

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2019.12.091>

УДК 57.044: 616.361-002.2+612.111.11+616.155.1-3+616.155.153

**І.В. Белінська, Г.М. Кузнєцова,
Н.В. Дзюбенко, М.А. Гуцалюк, Т.В. Рибальченко,
С.В. Прилуцька, В.К. Рибальченко**

ННЦ “Інститут біології та медицини”

Київського національного університету ім. Тараса Шевченка

E-mail: byelinska@univ.kiev.ua

C₆₀ фулерен гальмує розвиток запалення та порушення гемопоєзу при експериментальному хронічному холангіті

Представлено членом-кореспондентом НАН України Р.С. Стойкою

Досліджено вплив C₆₀ фулерену на морфофункціональний стан клітин крові при експериментальному хронічному холангіті. У разі інтраперитонеального застосування C₆₀ фулерен гальмує розвиток запального процесу, що підтверджується зменшенням вмісту еозинофільних гранулоцитів і лімфоцитів, залучає нейтрофільні гранулоцити до його накопичення, спричинюючи нейтрофіліоз у крові, і посилює прояви анемії. Пероральне застосування C₆₀ фулерену гальмує розвиток запального процесу, не збільшуючи кількості нейтрофільних гранулоцитів у крові, і частково зменшує прояви анемії за рахунок збереження кількості еритроцитів, тобто є менш токсичним.

Ключові слова: C₆₀ фулерен, експериментальний хронічний холангіт, еритроцити, лейкоцити, тромбоцити.

Фулерени — це незвичайний клас молекул алотропної форми вуглецю кулястої форми із замкненою поверхнею. C₆₀ фулерен містить 60 атомів вуглецю, його поверхня утворена п'яти- і шестикутниками, що чергуються, є найбільш стабільною молекулою із найвищим ступенем симетрії. Розмір такої молекули наближається до 1 нм [1].

Фулерени мають широкий спектр біологічної активності, можуть використовуватися для доставки в клітину різних лікарських речовин і невірусної доставки в клітинне ядро генетичних векторів. Завдяки потужним антиоксидантним властивостям цих сполук їх застосовують для лікування багатьох захворювань [1, 2]. Доведено, що C₆₀ фулерен пригнічує проліферативну активність неопластичних клітин [3], підсилює ефективність традиційних протипухлинних препаратів *in vitro* [4] та має протипухлинну дію *in vivo* [5]. Одночасно C₆₀ фулерен зменшує токсичний вплив традиційних протипухлинних препаратів щодо нормальних клітин організму, а сам у терапевтичних дозах не чинить токсичної дії на тканини, органи і організм у цілому [6]. Зазначена сполука зменшує пошкодження тканин шлунково-

© І.В. Белінська, Г.М. Кузнєцова, Н.В. Дзюбенко, М.А. Гуцалюк, Т.В. Рибальченко, С.В. Прилуцька, В.К. Рибальченко, 2019

кишкового тракту при гострому коліті [7] і токсичному ураженні печінки [8]. Усе вищевикладене дає підставу розглядати C_{60} фулерен як перспективну сполуку в комплексному лікуванні різноманітних захворювань.

Одним із запальних захворювань печінки є холангіт — хвороба, що пов'язана із запаленням, деструкцією і фіброзом жовчних проток. Дана патологія частіше поєднується з холециститом, гепатитом, гастродуоденітом, панкреатитом, жовчнокам'яною хворобою, ніж розвивається як самостійне захворювання. Жінки хворіють на холангіт частіше за чоловіків [9]. У хворих на холангіт відбуваються зміни морфофункціонального стану холангіоцитів і цитоліз гепатоцитів, холестаза, порушується функція нирок і підшлункової залози, що супроводжується підвищенням загального білірубіну, креатиніну, активності аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, лужної фосфатази, лактатдегідрогенази в сироватці крові [9–11]. Аналогічні зміни спостерігаються при експериментальному холангіті у щурів [8]. До розвитку холангіту залучаються і клітини крові. Внаслідок запального процесу підвищується кількість лейкоцитів та/або нейтрофілів та/або моноцитів крові у гострій фазі [10]. До розвитку як гострого, так і хронічного холангіту активно залучаються всі типи лімфоцитів [12]. Комплекс змін в організмі призводить до розвитку анемії, яка виникає внаслідок внутрішніх кровотеч, аутоімунного гемолізу еритроцитів, порушення всмоктування заліза і вітаміну B_{12} у кишечнику, пригнічення продукції еритроцитів у кістковому мозку внаслідок впливу прозапальних цитокінів тощо [11, 13]. Оскільки в попередніх дослідженнях показано, що C_{60} фулерен сприяє частковій корекції печінкової недостатності, спричиненої гострим холангітом [8], а клітини крові є індикатором стану організму і стадії захворювання [10], метою нашого дослідження було вивчення морфофункціонального стану клітин крові під впливом C_{60} фулерену на тлі хронічного експериментального холангіту.

Експеримент проведено на 32 білих лабораторних щурах-самцях середньою масою 198 ± 10 г, що утримувалися в стандартних умовах віварію ННЦ “Інститут біології та медицини” Київського національного університету ім. Тараса Шевченка. Дослідження виконано відповідно до принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положеннями “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей” (Страсбург, 1986) і “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Хронічний холангіт моделювали щотижневим введенням α -нафтилізотіоціанату (ANIT, Sigma, США) у дозі 100 мг/кг, розчиненим у соняшниковій олії (загальний об'єм 0,1 мл), інтрагастрально протягом 4 тижнів. ANIT викликає внутрішньопечінковий холестаза, гострий холестатичний гепатит, склерозуючий холангіт, біліарний фіброз та цироз [14]. Результатом є підвищення рівня білірубіну в плазмі крові та сечі, зростання активності сироваткових амінотрансфераз та лужної фосфатази [8], що відповідає біохімічним проявам гострого та хронічного склерозуючого холангіту людини [9].

