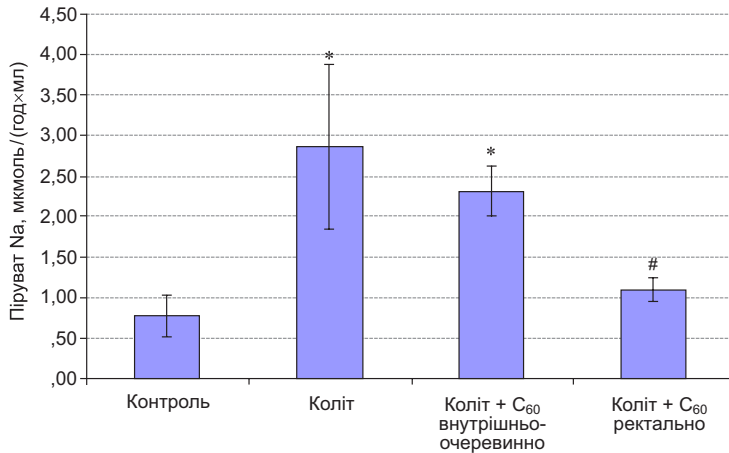


Рис. 6. Аспартат-амінотрансферазна активність сироватки крові щурів за умов гострого коліту і його корекції водним розчином C₆₀ фулеренів; * – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем, # – $p \leq 0,05$ порівняно з групою Коліт

Fig. 6. Serum blood aspartat aminotransferase activity of rats experienced acute colitis and treated with C₆₀ fullerenes aqueous solution; * – $p \leq 0.05$ compared to control, # – $p \leq 0.05$ compared to colitis

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Індукція коліту у щурів ректальним введенням оцтової кислоти є широко вживаною моделлю ЗЗК та виразкоутворення [7, 15]. Індуковане таким чином пошкодження слизової оболонки товстої кишки характеризується набряком стінки товстої кишки та виразками на її внутрішній поверхні, порушенням будови крипт, інфільтрацією слизової оболонки нейтрофілами, продукцією медіаторів запалення й активних форм кисню, тобто за гістопатологічними та біохімічними змінами модель є близькою до виразкового коліту людини [15].

У патогенезі ЗЗК одна з провідних ролей належить активним формам кисню, вони ж переважно і спричиняють пошкодження тканин. Тому природні та штучні антиоксиданти активно досліджують і застосовують як профілактику та допоміжну терапію при запальних захворюваннях кишечника, а пошуки ефективного лікувального засобу з такими властивостями тривають [17]. Значна кількість інформації, присвяченої протекторним властивостям C₆₀ фулеренів, у тому числі нейропротекторним, протипухлинним і протизапальним, базується на їхній здатності уловлювати вільні радикали і таким чином виявляти антиоксидантні властивості [24]. Дійсно, завдяки наявності на поверхні системи π-кон'югованих подвійних зв'язків між гекса- і пентагональними структурами, молекула C₆₀ фулерену має змогу акцептувати до 6 електронів і, таким чином, є високо реакційноздатною, зокрема, схильною до вступу в реакції приєднання нуклеофілів [19, 23].

Важлива роль у патогенезі виразкового коліту належить порушенню бар'єрної функції слизової оболонки кишечника і її здатності до відновлення. Вважають, що через дефекти слизової оболонки у глибокі тканини стінки кишки можуть проникати харчові та бактеріальні агенти, токсини, макромолекули, які потім запускають каскад запальних та імунних реакцій. Тому відновлення цілісності епітелію є необхідною умовою успішної терапії захворювання й уникнення системних його проявів. Активні форми кисню залучені у розвиток гіперпроникності епітелію товстої кишки через

індукцію апоптозу колоноцитів [17] і через вплив на експресію білків щільних контактів NF κ B-залежним шляхом [8]. Тому застосування антиоксидантів при ЗЗК сприяє і відновленню цілісності епітеліального бар'єру [33]. Таким чином, продемонстрований нами захисний ефект C₆₀ фулеренів щодо слизової оболонки товстої кишки може бути зумовлений саме їхніми властивостями уловлювачів вільних радикалів. Ця теза опосередковано підтверджується більш вираженим захисним ефектом C₆₀ фулеренів при ректальному введенні, порівняно з внутрішньоочеревинним, оскільки основні зміни (розвиток оксидативного стресу, запалення) зосереджені саме у слизовій оболонці товстої кишки. Крім того, за системного введення C₆₀ фулерени переважно накопичуються в печінці, особливо в першу добу після ін'єкції [30]. Отже, до слизової оболонки через системний кровотік, імовірно, надходить менша кількість C₆₀, тому спостерігаємо менш виражений ефект порівняно з безпосередньою аплікацією сполуки на уражену поверхню товстої кишки. Це припущення підтверджується даними про низьку абсорбцію C₆₀ фулеренів зі шлунково-кишкового тракту [31].

