

В. С. Недзвецкий^{1,2}✉, В. Я. Гассо¹, С. В. Єрмоленко¹, І. А. Гассо¹

¹*Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара,
просп. Гагаріна, 72, м. Дніпро, Україна, 49010*

²*Бінгьольський університет, район Салах ад дін ібн Аюб,
вул. Університетська No 1, Бінгьол, Туреччина, 12000*

ВПЛИВ ПОТЕНЦІЙНОГО НАНОЗАБРУДНЮВАЧА ФУЛЕРЕНУ C60 НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ВІДПОВІДІ У ССАВЦІВ

Прогресивний розвиток технологій у виготовленні та застосуванні наноматеріалів майже у всіх сферах життя людини обумовлює надходження в організм та акумуляцію наночасток в клітинах. Визначення ризиків використання наноматеріалів та механізмів їх цитотоксичності є надзвичайно актуальним питанням сучасності. Фулерен C60 є найбільш розповсюдженим наноматеріалом, що пропонується для використання з метою пригнічення пухлинного росту, мікробних інфекцій та цілеспрямованої доставки ліків. Однак існують суперечливі дані про цитотоксичні та/або цитопротекторні ефекти цього фулерену. У представленому дослідженні вивчено дію фулерену C60 на глюкозний метаболізм, склад мікробіоти кишечника та кислотно-відновний баланс у щурів. Показано, що розчинений у рослинній олії фулерен C60 (2 мг/кг/добу) індукує інсулінову резистентність, активує перекисне окиснення ліпідів у мозку тварин, але не в печінці, за умов хронічного впливу. До того ж, фулерен C60 індукував зміни складу таксонів мікробіоти кишечника. Визначені порушення можуть бути причиною зростання продукції інсуліну як адаптивної відповіді на потреби метаболічної енергії за умов локального окисного стресу у нервовій тканині. У той же час зростання резистентності до інсуліну може бути обумовлене неспецифічними молекулярними ушкодженнями біомембран і макромолекул, включаючи рецептори інсуліну. У зв'язку з цим пояснення молекулярного механізму індукованої фулереном C60 інсулінорезистентності разом з ефектом застосованої дози фулерену буде представляти особливий інтерес у майбутніх дослідженнях.

Ключові слова: печінка, мозок, глюкоза, інсулін, інсулінорезистентність.

V. S. Nedzvetsky^{1,2}✉, V. Y. Gasso¹, S. V. Yermolenko¹, I. A. Hasso¹

¹*Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine*

²*Bingöl University, Bingöl, Turkey*

INFLUENCE OF POTENTIAL NANOPOLLUTANT FULLERENE C60 ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSES IN MAMMALS

The progressive development of technologies in the manufacture and application of nanomaterials in almost all spheres of human life causes penetration in an organism and accumulation of nanoparticles in its cells. Determinations of the risk of using nanomaterials and mechanisms of their cytotoxicity are extremely relevant

✉ Tel.: +38099-783-33-25. E-mail: nedzvetskyvictor@ukr.net

DOI: 10.15421/442106

current problems that should be studied. Fullerene C60 is the most widespread nanomaterial proposed to use inhibition of tumour growth, microbial infections, and purposeful drug delivery. However, there are contradictory data on cytotoxic and/or cytoprotective effects of this fullerene. In the present paper, the action of fullerene C60 on glucose metabolism, the composition of the intestinal microbiota, and an acid-reducing balance were studied in rats. It is shown that fullerene C60 dissolved in olive oil (2 mg/kg/day) induces insulin resistance, activates the peroxidation of lipids in the brain of animals, but not in the liver, under conditions of chronic influence. In addition, fullerene C60 induced changes in the composition of the intestinal microbiota in rats. Determined disorders may be a cause of insulin production, as an adaptive response to the needs of metabolic energy under local oxidative stress in the nerve tissue. At the same time, the growth of insulin resistance can be induced by nonspecific molecular damage in biomembranes and macromolecules, including insulin receptors. In this regard, the explanation of the molecular mechanisms of insulin resistance induced by fullerene C60 together with the effect of fullerene dose will be of particular interest in further studies.

Key words: liver, brain, glucose, insulin, insulin resistance.