У дослідженні використовували стабільний водний колоїдний розчин C_{60} фулеренів з концентрацією 0,15 мг/мл, приготований за методикою [15], який вводили тваринам у об'ємі, еквівалентному кількості C_{60} фулеренів 0,5 мг/кг маси тіла щура (близько 0,6 мл залежно від маси тварини), через день протягом усього дослідження (сумарна доза 6 мг/кг), інтраперитонеально чи перорально. З тваринами груп порівняння здійснювали всі маніпуляції та вводили відповідні розчинники тими ж способами, що і тваринам дослідних груп.

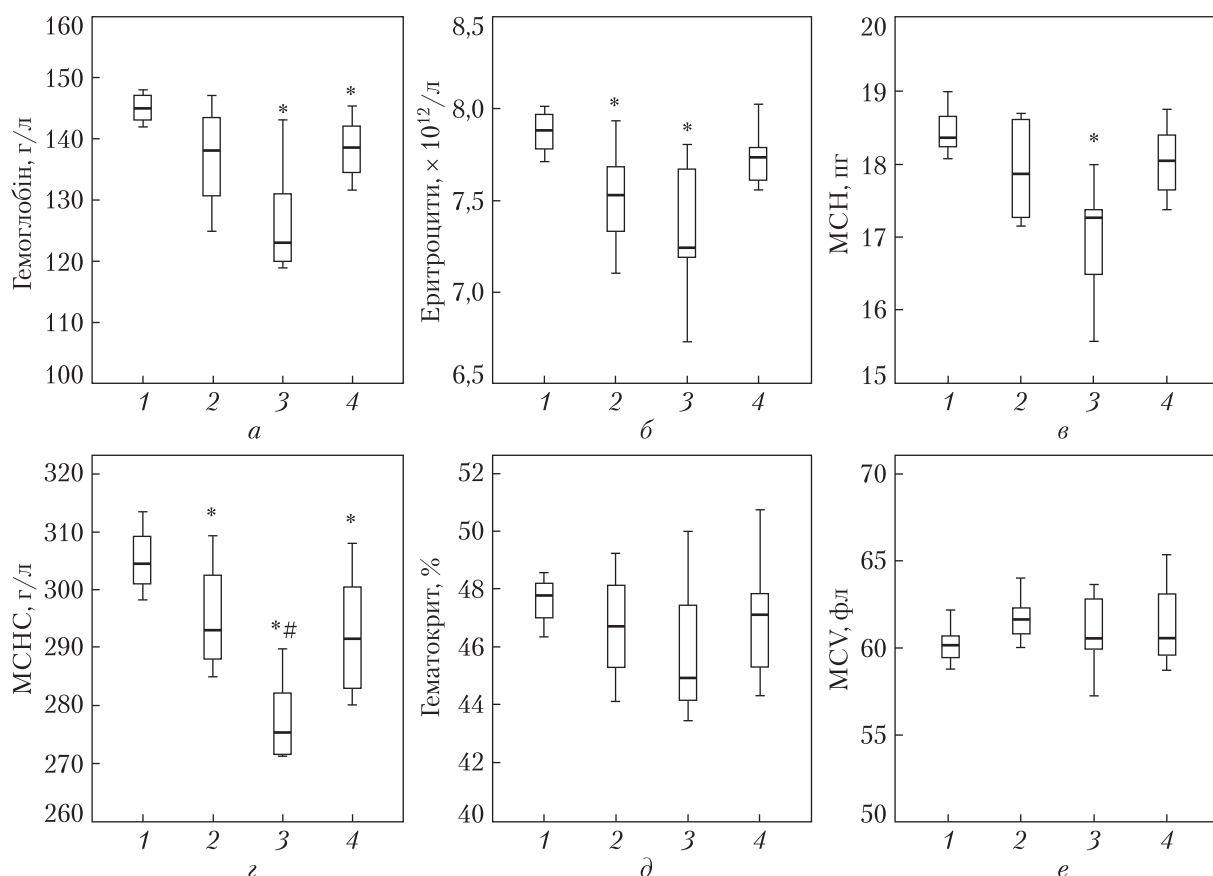


Рис. 1. Морфофункціональна характеристика еритроцитів крові у нормі (1), при експериментальному хронічному холангіті (2) та його корекції C₆₀ фулереном у разі інтраперитонеального (3) та перорального введення (4): а – концентрація гемоглобіну в крові; б – кількість еритроцитів; в – середній вміст гемоглобіну в еритроциті МСН; г – середня концентрація гемоглобіну в еритроциті МСНС; д – гематокрит; е – середній об’єм еритроцита МСV; * – $p < 0,05$ порівняно з контролем, # – $p < 0,05$ порівняно з групою експериментального хронічного холангіту

Тварин було розділено на чотири групи: I – контрольна ($n = 8$); II – щури з експериментальним хронічним холангітом ($n = 8$); III – щури з експериментальним хронічним холангітом, що отримували C₆₀ фулерен інтраперитонеально ($n = 8$); IV – щури з експериментальним хронічним холангітом, що отримували C₆₀ фулерен per os ($n = 8$).