Переважним накопиченням C₆₀ фулеренів у печінці та їхнім впливом на цей орган також можна пояснити підвищений рівень трансаміназ у сироватці крові у разі внутрішньоочеревинного введення розчину C₆₀ порівняно з ректальним.

Ускладнення з боку сечовидільної системи спостерігають у 4–23 % хворих на запальні захворювання кишечника [1]. З'ясовано, що саме медіатори запалення є основним чинником, який зумовлює ураження нирок при гострому коліті [26]. Тому відновлення фільтраційної функції нирок, свідченням чого є наближення до норми вмісту сечовини і креатиніну в сироватці крові, може бути наслідком зменшення рівня запалення у товстій кишці при коліті за введення розчину C₆₀ фулеренів. Більш того, бачимо, що за ректального введення розчину C₆₀ зниження рівнів сечовини і креатиніну є значнішим порівняно з внутрішньоочеревинним його введенням, що відповідає більш вираженому протизапальному ефекту C₆₀ у разі місцевого застосування.

ВИСНОВКИ

Отже, у разі індукції гострого коліту ректальним введенням оцтової кислоти спостерігається запалення та пошкодження стінки товстої кишки і порушення цілісності її епітеліального бар'єру, зниження ниркової фільтрації та пошкодження печінки, про що свідчать підвищені рівні сироваткових трансаміназ. Введення водного розчину C₆₀ фулеренів на тлі розвиненого коліту як внутрішньоочеревинно, так і ректально частково коригує місцеві та системні зміни: має місце відновлення цілісності епітеліального бар'єра слизової оболонки товстої кишки, функції нирок та печінки. За введення розчину C₆₀ фулеренів внутрішньоочеревинно встановлено зменшення ураження слизової оболонки товстої кишки лише у частини тварин (3 з 6), а за введення C₆₀ ректально – пошкодження слизової оболонки є вірогідно слабшим у всієї групи. Тобто C₆₀ фулерени коригують локальні та системні зміни, зумовлені індукцією гострого коліту, при цьому протекторні властивості C₆₀ у разі місцевого застосування більш виражені, порівняно з їхньою системною дією.

1. *Ambruzs J.M., Walker P.D., Larsen C.P.* The histopathologic spectrum of kidney biopsies in patients with inflammatory bowel disease. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol**, 2014; 9(2): 265–270. doi: 10.2215/CJN.04660513
2. *Bamba S., Tsujikawa T., Sasaki M.* et al. Immunomodulators and immunosuppressants for Japanese patients with ulcerative colitis. **ISRN Gastroenterol**, 2011; 2011: 194324. doi: 10.5402/2011/194324