Вступ

Дослідження біологічних ефектів наночастинок має важливе значення для оцінки ризику використання наноматеріалів так само, як і екологічні ризики забруднення наночастиками навколишнього середовища. Це стосується токсичності фулерену C60 та його похідних, яка серед інших факторів залежить від розміру наночастинок та способу введення [30]. Фулерен C60 наразі виробляється та використовується у композитних матеріалах, інгібіторах росту мікроорганізмів, молекулярних системах-носіях лікарських засобів тощо. Основними шляхами його потрапляння в організм є інгаляційний, пероральний та черезшкірний. Але небезпека впливу фулерену C60 на живі організми майже не досліджена [2, 20]. Розроблено методологічні стратегії застосування у живих системах шляхом використання біосумісних розчинників, зокрема рослинних олій [6, 8]. Показано, що на розчинність фулерену C60 впливає рівень ненасиченості жирних кислот в оліях, де розчинність та біодоступність C60 зростають із зниженням ступеня насиченості [8]. Для перорального введення фулерену C60 у щурів зазвичай використовували оливкову олію [3]. Однак у тварин вживання рослинних олій може спричинити стеатоз печінки [11]. Крім того, фетуйн-А, глюкопротеїд, що виділяється як печінкою, так і жировою тканиною [35], може викликати резистентність до інсуліну в результаті перехресної взаємодії печінки та підшлункової залози [13]. Як потенційний поглинач вільних радикалів фулерен C60 здатний зменшувати запалення печінки у щурів [17]. З іншого боку, існує значне число спостережень, в яких виявлені прооксидантні ефекти фулерену C60 [18]. Використання різних доз, способів розчинення фулеренів, виробництво похідних фулеренів та різні шляхи їх введення обумовлюють відомі на цей час багатоспрямовані ефекти фулерену C60 у живих організмах. Таким чином, визначення про- та антиоксидантних ефектів наночастинок фулерену C60 є принципово важливим для біомедичної науки та практики, для оцінки негативних ризиків як потенційного забруднювача навколишнього середовища.

Антиоксидантні властивості фулерену C60 можуть бути корисними при взаємодії з компонентами оливкової олії. Однак фулерен C60 може активувати внутрішньоклітинні шляхи регуляції метаболізму та вести до колапсу протилежно спрямованих клітинних реакцій на життєво критичні сигнали, зокрема, коливання вмісту глюкози та продукції інсуліну [9]. На додаток, фулерен C60 спроможний модулювати прозапальну відповідь різних типів клітин і тим самим стимулювати надмірну клітинну відповідь на зовнішні стимули [32, 33, 36]. Наночастинки фулерену C60 можуть виявляти множинні токсичні ефекти. Зокрема, хронічна експозиція фулерену C60 викликала множинні прояви поведінкових аномалій у дорослих даніо реріо (*Danio rerio* (Hamilton, 1822)) [32]. Пригнічення клітинної життєздатності було також підтверджено в окремих культурах *in vitro* [18]. Таким чином, екотоксичність фулерену C60 щодо різних таксонів тварин потребує ретельного дослідження і розуміння ризиків забруднення довкілля наночастками як продуктами сучасних технологій.

Метою нашого дослідження була оцінка цитопротекторних та/або цитотоксичних ефектів фулерену C60, розчиненого в оливковій олії, шляхом визначення показників метаболізму глюкози та співвідношення таксонів кишкової мікробіоти у щурів.

Матеріали та методи досліджень

Усі процедури з тваринами були проведені відповідно до Директиви 2010/63/ЄС та схвалені Комісією з біоетики Бінгольського університету (Туреччина) та Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара. Для експерименту використовували щурів лінії Wistar (*Rattus norvegicus*) самців, віком 4–4,5 місяці, масою $317,91 \pm 5,16$ г. Тварин акліматизували при 22 ± 1 °C протягом 3 діб з 12-годинними періодами світло/темрява. Щури випадковим чином поділені на три групи по 5 особин. Щурів контрольної групи (К) годували протягом дванадцяти тижнів стандартним комерційним кормом. Щурів групи (О) 12 тижнів годували стандартним кормом, збагаченим на 5 % (20:1 об./об.) оливковою олією (Olitalia, Italy) та інтенсивно перемішаним протягом 10 хв. Їжу готували щотижня, середня концентрація олії складала $5,30 \pm 0,147$ %. Щурів групи (О + C60) годували оливковою олією з фулереном C60 за тією самою системою. Фулерен C60 попередньо розчиняли в олії (1,0 мг/мл), що призводило до щоденного споживання фулерену приблизно 5 мг/кг маси тварини. Така доза визначається в літературі як помірна, на відміну від добової дози 1 мг/кг, що вважається низькою [3]. Через високу нерозчинність розчин олія + фулерен C60 перемішували протягом тижня в пляшці темного скла під алюмінієвою фольгою, щоб уникнути світла [7]. Отриманий розчин мав вишнево-червоний колір, характерний для насиченого розчину фулерену C60 у рослинній олії [21]. Середня концентрація олії + фулерену C60 у їжі становила $5,32 \pm 0,223$ %. Протягом експерименту щотижня вимірювали споживання їжі, води та масу тіла. Наприкінці експерименту після діетил-ефірного наркозу тварин декапітували. Свіжозібрані зразки крові, тканин та калу збирали та зберігали при температурі -80 °C до наступного аналізу.