Кров для аналізу у щурів після евтаназії CO₂ збирали через 24 год після останнього введення досліджуваної речовини. Показники крові (кількість еритроцитів, концентрація гемоглобіну в крові, гематокрит, середній об’єм еритроцита – МСV, середній вміст гемоглобіну в еритроциті – МСН, середня концентрація гемоглобіну в еритроциті – МСНС, кількість лейкоцитів та тромбоцитів) визначали загальноприйнятими методами. Виготовляли мазки крові, які забарвлювали за Паппенгеймом для підрахунку лейкограми та діамантовим крезиловим синім для визначення кількості ретикулоцитів.

Дослідження розподілу еритроцитарних показників у групах здійснювали на підставі результатів тесту Шапіро–Уїлка. Встановлено, що концентрація гемоглобіну в крові, ге-

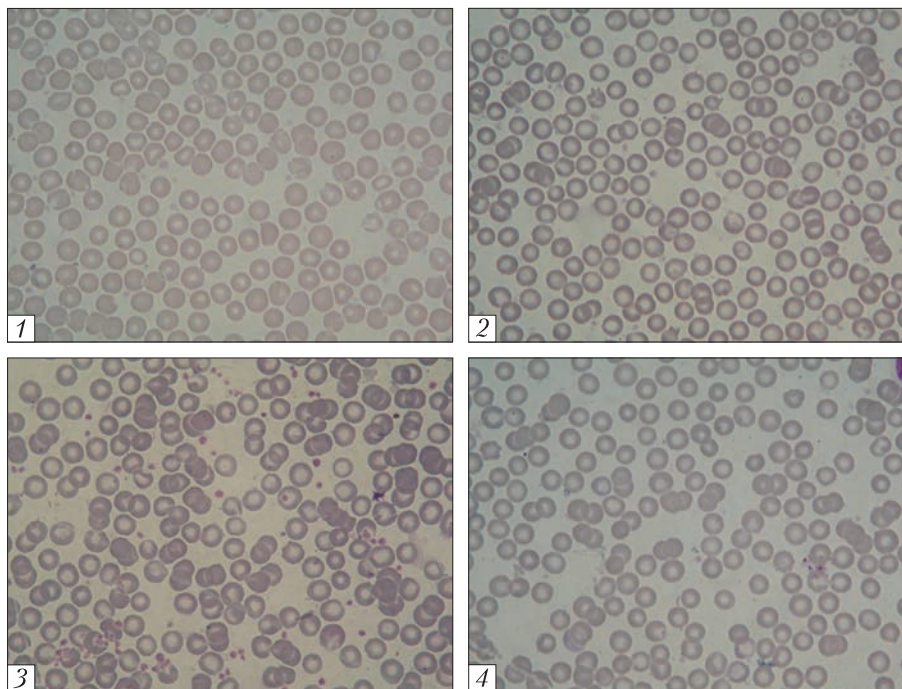


Рис. 2. Мікрофотографії цитологічних препаратів крові: 1 – контроль; 2 – експериментальний хронічний холангіт, гіпохромні еритроцити; 3 – експериментальний хронічний холангіт + C_{60} фулерен інтраперитонеально, гіпохромні еритроцити; 4 – експериментальний хронічний холангіт + C_{60} фулерен перорально, гіпохромні еритроцити (забарвлення за Паппенгеймом, $\times 1000$)

матокрит, середній вміст та середня концентрація МСНС гемоглобіну в еритроциті мають нормальний розподіл ($p > 0,05$), тоді як середній об'єм еритроцита та кількість ретикулоцитів – розподіл, відмінний від нормального ($p < 0,05$). Тому для оцінки відмінностей між групами ми застосували непараметричний критерій Крускала–Уолліса з подальшим тестом Манна–Уїтні для парних порівнянь. Його результати свідчать, що у щурів з експериментальним хронічним холангітом концентрація гемоглобіну в еритроциті ($p = 0,045$), кількість еритроцитів ($p = 0,04$) знижується (рис. 1). Достовірних відхилень концентрації гемоглобіну в крові, середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті, гематокриту та середнього об'єму еритроцита в середньому по групі не зареєстровано. Водночас у шести із восьми тварин (75 %) із експериментальним холангітом концентрація гемоглобіну в крові знижена в середньому на 9 % ($p = 0,014$). Зниження концентрації гемоглобіну в еритроциті супроводжуються гіпохромією еритроцитів, що підтверджено мікрофотографіями мазків крові (рис. 2). Одночасно з цим у крові зростає кількість ретикулоцитів (рис. 3, а, $p = 0,001$). Такі зміни пов'язані із розвитком як гемолітичної, так і постгеморагічної анемії, які супроводжуються ретикулоцитозом у крові. Внутрішні кровотечі характерні для перебігу хронічного холангіту [9, 11]. Наявність кровотеч у наших дослідженнях підтверджується підвищеним вмістом тромбоцитів у крові порівняно з контролем (див. рис. 3, б). Гемоліз еритроцитів відбувається внаслідок запального процесу і розвитку окисного стресу, а також дії АНІТ [13, 14].