3. *Boyko T.I.* Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease. **News of Medicine and Pharmacy**, 2010; 18(341). (In Russian).
4. *Cottone M., Renna S., Modesto I., Orlando A.* Is 5-ASA still the treatment of choice for ulcerative colitis? **Curr. Drug Targets**, 2011; 12(10): 1396–1405. doi: 10.2174/138945011796818126
5. *Dresselhaus M. S., Dresselhaus G., Eklund P.C.* **Science of Fullerenes and Carbon Nanotubes: Their Properties and Applications**. New York: Academic Press, 1996, 985 p.
6. *Feuerstein J.D., Cheifetz A.S.* Ulcerative colitis: epidemiology, diagnosis, and management. **Mayo. Clin. Proc.**, 2014; 89(11): 1553–1563. doi: 10.1016/j.mayocp.2014.07.002
7. *Fitzpatrick L.R., Bostwick J.S., Renzetti M.* Antiinflammatory effects of various drugs on acetic acid induced colitis in the rat. **Agents Actions**, 1990; 30: 393–403. doi:10.1007/BF01966304
8. *Gloire G., Legrand-Poels S., Piette J.* NF-kappaB activation by reactive oxygen species: fifteen years later. **Biochem. Pharmacol.**, 2006; 72(11): 1493–1505. doi: 10.1016/j.bcp.2006.04.011
9. *Hada M., Omura K., Hirano Y., Watanabe G.* Changes in bowel mucosal permeability and wound healing after neoadjuvant chemotherapy. **Oncology Letters**, 2010; 1: 161–165. doi: 10.3892/ol_00000030
10. *Halenova T.I., Vareniuk I.M., Roslova N.M.* et al. Hepatoprotective effect of orally applied water-soluble pristine C₆₀ fullerene against CCl₄-induced acute liver injury in rats. **RSC Adv**, 2016; 6(102): 100046–100055. doi: 10.1039/C6RA20291H
11. *Kaser A., Zeissig S., Blumberg R.* Inflammatory Bowel Disease. **Annu Immunol**, 2010; 28: 573–621. doi: 10.1146/annurev-immunol-030409-101225
12. *Kolosnjaj J., Szwarc H., Moussa F.* Toxicity studies of fullerenes and derivatives. **Adv. Exp. Med. Biol.**, 2007; 620: 168–180. doi: 10.1007/978-0-387-76713-0_13
13. *Lakatos P.* Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: up or down? **World J. Gastroenterol**, 2006; 12(38): 6102–6108. doi: 10.3748/wjg.v12.i38.6102
14. *Levine J.S., Burakoff R.* Extraintestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterol. Hepatol. (N Y)**, 2011; 7(4): 235–241.
15. *Low D., Nguyen D.D., Mizoguchi E.* Animal models of ulcerative colitis and their application in drug research. **Drug Des. Devel. Ther.**, 2013; 7: 1341–1357. doi: 10.2147/DDDT.S40107
16. *Matsuda S., Matsui S., Shimizu Y., Matsuda T.* Genotoxicity of colloidal fullerene C₆₀. **Environ. Sci. Technol.**, 2011; 1: 4133–8. doi: 10.1021/es1036942
17. *Moura F.A., de Andrade K.Q., Farias dos Santos J.C.* et al. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? **Redox Biol**, 2015; 6: 617–639. doi: 10.1016/j.redox.2015.10.006
18. *Nozdrenko D., Prylutsky Yu., Ritter U., Scharff P.* Protective effect of water-soluble pristine C₆₀ fullerene in ischemia-reperfusion injury of skeletal muscle. **Int. J. Physiol. Pathophysiol**, 2014; 5(2): 97–110. doi: 10.1615/IntJPhysPathophys.v5.i2.10
19. *Piotrovskyy L.B., Kiselyov O.I.* **Fullerenes in biology (on the way to nanomedicine)**. St. Petersburg: Rostoc, 2006. 336 p. (In Russian).
20. *Prylutska S., Bilyy R., Overchuk M.* et al. Water-soluble pristine fullerenes C₆₀ increase the specific conductivity and capacity of lipid model membrane and form the channels in cellular plasma membrane. **J. Biomed. Nanotechnol**, 2012; 8: 522–527. doi:10.1166/jbn.2012.1404
21. *Prylutska S.V., Burlaka A.P., Klymenko P.P.* et al. Using water-soluble C₆₀ fullerenes in anti-cancer therapy. **Cancer Nanotechnol**, 2011; 2(1): 105–110. doi:10.1007/s12645-011-0020-x
22. *Prylutska S.V., Grynyuk I.I., Grebinyk S.M.* et al. Comparative study of biological action of fullerenes C₆₀ and carbon nanotubes in thymus cells. **Mat-wiss. u. Werkstofftech**, 2009; 40(4): 238–241. doi: 10.1002/mawe.200900433
23. *Prylutska S.V., Grynyuk I.I., Matyshevskaya O.P.* et al. Anti-oxidant properties of C₆₀ fullerenes *in vitro*. **Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct**, 2008; 16(5–6): 698–705. doi: 10.1080/15363830802317148
24. *Prylutska S.V., Matyshevskaya O.P., Prylutsky Yu.I.* et al. Biological effects of C₆₀ fullerenes *in vitro* and in a model system. **Mol. Cryst. Liq. Cryst**, 2007; 468(1): 265–274. doi: 10.1080/15421400701230105
25. *Prylutsky Yu. I., Petrenko V. I., Ivankov O. I.* et al. On the origin of C₆₀ fullerene solubility in aqueous solution. **Langmuir**, 2014; 30(14): 3967–3970. doi: 10.1021/la404976k