Зразки крові відбирали щотижня, прорізаючи кінчик хвоста щура, після чого оцінювали рівень глюкози за допомогою глюкометра (Akku-Check, Mangeim, Germany). Уміст інсуліну крові вимірювали імуноферментним

методом за допомогою комерційного тесту (Insulin ELISA Kit. 10-1113-10, Merckodia AB, Uppsala, Sweden).

Уміст загального білка визначали методом Бредфорда [5]. Рівень перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) оцінювали шляхом визначення малонового діальдегіду (MDA) та 4-гідроксіалкенів на основі реакції N-метил-2-феніліндолу з вищезгаданими кінцевими продуктами ПОЛ при 45 °C за допомогою набору LPO-586 (Bioxitech, США).

Визначення мікробіоти проводили за екстрагованою надчистою геномною ДНК зі зразків фекалій за допомогою комплекту мініпрепаратів ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep Kit (D4304, Zymo Research Corporation, Ірвін, США). Кількісно визначали РНК, перевіряли її чистоту та стан за допомогою нанокрапель. Синтез кДНК проводили на 1 мкг РНК за допомогою набору для синтезу кДНК (BIO-65053) (BiolineCompany). ДНК була виділена та очищена згідно з протоколом виробника. Праймери (Sentagen, Туреччина) з послідовністю згідно з базою даних NCBI (Національний центр інформації про біотехнології, Bethesda MD, США). Вихід ДНК у зразках вимірювали за допомогою флюорометричного кількісного визначення Qubit (флюорометр Qubit 4, Invitrogen™, США), концентрація якого варіювала від 100 до 500 нг/мкл. Зразки розчиняли у воді, вільній від ДНКаз та РНКаз, та аналізували методом ПЛР у реальному часі (qRT-PCR).

Для оцінки антиоксидантної здатності фулерену C60 окислювальний стан печінки та мозку визначали шляхом вимірювання тканинного прооксидантно-антиоксидантного балансу (ПАБ) та концентрацій малондіальдегіду (MDA) + 4-гідроксиалкени (4-ГА). Рівні MDA та 4-ГА визначали модифікованим методом Gerard-Monnier et al. [12]. Зразки центрифугували (13000 g, 15 хв, 4 °C), відокремлювали супернатант та вимірювали поглинання за довжиною хвилі 580 нм у супернатантах у зчитувачі мікропланшетів (WALLAC 1420-Victor2 Multilabel Counter, PerkinElmer, США). Концентрації MDA та MDA+4-ГА визначали за допомогою відповідних стандартних кривих.

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою дисперсійного аналізу (ANOVA) з наступним пост-хок тестом Тукі і використанням Origin, 2019 (OriginLab Corporation, США). Дані відображені як середнє значення \pm помилка середнього принаймні п'яти незалежних експериментів. Значення $p < 0,05$ прийняті як статистично значущі.

Результати та обговорення

Додавання олійної суміші спричинило значне збільшення тижневого приросту маси тіла та зменшення споживання їжі та води у щурів групи O порівняно з контролем (рис. 1).

Відомо, що вживання рослинної олії призводить до зменшення споживання їжі та води, а також супроводжується поступовим збільшенням маси тіла [11]. Оливкова олія являє собою енергетично високоефективну їжу, яка в невеликій кількості задовольняє енергетичні потреби та надає метаболічну енергію, вуглеводи та метаболічну воду [31]. Введення фулерену C60 до раціону не змінило споживання їжі та води у групі щурів O + C60 порівняно з тваринами, яких годували лише олією, але в той же час додавання фулерену C60 суттєво гальмувало збільшення маси тіла. Враховуючи той факт, що не було значних змін у споживанні олії між щурами з груп O та O + C60, зменшення приросту маси тіла було наслідком дії фулерену C60, який може впливати на обмін глюкози.

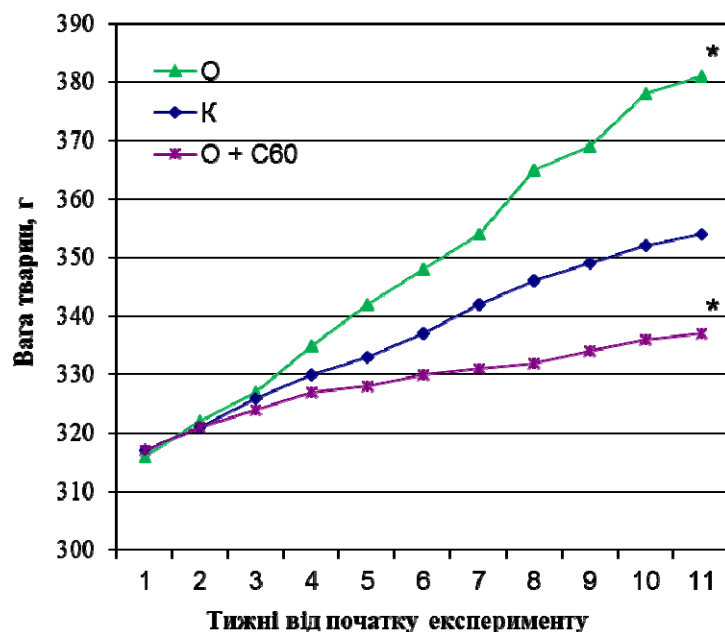


Рис. 1. Вага тварин контрольної групи (К), групи тварин, які споживали оливкову олію (О) та оливкову олію + С60 фулерен (О + С60);
* $p < 0,05$ відносно контролю