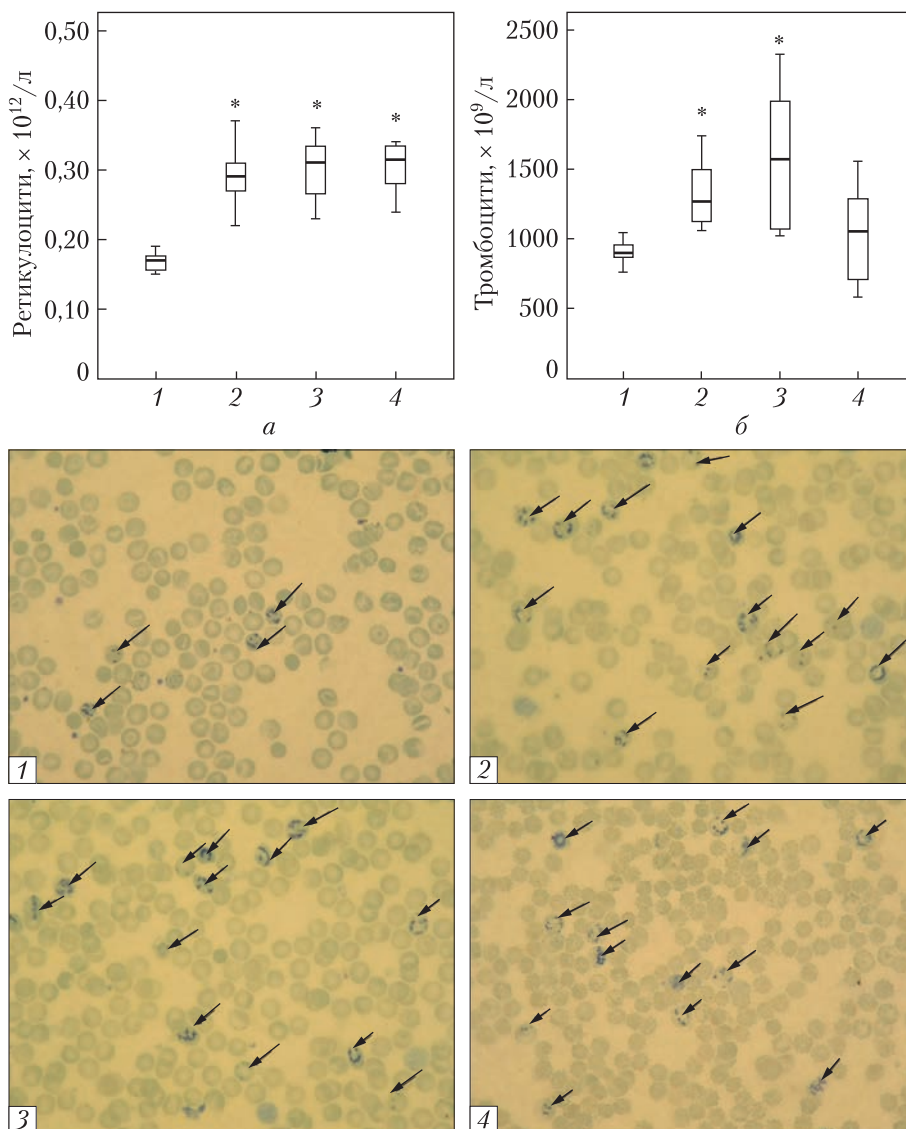


Рис. 3. Кількість ретикулоцитів (а) і тромбоцитів (б) у крові щурів у нормі (1), при експериментальному хронічному холангіті (2) та його корекції C₆₀ фулереном у разі інтраперитонеального (3) та перорального введень (4); мікрофотографії цитологічних препаратів крові, забарвлення діамантовим крезильовим синім, ×1000, стрілками позначені ретикулоцити

За результатами попередніх досліджень [8] C₆₀ фулерен зменшує прояви холангіту, що підтверджується нормалізацією вмісту білірубину, активності аланінамінотрансферази і лужної фосфатази в крові. Водночас у разі інтраперитонеального застосування C₆₀ фулерену у щурів з хронічним холангітом посилюються прояви анемії, що підтверджується зниженням концентрації гемоглобіну в крові (див. рис. 1, а, $p = 0,003$) і еритроциті (див. рис. 1, з, $p = 0,002$, рис. 2), середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті (див. рис. 1, в, $p = 0,004$) та кількості еритроцитів (див. рис. 1, б, $p = 0,045$) порівняно з контролем. Кількість ретикулоцитів залишається підвищеною (див. рис. 3, $p = 0,001$). Гематокрит (див. рис. 1, д) та серед-

ній об'єм еритроцита (див. рис. 1, *e*) не зазнають змін. C_{60} фулерен знижує концентрацію гемоглобіну в крові ($p = 0,042$) та еритроциті ($p = 0,005$) і середній вміст гемоглобіну в еритроциті ($p = 0,056$) в середньому на 7, 5, 4 % відповідно порівняно з групою експериментального хронічного холангіту, що підтверджує посилення проявів анемії. Ймовірно, C_{60} фулерен спричинює додаткові крововтрати і посилює гемоліз еритроцитів, що характерно для хронічного холангіту і підтверджується підвищеним вмістом ретикулоцитів і тромбоцитів у крові (див. рис. 3). Такі зміни можуть бути пов'язані з високою біодоступністю фулерену внаслідок інтраперитонеального застосування і його накопичення в тканинах (сумарна доза становить 6 мг/кг). Оскільки C_{60} фулерен взаємодіє з мембранами клітини, що підтверджується зміною електричної провідності штучних біомолекулярних мембран [4], а його високі концентрації спричиняють окисний стрес у тканинах, це може додатково пошкоджувати мембрани еритроцитів і посилювати їх гемоліз. Тому за цих умов необхідно знизити дозу досліджуваної сполуки.