26. Ranganathan P., Jayakumar C., Manicassamy S., Ramesh G. CXCR2 knockout mice are protected against DSS-colitis-induced acute kidney injury and inflammation. **Am. J. Physiol. Renal. Physiol.**, 2013; 305: F1422–F1427. doi: 10.1152/ajprenal.00319.2013
27. Ritter U., Prylutskyy Yu. I., Evstigneev M. P. et al. Structural features of highly stable reproducible C₆₀ fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques. **Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct.**, 2015; 23(6): 530–534. doi: 10.1080/1536383X.2013.870900
28. Sehirlı A., Tathdede E., Yaksel M. et al. Protective effects of alfa-lipoic acid against oxidative injury in TNBS-induced colitis. **Erciyes Medical Journal**, 2009; 31(1): 15–26.
29. Sergijenko V.I., Bondareva I.B. **Mathematical statistics in clinical trials**. Moscow: GEOTAR Medicine, 2006. 304 p. (In Russian).
30. Sumner S.C.J., Snyder R.W., Wingard C. et al. Distribution and biomarkers of carbon-14-labeled fullerene C₆₀ ([¹⁴C(U)]C₆₀) in female rats and mice for up to 30 days after intravenous exposure. **J. Appl. Toxicol.**, 2015; 35: 1452–1464. doi: 10.1002/jat.3110
31. Takahashi M., Kato H., Doi Y. et al. Sub-acute oral toxicity study with fullerene C₆₀ in rats. **J. Toxicol. Sci.**, 2012; 37(2): 353–361. doi: 10.2131/jts.37.353
32. Tolkachov M., Sokolova V., Korolovych V. et al. Study of biocompatibility effect of nanocarbon particles on various cell types *in vitro*. **Mat-wiss. u. Werkstofftech.**, 2016; 47(2–3): 216–221. doi: 10.1002/mawe.201600486
33. Vezza T., Rodríguez-Nogales A., Algieri F. et al. Flavonoids in Inflammatory Bowel Disease: A Review. **Nutrients**, 2016; 8(4): 211. doi: 10.3390/nu8040211

THE IMPACT OF WATER-SOLUBLE C₆₀ FULLERENES ON THE DEVELOPMENT OF ACUTE COLITIS IN RATS

H. M. Kuznietsova, N. V. Dziubenko, I. O. Chereschuk, T. V. Rybalchenko

*Taras Shevchenko National University, 64/13, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine
e-mail: biophys@gmail.com*

Anti-inflammatory drugs are traditionally applied for the treatment of acute colitis of various etiologies. However, they have several disadvantages due to intestinal and extraintestinal complications and low efficiency. Therefore, a search for new agents which would be effective at colonic inflammation is relevant. Potential anti-inflammatory and protective properties of the water-soluble C₆₀ fullerenes on rat acute ulcerative colitis model were assessed. Acute colitis was induced by rectal administration of 0.5 ml of 10% acetic acid solution. C₆₀ fullerenes (0.5 mg/kg body weight) in the stable aqueous solution were administered intraperitoneally or rectally at 24 and 48 h after the colitis induction. Animals were euthanized at 24 h after the last administration. State of the colon was evaluated macroscopically by 10-grade scale, and the colon epithelial barrier permeability was assessed for diurnal phenol red excretion. The levels of serum blood transaminases, creatinine and urea were also measured for liver and kidney state assessment. Colonic lesions were reduced in some animals (3 of total number of 6) by C₆₀ fullerenes administered intraperitoneally. Moreover, mucosal damage was significantly weaker in all animals under C₆₀ fullerenes rectal administration (3 grades vs 5). C₆₀ fullerenes applied by both methods partially corrected local and systemic changes: colon mucosa epithelial barrier and kidney and liver functions were restored. Thus, C₆₀ fullerenes correct local and systemic consequences of the acute colitis. The protective effects of C₆₀ fullerenes are more pronounced at topical administration compared with the intraperitoneal one.

Keywords: acute colitis, treatment, C₆₀ fullerenes.

Одержано: 21.12.2016