Результати визначення глюкози крові показали, що додавання олії в їжу не впливало на цей показник. Однак додавання фулерену С60 призвело до зростання рівня глюкози (рис. 2), яке спостерігали з четвертого до останнього експериментального тижня.

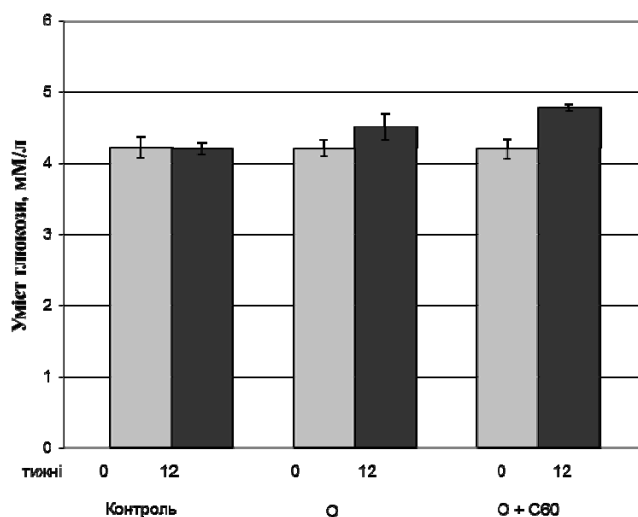


Рис. 2. Уміст глюкози в крові тварин контрольної групи (К), тварин, які споживали оливкову олію (О) та оливкову олію з фулереном С60 (О + С60)

Подібно до впливу фулерену на вміст глюкози виявлено зростання вмісту інсуліну в групі тварин O + C60 в останні тижні експерименту (рис. 3). Зростання вмісту інсуліну ($p < 0,01$) у тварин, які споживали фулерен C60 в останній тиждень дослідження, було майже на 50 % вищим за тварин групи контролю та тварин, які споживали оливкову олію.

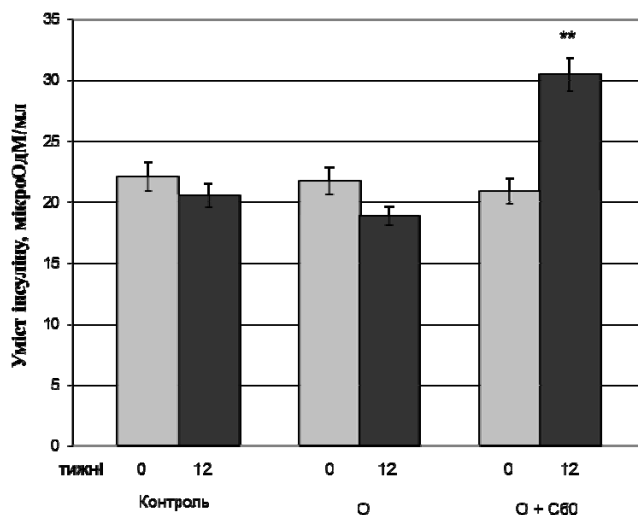


Рис. 3. Уміст інсуліну в крові тварин контрольної групи (К) та тварин, які споживали оливкову олію (O) та олію з фулереном C60 (O + C60); ** $p < 0,01$

Таким чином, зменшення приросту маси тіла у тварин з групи O + C60 є можливим результатом інсулінорезистентності, спричиненої фулереном C60. Існують дані, що зменшення циркулюючого інсуліну знижає приріст маси тіла у щурів [24] і що модифікація рецептора інсуліну у мишей призводить до значного зниження маси тіла [4]. Вплив фулерену C60 на погіршення гомеостазу глюкози складно пояснити, особливо з огляду на наявні дані про його корисний вплив в окремих діабетичних моделях [16].

У тварин всіх груп досліджували вплив фулерену C60 на окисно-відновний баланс з огляду на протекторний або цитотоксичний ефект наночасток C60 у печінці та мозку щурів. Отримані результати показали відсутність змін у клітинах печінки. В той же час у тканині головного мозку були виявлені статистично достовірне зростання вмісту кінцевих продуктів ПОЛ (рис. 4).