У випадку введення C_{60} фулерену перорально залишається зниженою концентрація гемоглобіну в крові ($p = 0,003$) та еритроциті ($p = 0,021$, див. рис. 1, рис. 2) і підвищеною кількістю ретикулоцитів ($p = 0,001$, див. рис. 3, *a*) порівняно з контролем, що є наслідком гемолізу та внутрішніх кровотеч. Водночас спостерігаються ознаки відновлення до контрольованого рівня кількості еритроцитів порівняно з експериментальним хронічним холангітом. Гематокрит (див. рис. 1, *d*) та середній об'єм еритроцита (див. рис. 1, *e*) не зазнають статистично достовірних змін порівняно з контролем.

Отже, у щурів з експериментальним хронічним холангітом спостерігається розвиток постгеморагічної та гемолітичної анемії, наслідком якої є зменшення кількості еритроцитів у крові, зниження концентрації гемоглобіну в еритроциті на тлі підвищення кількості ретикулоцитів у крові. Вказані зміни посилюються після застосування C_{60} фулерену інтраперитонеально і частково нівелюються за рахунок збільшення кількості еритроцитів після його перорального застосування.

Загальний вміст лейкоцитів у крові щурів з експериментальним хронічним холангітом зростає на 27 %, але через широкі межі коливань різниця не вірогідна ($p > 0,1$, таблиця). У шести з восьми щурів (75 %) кількість лейкоцитів істотно підвищена в середньому на 31% ($p = 0,015$). Зазнає змін і розподіл лейкоцитів. У середньому по групі зростає абсолютний вміст еозинофільних гранулоцитів на 51 %, лімфоцитів на 24 %, моноцитів більше ніж на 200 % ($p = 0,002$) порівняно з контролем. У шести з восьми щурів (75 %) вміст зазначених клітин зростає на 73, 27 ($p = 0,015$) і 250 % ($p = 0,003$) відповідно. Такі зміни характерні для розвитку хронічних запальних захворювань і відображають залучення цих клітин до патологічного процесу [12].

Введення C_{60} фулерену інтраперитонеально сприяє нормалізації кількості лейкоцитів у крові (див. таблицю). Водночас C_{60} фулерен спричиняє перерозподіл лейкоцитів. У крові на 63 % зростає абсолютний вміст нейтрофільних гранулоцитів ($p = 0,015$) і на 57 % моноцитів ($p = 0,006$) на тлі зменшення на 51 % еозинофільних гранулоцитів і на 35 % лімфоцитів ($p = 0,025$) порівняно з контролем. Кількість нейтрофільних гранулоцитів зростає порівняно з групою хронічного холангіту на 58 % ($p = 0,015$) і перорального застосування C_{60} фулерену на 208 % ($p = 0,003$). Нейтрофільні гранулоцити і моноцити є фагоцитуючими клітинами, які активно залучаються до поглинання і зберігання C_{60} фулерену в тканинах. Висока біо-

доступність цієї сполуки у разі інтраперитонеального застосування, імовірно, призводить до посиленої міграції цих клітин у зони накопичення. Саме з цим пов'язана активна проліферація і диференціювання гемопоетичних клітин у напрямку нейтрофільних гранулоцитів у кістковому мозку та їх активний вихід у кров (що підтверджується виявленим у даному дослідженні нейтрофіліозом) для подальшої їх міграції у тканини. Застосування C₆₀ фулерену нормалізує вміст еозинофільних гранулоцитів ($p = 0,021$) і лімфоцитів, що свідчить про гальмування розвитку запального процесу, зумовленого хронічним холангітом.

Пероральне застосування C₆₀ фулерену нормалізує загальний вміст лейкоцитів у крові та абсолютний вміст еозинофільних гранулоцитів і лімфоцитів. Водночас, зменшується абсолютний вміст нейтрофільних гранулоцитів ($p = 0,024$) на тлі підвищеного вмісту моноцитів ($p = 0,013$), що підтверджує залучення цих клітин до накопичення фулерену в тканинах. Але у разі перорального введення досліджувана сполука, імовірно, є менш біодоступ-

Загальний вміст і склад лейкоцитів (медіана, 25 і 75 процентилі) у нормі, при експериментальному хронічному холангіті та його корекції фулереном C₆₀ у разі інтраперитонеального (i. p.) та перорального введень (per os)