Враховуючи результати впливу фулерену C60 на метаболізм глюкози, ми досліджували мікробіом кишечника як важливого регулятора гомеостазу глюкози [27]. Отримані результати показали, що споживання оливкової олії та оливкової олії з фулереном C60 незначно змінювало загальну структуру мікробіоти кишечника *in vivo*. Однак було визначено пригнічення декількох таксонів мікробіоти в групі тварин, які споживали фулерен C60, зокрема бактеріюідів, таких як *Prevotella*. Бактерії родів *Clostridium*, *Lactobacillus* та *Ruminococcus* відносяться до відділу Firmicutes. Бактерії відділу Bacteroidetes широко розповсюджені в природі, включаючи кишечник тварин. До цього відділу відносяться роди *Prevotella*, *Bacteroides* тощо [14].

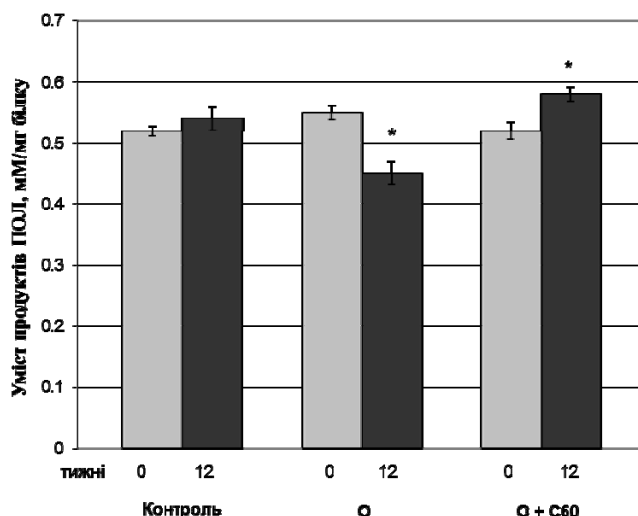


Рис. 4. Уміст продуктів перекисного окислення ліпідів у мозку тварин контрольної групи (К), які споживали оливкову олію (О) та олію з фулереном С60 (О + С60); * $p < 0,05$

Склад кишкової мікрофлори показав, що порівняно з контрольними тваринами і олія, і олія з фулереном знижували частку Bacteroidetes (46,3 % у контрольній групі, 41,8 % та 41,5 % у групах О та О + С60 відповідно) та збільшували кількість Firmicutes (36,1 % у контрольній групі, 43,7 % та 43,6 % у групах О та О + С60 відповідно). Збільшення співвідношення Firmicutes/Bacteroidetes пов'язане з ожирінням та погіршенням толерантності до глюкози [25]. Однак у нашому експерименті це, очевидно, було результатом дії олії, а не фулерену С60, оскільки не було ніякої різниці у співвідношенні Firmicutes/Bacteroidetes між тваринами груп О та О + С60. Склад мікрофлори кишечника на рівні роду показав, що чисельність *Prevotella* зменшилася під впливом фулерену С60 (20,3 %) порівняно з контрольною (23,3 %) та олійною (23 %) групами (табл. 1).

Таблиця 1

Частка мікроорганізмів (%) у кишечнику експериментальних тварин з урахуванням таксонів з понад 0,5 % у всіх зразках

Таксон мікроорганізмів	Контроль	Оливкова олія	Оливкова олія + фулерен С60
<i>Ruminococcus</i>	3,1	3,3	5,8
<i>Clostridium</i>	10,4	5,7	8,5
<i>Lactobacillus</i>	2,7	10,5	5,1
<i>Bacteroides</i>	2,4	2,5	2,1
<i>Prevotella</i>	23,4	23,2	17,2

Ці бактерії є важливими виробниками сукцинатів, які раніше були пов'язані з поліпшенням глікемічного контролю [22], тому індуковане фулереном С60 зниження частки *Prevotella* може бути пов'язане з порушенням

гомеостазу глюкози. Однак зміни мікрофлори кишечника не можуть розглядатись як єдине можливе пояснення погіршення гомеостазу глюкози, викликаного фулереном. Жирове переродження печінки та підшлункової залози також спроможні викликати резистентність до інсуліну [13, 35]. Крім того, діючи як антиліполітичний гормон, інсулін у жировій тканині знижує активність гормоночутливої ліпази, необхідної для вивільнення накопичених жирних кислот [19]. З розвитком інсулінорезистентності більше вільних жирних кислот можуть залишити жирові відкладення і потрапити до кровообігу, поглинатися печінкою та скелетними м'язами [34].

Однією з найбільш актуальних біологічних особливостей фулерену C60 є його здатність діяти як окислювально-відновно-активна молекула, здатна зменшувати широкий спектр активних форм кисню [10, 29]. Встановлено, що фулерени та їх похідні демонструють високу реакційну здатність щодо радикалів [23], особливо супероксиду [1], гідроксильного радикалу [15], пероксидного радикалу [37] та оксиду азоту [28]. Прооксидантно-антиоксидантний баланс – це стан динамічного балансу між виробленими та очищеними вільними радикалами. Більш високі значення окиснення білкових продуктів вказують на дисбаланс між окислювачами та антиоксидантами з переходом до окисного стресу.