Показник	Од. вимір.	Група			
		Контроль	Хронічний холангіт	Хронічний холангіт + фулерен C ₆₀ i. p.	Хронічний холангіт + фулерен C ₆₀ per os
Лейкоцити	×10 ⁹ /л	19,40 [17,25; 19,95]	27,70 [17,25; 27,25]	17,20 [16,75; 18,30]	15,75 [13,80; 21,60]
Еозинофільні гранулоцити	%	3,00 [2,00; 4,50]	4,00 [3,50; 4,50]	1,00 [#] [1,00; 2,50]	3,50 [1,50; 5,00]
	×10 ⁹ /л	0,59 [0,37; 0,75]	0,89 [0,63; 1,09]	0,29 [#] [0,16; 0,46]	0,55 [0,36; 0,77]
Паличкоядерні нейтрофільні гранулоцити	%	3,00 [2,00; 4,00]	3,00 [1,00; 3,50]	5,00 [2,50; 5,00]	2,00 [1,50; 2,50]
	×10 ⁹ /л	0,45 [0,41; 0,69]	0,60 [0,21; 0,76]	0,83 [0,39; 0,89]	0,32 [0,21; 0,70]
Сегментоядерні нейтрофільні гранулоцити	%	15,00 [12,50; 18,00]	10,50 [8,00; 18,00]	23,00 ^{#&} [20,50; 27,50]	9,00 ^{&} [7,50; 12,50]
	×10 ⁹ /л	2,57 [2,3; 3,28]	2,67 [2,17; 2,89]	4,19 ^{#&} [3,62; 5,95]	1,59 ^{&} [1,13; 2,20]
Лімфоцити	%	77,00 [74,50; 79,00]	75,50 [67,00; 77,50]	61,00* [56,00; 63,00]	77,00 [72,00; 78,50]
	×10 ⁹ /л	15,28 [11,88; 15,48]	18,90 [11,20; 20,87]	9,90* [9,24; 10,97]	12,35 [10,09; 15,48]
Моноцити	%	3,00 [1,50; 3,50]	8,50* [7,00; 10,00]	11,00* [7,50; 12,00]	10,00* [6,50; 11,00]
	×10 ⁹ /л	0,58 [0,27; 0,66]	1,76* [1,33; 2,26]	1,49* [1,32; 2,12]	1,71* [1,01; 1,93]

* $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою. [#] $p < 0,05$ порівняно з групою хронічного холангіту. [&] $p < 0,05$ інтраперитонеальне застосування C₆₀ фулерену порівняно з пероральним.

ною, тому її концентрації не достатньо для активації продукції нейтрофільних гранулоцитів у кістковому мозку, що виявляється зменшенням їх вмісту у крові порівняно з контролем.

Отже, C_{60} фулерен гальмує розвиток запального процесу при експериментальному хронічному холангіті, що підтверджується нормалізацією кількості еозинофільних гранулоцитів і лімфоцитів у крові. Водночас C_{60} фулерен спричинює нейтрофіліоз у крові, імовірно, через залучення нейтрофільних гранулоцитів до його (фулерену) накопичення. У разі перорального введення C_{60} фулерену зменшується пошкодження еритроцитів і не виникає нейтрофіліозу, на відміну від інтраперитонеального введення, тобто не відбувається розвитку гематологічних патологій, що необхідно враховувати, застосовуючи C_{60} фулерени (і їм подібні сполуки) для лікування запальних патологій печінки.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Стойка Р.С., Прилуцький Ю.І., Наумоєць А.Г., Білий Р.О., Блюм Я.Б. Багатофункціональні наноматеріали для біології і медицини: молекулярний дизайн, синтез і застосування: Стойка Р.С. (ред.). Київ: Наук. думка, 2017. 363 с.
2. Prylutska S.V., Grynyuk I.I., Matyshevska O.P., Prylutskyi Y.I., Ritter U., Scharff P. Anti-oxidant properties of C_{60} fullerenes in vitro. *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostruct.* 2008. **16**, № 5–6. P. 698–705. <https://doi.org/10.1080/15363830802317148>
3. Прилуцька С.В., Діденко Г.В., Кічмаренко Ю.М., Круць О.О., Потебня Г.П., Черепанов В.В., Прилуцький Ю.І. Вплив C_{60} -фулерену, доксорубіцину і їх комплексу на пухлинні та нормальні клітини мишей лінії BALB/c. *Biotechnol. Acta.* 2014. **7**, № 1. С. 60–65.
4. Prylutskyi Y., Bychko A., Sokolova V., Prylutska S., Evstigneev M., Rybalchenko V., Epple M., Scharff P. Interaction of C_{60} fullerene complexed to doxorubicin with model bilipid membranes and its uptake by HeLa cells. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2016. **59**. P. 398–403. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.10.049>
5. Lynchak O.V., Prylutskyi Y.I., Rybalchenko V.K., Kyzyma O.A., Soloviov D., Kostjukov V.V., Evstigneev M.P., Ritter U., Scharff P. Comparative analysis of the antineoplastic activity of C_{60} fullerene with 5-fluorouracil and pyrrole derivative in vivo. *Nanoscale Res. Lett.* 2017. **12**, № 8. P. 1–6. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1775-0>
6. Prylutska S.V., Grebinyk A.G., Lynchak O.V., Byelinska I.V., Cherepanov V.V., Tauscher E., Matyshevska O.P., Prylutskyi Y.I., Rybalchenko V.K., Ritter U., Frohme M. In vitro and in vivo toxicity of pristine C_{60} fullerene aqueous colloid solution. *Fuller., Nanotub. Carbon Nanostruct.* 2019. **27**, Iss. 9. P. 715–728. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2019.1634055>
7. Byelinska, I.V., Kuznietsova, H.M., Dziubenko, N.V., Lynchak O.V., Rybalchenko T.V., Prylutskyi Yu.I., Kyzyma O.A., Ivankov O., Rybalchenko V.K., Ritter, U. Effect of C_{60} fullerenes on the intensity of colon damage and hematological signs of ulcerative colitis in rats. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2018. **93**. P. 505–517. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.08.033>
8. Kuznietsova, H.M., Lynchak, O.V., Dziubenko, N.V., Osetskiy V. L., Ogloblya O. V., Prylutskyi Yu I., Rybalchenko V. K., Ritter U., Scharff P. Water-soluble C_{60} fullerenes reduce manifestations of acute cholangitis in rats. *Appl. Nanosci.* 2019. **9**, Iss. 5. P. 601–608. <https://doi.org/10.1007/s13204-018-0700-5>
9. Tabibian J.H., Ali A.H., Lindor K.D. Primary sclerosing cholangitis, Part 1: epidemiology, etiopathogenesis, clinical features, and treatment. *Gastroenterol. Hepatol.* 2018. **14**, № 5. P. 293–304.
10. Малахова И.Г., Шкляев А.Е., Уткин И.Ю. Острый холангит, осложненный билиарным сепсисом: клинический случай с благоприятным исходом. *Архивъ внутренней медицины.* 2016. **60**, № 4. С. 65–69. <https://doi.org/10.20514/2226-6704-2016-6-4-65-69>
11. Naqvi S., Hasan S.A., Khalid S., Abbass A., Albors-Mora M. A unique triad: ulcerative colitis, primary sclerosing cholangitis, and autoimmune hemolytic anemia. *Cureus.* 2018. **10**, № 1. e2068. <https://doi.org/10.7759/cureus.2068>
12. Tsuneyama K., Baba H., Morimoto Y., Tsunematsu T., Ogawa H. Primary biliary cholangitis: its pathological characteristics and immunopathological mechanisms. *J. Med. Invest.* 2017. **64**, № 1.2. P. 7–13. <https://doi.org/10.2152/jmi.64.7>