Фулерен C60 швидко поглинається тканинами і виводиться з сечею та екскрементами. Він також здатний перетинати гематоенцефалічний бар'єр [26]. Отримані в нашому дослідженні результати показали, що середньодобове споживання фулерену C60 у кількості $4,13 \pm 0,09$ мг/кг на добу призвело до його тканиноспецифічної біоаккумуляції, яка була найбільшою в печінці ($35,40 \pm 2,81$ мкг/г) та дещо меншою у мозку ($0,35 \pm 0,03$ мкг/г).

Визначена вища біоаккумуляція фулерену C60 у печінці та головному мозку, імовірно, є результатом використання оливкової олії. Якщо це припущення правильне, то зрозуміло, що вибір рослинної олії має значення для біосумісного розчинення фулеренів та біологічного використання наночасток фулерену C60.

Результати визначення кінцевих продуктів ПОЛ у печінці та мозку показали різну дію фулерену C60 залежно від типу тканини. Відсутні зміни вмісту кінцевих продуктів ПОЛ у печінці, але в мозку рівень ПОЛ збільшувався під впливом фулерену C60 (рис. 4). Таким чином, певні концентрації фулерену C60, розчиненого в оливковій олії, можуть спричинити порушення окисно-відновного балансу в нервовій тканині. Відсутність змін рівня ПОЛ у печінці може бути пов'язана з потужною антиоксидантною системою гепатоцитів, спроможною компенсувати цитотоксичні ефекти певної дози фулерену C60. У той же час клітини нервової тканини мають менш потужну антиоксидантну систему, значно вищий вміст ненасичених жирних кислот та високий показник споживання кисню, що в сукупності обумовлює високу чутливість клітин мозку до окисних ушкоджень.

Враховуючи той факт, що печінка є головним органом акумуляції глюкози і регуляції її метаболізму, отримані результати свідчать про високий адаптаційний потенціал гепатоцитів до цитотоксичних ефектів наночасток фулерену C60. З іншого боку, існують ризики цитотоксичних ушкоджень нервової тканини наночастками фулерену C60. Оскільки астроцити здатні синтезувати та акумулювати глікоген подібно до гепатоцитів, визначені зміни вмісту інсуліну та показників інсулінової резистентності можуть бути наслідком цитотоксичної дії наночасток фулерену C60 на саме астроцити. Ці гліальні клітини формують гематоенцефалічний бар'єр і можуть бути першою ланкою біоаккумуляції

фулерену C60 в мозку. До того ж, астроцити синтезують та секретують широке коло цитокінів, які здатні регулювати метаболічну активність різних типів клітин, і таким чином модулювати рівень споживання та утилізації глюкози. Визначений у нашому дослідженні факт зростання рівня інсуліну у тварин, які отримували фулерен C60, дозволяє припустити функціональний зв'язок між астроцитарною реакцією та продукцією інсуліну підшлунковою залозою. Однак це припущення потребує експериментального підтвердження.

Фулерен C60 індукує зміни складу мікробіоти кишечника. Порівняно з тваринами, які споживали тільки олію, фулерен C60 не змінював показники окисного стресу у печінці, але провокував зростання перекисного окислення ліпідів у мозку. До того ж, фулерен C60 індукував зростання рівня інсуліну. Зростання резистентності до інсуліну може бути обумовлене неспецифічними молекулярними ушкодженнями біомембран і макромолекул, включаючи рецептори інсуліну. У зв'язку з цим пояснення молекулярного механізму індукованої фулереном C60 інсулінорезистентності разом з ефектом застосованої дози фулерену буде представляти особливий інтерес у майбутніх дослідженнях.