13. Gkamprela E., Deutsch M., Pectasides D. Iron deficiency anemia in chronic liver disease: etiopathogenesis, diagnosis and treatment. *Ann. Gastroenterol.* 2017. **30**, № 4. P. 405–413. <https://doi.org/10.20524/aog.2017.0152>
14. Fickert P., Pollheimer M. J., Beuers U., Lackner C., Hirschfield G., Housset C., Keitel V., Schramm C., Marschall H.U., Karlsen T.H., Melum E., Kaser A., Eksteen B., Strazzabosco M., Manns M., Trauner M. Characterization of animal models for primary sclerosing cholangitis (PSC). *J. Hepatol.* 2014. **60**. P. 1290–1303. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.02.006>
15. Ritter U., Prylutskyi Yu.I., Evstigneev M.P., Davidenko N.A., Cherepanov V.V., Senenko A.I., Marchenko O.A., Naumovets A.G. Structural features of highly stable reproducible C₆₀ fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques. *Fuller., Nanotub., Carbon Nanostruct.* 2015. **23**, № 6. P. 530–534. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2013.870900>

Надійшло до редакції 25.07.2019

REFERENCES

1. Stoika, R. S., Prylutskyi, Yu. I., Naumovets, A. G., Bilyi, R. O. & Blume, Y. B. (2017). Multifunctional nanomaterials for biology and medicine: molecular design, synthesis and application. Kyiv: Naukova Dumka (in Ukrainian).
2. Prylutska, S. V., Grynyuk, I. I., Matyshevska, O. P., Prylutskyi, Y. I., Ritter, U. & Scharff P. (2008). Antioxidant properties of C₆₀ fullerenes in vitro. *Fuller. Nanotub. Carbon Nanostruct.*, 6, pp. 698-705. <https://doi.org/10.1080/15363830802317148>
3. Prylutska, S. V., Didenko, G. V., Kichmarenko, Yu. M., Kruts, O. O., Potebnya, G. P., Cherepanov, V. V. & Prylutskyi Yu. I. (2014). Effect of C₆₀-fullerene, doxorubicin and their complex on tumor and normal cells of the line mice BALB/c. *Biotechnol. Acta*, 7, No. 1, pp. 60-65 (in Ukrainian).
4. Prylutskyi, Y., Bychko, A., Sokolova, V., Prylutska, S., Evstigneev, M., Rybalchenko, V., Epple, M. & Scharff P. (2016). Interaction of C₆₀ fullerene complexed to doxorubicin with model bilipid membranes and its uptake by HeLa cells. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, 59, pp. 398-403. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.10.049>
5. Lynchak, O. V., Prylutskyi, Y. I., Rybalchenko, V. K., Kyzyma, O. A., Soloviov, D., Kostjukov, V. V., Evstigneev, M. P., Ritter, U. & Scharff, P. (2017). Comparative analysis of the antineoplastic activity of C₆₀ fullerene with 5-fluorouracil and pyrrole derivative in vivo. *Nanoscale Res. Lett.*, 12, No. 8, pp. 1-6. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1775-0>
6. Prylutska, S. V., Grebinyk, A. G., Lynchak O. V., Byelinska I. V., Cherepanov, V. V., Tauscher, E., Matyshevska, O. P., Prylutskyi, Y. I., Rybalchenko, V. K., Ritter, U. & Frohme, M. (2019). In vitro and in vivo toxicity of pristine C₆₀ fullerene aqueous colloid solution. *Fuller., Nanotub. Carbon Nanostruct.*, 27, Iss. 9, pp. 715-728. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2019.1634055>
7. Byelinska, I. V., Kuznietsova, H. M., Dziubenko, N. V., Lynchak, O. V., Rybalchenko, T. V., Prylutskyi, Yu. I., Kyzyma, O. A., Ivankov, O., Rybalchenko, V. K. & Ritter, U. (2018). Effect of C₆₀ fullerenes on the intensity of colon damage and hematological signs of ulcerative colitis in rats. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.*, 93, pp. 505-517. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.08.033>
8. Kuznietsova, H. M., Lynchak, O. V., Dziubenko, N. V., Osetskyi, V. L., Ogloblya, O. V., Prylutskyi, Yu I., Rybalchenko, V. K., Ritter, U. & Scharff, P. (2019). Water-soluble C₆₀ fullerenes reduce manifestations of acute cholangitis in rats. *Appl. Nanosci.*, 9, Iss. 5, pp. 601-608. <https://doi.org/10.1007/s13204-018-0700-5>
9. Tabibian, J. H., Ali, A. H. & Lindor, K. D. (2018). Primary sclerosing cholangitis, Part 1: epidemiology, etiopathogenesis, clinical features, and treatment. *Gastroenterol. Hepatol.*, 14, No. 5, pp. 293-304.
10. Malakhova, I. G., Shklyayev, A. E. & Utkin, I. Y. (2016). Acute cholangitis complicated by biliary sepsis: clinical case with a favorable outcome. *Arhiv vnutrennej medicyny*, 60, No. 4, pp. 65-69. <https://doi.org/10.20514/2226-6704-2016-6-4-65-69> (in Russian).
11. Naqvi, S., Hasan, S. A., Khalid, S., Abbass, A. & Albors-Mora, M. (2018). A unique triad: ulcerative colitis, primary sclerosing cholangitis, and autoimmune hemolytic anemia. *Cureus*, 10, No. 1, e2068. <https://doi.org/10.7759/cureus.2068>
12. Tsuneyama, K., Baba, H., Morimoto, Y., Tsunematsu, T. & Ogawa, H. (2017). Primary biliary cholangitis: its pathological characteristics and immunopathological mechanisms. *J. Med. Invest.*, 64, No. 1.2, pp. 7-13. <https://doi.org/10.2152/jmi.64.7>