Бібліографічні посилання

1. [Ali S.S., Hardt J.I., Quick K.L., Kim-Han J.S., Erlanger B.F., Huang T.T., Epstein C.J., Dugan L.L. A biologically effective fullerene \(C60\) derivative with superoxide dismutase mimetic properties // Free Radical Biology and Medicine. 2004. 37\(8\). 1191–1202.](#)
2. [Aschberger K., Johnston H.J., Stone V., Aitken R.J., Tran C.L., Hankin S.M., Peters S.A., Christensen F.M. Review of fullerene toxicity and exposure – appraisal of a human health risk assessment, based on open literature // Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2010. 58\(3\). 455–473.](#)
3. [Baati T., Bourasset F., Gharbi N., Njim L., Abderrabba M., Kerkeni A., Szwarc H., Moussa F. The prolongation of the lifespan of rats by repeated oral administration of \[60\]fullerene // Biomaterials. 2012. 33\(19\). 4936–4946.](#)
4. [Blucher M., Michael M.D., Peroni O.D., Ueki K., Carter N., Kahn B.B., Kahn C.R. Adipose tissue selective insulin receptor knockout protects against obesity and obesity-related glucose intolerance // Developmental Cell. 2002. 3\(1\). 25–38.](#)
5. [Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochemistry. 1976. 72. 248–254.](#)
6. [Braun T., Mark L., Ohmacht R., Sharma U. Olive oil as biocompatible solvent for pristine C60 // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. 2007. 15\(4\). 311–314.](#)
7. [Cataldo F. Interaction of C\(60\) fullerene with lipids // Chemistry and Physics of Lipids. 2010. 163, 524–529.](#)
8. [Cataldo F., Braun T. The solubility of C60 fullerene in long chain fatty acid esters // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. 2007. 15\(5\). 331–339.](#)
9. [Demir E., Nedzvetsky V., Ağca C.A., Kirici M. Pristine C60 fullerene nanoparticles ameliorate hyperglycemia induced disturbances via modulation of apoptosis and autophagy flux // Neurochemical Research. 2020. 45. 2385–2397.](#)
10. [Dugan L.L., Gabrielsen J.K., Yu S.P., Lin T.S., Choi D.W. Buckminsterfullerenol free radical scavengers reduce excitotoxic and apoptotic death of cultured cortical neurons // Neurobiology of Disease. 1996. 3\(2\). 129–135.](#)
11. [Durašević S., Nikolić G., Zaletel I., Grigorov I., Memon L., Mitić-Čulafić D., Vujović P., Đorđević J., Todorović Z. Distinct effects of virgin coconut oil](#)

- [supplementation on the glucose and lipid homeostasis in non-diabetic and alloxan-induced diabetic rats // Journal of Functional Foods. 2020. 64. 103601.](#)
12. [Gerard-Monnier D., Erdelmeier I., Regnard K., Moze-Henry N., Yadan J.C., Chaudiere J.](#) Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation // [Chemical Research in Toxicology. 1998. 11\(10\). 1176–1183.](#)
 13. [Gerst F., Wagner R., Kaiser G., Panse M., Heni M., Machann J., Bongers M.N., Sartorius T., Sipos B., Fend F., Thiel C., Nadalin S., Konigsrainer A., Stefan N., Fritsche A., Haring H.U., Ullrich S., Siegel-Axel D.](#) Metabolic crosstalk between fatty pancreas and fatty liver: effects on local inflammation and insulin secretion // [Diabetologia 2017. 60\(11\). 2240–2251.](#)
 14. [Ghera R., Woese C.R.](#) A partial phylogenetic analysis of the «flavobacter-bacteroides» phylum: basis for taxonomic restructuring // [Systematic and Applied Microbiology. 1992. 15\(4\). 513–521.](#)
 15. [Guldi D.M., Asmus K.D.](#) Activity of water-soluble fullerenes towards OH-radicals and molecular oxygen // [Radiation Physics and Chemistry. 1999. 56\(4\). 449–456.](#)
 16. [Halenova T., Raksha N., Vovk T., Savchuk O., Ostapchenko L., Prylutskyi Y., Kyzyma O., Ritter U., Scharff P.](#) Effect of C60 fullerene nanoparticles on the diet induced obesity in rats // [International Journal of Obesity. 2018. 42\(12\). 1987–1998.](#)
 17. [Halenova T.I., Vareniuk I.M., Roslova N.M., Dzerzhynsky M.E., Savchuk O.M., Ostapchenko L.I., Prylutskyi Y.I., Ritter U., Scharff P.](#) Hepatoprotective effect of orally applied water-soluble pristine C60 fullerene against CCl4-induced acute liver injury in rats // [RSC Advances. 2016. 6. 100046–100055.](#)
 18. [Harhaji L., Isakovic A., Raicevic N., Markovic Z., Todorovic-Markovic B., Nikolic N., Vranjes-Djuric S., Markovic I., Trajkovic V.](#) Multiple mechanisms underlying the anticancer action of nanocrystalline fullerene // [European Journal of Pharmacology. 2007. 568\(1-3\). 89–98.](#)
 19. [Jaworski K., Sarkadi-Nagy E., Duncan R.E., Ahmadian M., Sul H.S.](#) Regulation of triglyceride metabolism. IV. Hormonal regulation of lipolysis in adipose tissue // [American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology. 2007. 293\(1\). G1–4.](#)
 20. [Johnson D.R., Methner M.M., Kennedy A.J., Steevens J.A.](#) Potential for occupational exposure to engineered carbon-based nanomaterials in environmental laboratory studies // [Environmental Health Perspectives. 2010. 118\(1\). 49–54.](#)
 21. [Konopelko L.A., Krilov A.N., Lopushanskaya E.M., Popov O.G.](#) Adducts formation at fullerenes C60 and C70 dissolution in essential oils // [Russian Journal of General Chemistry. 2014. 84. 205–208.](#)
 22. [Kovatcheva-Datchary P., Nilsson A., Akrami R., Lee Y.S., De Vadder F., Arora T., Hallen A., Martens E., Bjorck I., Backhed F.](#) Dietary fiber-induced improvement in glucose metabolism is associated with increased abundance of *Prevotella* // [Cell Metabolism. 2015. 22\(6\). 971–982.](#)
 23. [Krusic P.J., Wasserman E., Keizer P.N., Morton J.R., Preston K.F.](#) Radical reactions of c60 // [Science. 1991. 254\(5035\). 1183–1185.](#)
 24. [Larue-Achagiotis C., Le Magnen J.](#) Effects of a diazoxide inhibition of insulin release on food intake of normal and hyperphagic hypothalamic rats // [Pharmacology Biochemistry & Behavior // 1978. 9\(6\). 717–720.](#)

25. [Ley R.E., Turnbaugh P.J., Klein S., Gordon J.I. Human gut microbes associated with obesity // Nature. 2006. 444\(7122\). 1022–1023.](#)
26. [Lin C.M., Lu T.Y. C60 fullerene derivatized nanoparticles and their application to therapeutics // Recent Patents on Nanotechnology. 2012. 6\(2\). 105–113.](#)
27. [Martin A.M., Yabut J.M., Choo J.M., Page A.J., Sun E.W., Jessup C.F., Wesselingh S.L., Khan W.I., Rogers G.B., Steinberg G.R., Keating D.J. The gut microbiome regulates host glucose homeostasis via peripheral serotonin // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2019. 116\(40\). 19802–19804.](#)
28. [Mirkov S.M., Djordjevic A.N., Andric N.L., Andric S.A., Kostic T.S., Bogdanovic G.M., Vojinovic-Miloradov M.B., Kovacevic R.Z. Nitric oxide-scavenging activity of polyhydroxylated fullerene, C60\(OH\)24 // Nitric Oxide. 2004. 11\(2\). 201–207.](#)
29. [Nedzvetsky V., Andrievsky G., Chachibaia T., Tykhomyrov A. Differences in antioxidant/protective efficacy of hydrated C60 fullerene nanostructures in liver and brain of rats with streptozotocin-induced diabetes // Journal of Diabetes & Metabolism. 2012. 3\(8\). 1000215.](#)
30. [Nielsen G.D., Roursgaard M., Jensen K.A., Poulsen S.S., Larsen S.T. In vivo biology and toxicology of fullerenes and their derivatives // Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology. 2008. 103\(3\). 197–208.](#)
31. [Rutkowska J., Sadowska E.T., Cichon M., Bauchinger U. Increased fat catabolism sustains water balance during fasting in zebra finches // Journal of Experimental Biology. 2016. 219\(Pt 17\). 2623–2628.](#)
32. [Sarasamma S., Audira G., Juniardi S., Sampurna B.P., Lai Y.H., Hao E., Chen J.R., Hsiao C.D. Evaluation of the effects of carbon 60 nanoparticle exposure to adult zebrafish: a behavioral and biochemical approach to elucidate the mechanism of toxicity // International Journal of Molecular Sciences. 2018. 19\(12\). 3853.](#)
33. [Sayers B.C., Germolec D.R., Walker N.J., Shipkowski K.A., Stout M.D., Cesta M.F., Roycroft J.H., White K.L., Baker G.L., Dill J.A., Smith M.J. Respiratory toxicity and immunotoxicity evaluations of microparticle and nanoparticle C60 fullerene aggregates in mice and rats following nose-only inhalation for 13 weeks // Nanotoxicology. 2016. 10\(10\). 1458-1468.](#)
34. [Sears B., Perry M. The role of fatty acids in insulin resistance // Lipids in Health and Disease. 2015. 14. 121.](#)
35. [Trepanowski J.F., Mey J., Varady K.A. Fetuin-A: a novel link between obesity and related complications // International Journal of Obesity. 2015. 39\(5\). 734–741.](#)
36. [Turabekova M., Rasulev B., Theodore M., Jackman J., Leszczynska D., Leszczynski J. Immunotoxicity of nanoparticles: a computational study suggests that CNTs and C60 fullerenes might be recognized as pathogens by Toll-like receptors // Nanoscale. 2014. 6\(7\). 3488-95.](#)
37. [Wang I.C., Tai A.T., Lee D.D., Kanakamma P.P., Shen C.K., Luh T.Y., Cheng C.H., Hwang K.C. C60 and water-soluble fullerene derivatives as antioxidants against radical-initiated lipid peroxidation // Journal of Medicinal Chemistry. 1999. 42\(22\). 4614–4620.](#)

Надійшла до редколегії 12.11.2021 р.