13. Gkamprela, E., Deutsch, M. & Pectasides, D. (2017). Iron deficiency anemia in chronic liver disease: etio-pathogenesis, diagnosis and treatment. *Ann. Gastroenterol.*, 30, No. 4, pp. 405-413. <https://doi.org/10.20524/aog.2017.0152>
14. Fickert, P., Pollheimer, M. J., Beuers, U., Lackner, C., Hirschfield, G., Housset, C., Keitel, V., Schramm, C., Marschall, H.U., Karlsen, T.H., Melum, E., Kaser, A., Eksteen, B., Strazzabosco, M., Manns, M. & Trauner, M. (2014). Characterization of animal models for primary sclerosing cholangitis (PSC). *J. Hepatol.*, 60, pp. 1290-1303. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.02.006>
15. Ritter, U., Prylutsky, Yu. I., Evstigneev, M. P., Davidenko, N. A., Cherepanov, V. V., Senenko, A. I., Marchenko, O. A. & Naumovets, A. G. (2015). Structural features of highly stable reproducible C₆₀ fullerene aqueous colloid solution probed by various techniques. *Fuller., Nanotub., Carbon Nanostruct.*, 23, No. 6, pp. 530-534. <https://doi.org/10.1080/1536383X.2013.870900>

Received 25.07.2019

*I.V. Belinskaya, G.M. Kuznetsova,
N.V. Dziubenko, M.A. Hutsaliuk, T.V. Rybalchenko,
S.V. Prylutska, V.K. Rybalchenko*

УНЦ “Институт биологии и медицины”
Киевского национального университета им. Тараса Шевченко
E-mail: byelinska@univ.kiev.ua

C₆₀ ФУЛЛЕРЕН ИНГИБИРУЕТ РАЗВИТИЕ
ВОСПАЛЕНИЯ И НАРУШЕНИЯ ГЕМОПОЭЗА
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХРОНИЧЕСКОМ ХОЛАНГИТЕ

Исследовано влияние C₆₀ фуллера на морфофункциональное состояние клеток крови при экспериментальном хроническом холангите. Применение C₆₀ фуллера интраперитонеально ингибирует развитие воспалительного процесса, что подтверждается уменьшением содержания эозинофилов и лимфоцитов, привлекает нейтрофильные гранулоциты к его накоплению, вызывая нейтрофилез в крови, и усиливает проявления анемии. Пероральное применение C₆₀ ингибирует развитие воспалительного процесса без увеличения количества нейтрофилов в крови и частично уменьшает проявления анемии за счет сохранения количества эритроцитов, то есть является менее токсичным.

Ключевые слова: C₆₀ фуллерен, экспериментальный хронический холангит, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты.

*I.V. Byelinska, G.M. Kuznetsova,
N.V. Dziubenko, M.A. Hutsaliuk, T.V. Rybalchenko,
S.V. Prylutska, V.K. Rybalchenko*

Institute of Biology and Medicine, Taras Shevchenko National University of Kyiv
E-mail: byelinska@univ.kiev.ua

C₆₀ FULLERENE INHIBITS THE DEVELOPMENT
OF INFLAMMATION AND ALTERATION
OF HEMATOPOIESIS IN EXPERIMENTAL CHRONIC CHOLANGITIS

The effect of C₆₀ fullerene on the state of blood cells under experimental chronic cholangitis is studied. Intra-peritoneal administration of C₆₀ fullerene inhibits the development of inflammation, which is confirmed by a decrease in the content of eosinophilic granulocytes and lymphocytes, involves neutrophil granulocytes in the C₆₀ accumulation, causing neutrophilia in blood, and enhances the manifestations of anemia. Oral application of C₆₀ inhibits the development of inflammation without increasing the number of neutrophilic granulocytes in blood and partly reduces the manifestations of anemia by maintaining the amount of erythrocytes in blood, suggesting its less toxicity.

Keywords: C₆₀ fullerene, experimental chronic cholangitis, erythrocytes, leukocytes, platelets.