



Вплив N-ацетилцистеїну на рухову активність геміпаркінсонічних щурів, викликану ін'єкцією агоніста дофамінових рецепторів

Ірина Міщенко¹, Олена Маньківська², Богдан Коп'як²,
Наталія Пількевич², Олександр Мотузюк¹

¹Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки, Луцьк, Україна

²Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, Київ, Україна.

Адреса для листування: mishchenkoiryna16@gmail.com

Отримано: 17.05.19; прийнято до друку: 14.06.19; опубліковано: 28.06.19

Резюме. Мета роботи – виявити профілактичний ефект попередньої ін'єкції N-АЦ на розвиток м'язової втоми в неанестезованій тварини з експериментальним геміпаркінсонізмом під час тривалих циркуляторних рухів, викликаних ін'єкцією апоморфіну (АМ).

Дослідження проводили на щурах лінії Вістар-Кіото, у яких викликали однобічне руйнування дофамінергічної (ДА) висхідної системи мозку за допомогою ін'єкції 8 мкг 6-гідроксидофаміну, розчиненого в 4 мкл фізіологічного розчину з додатком 0,1 % аскорбінової кислоти, яка гальмує окислення нейротоксину. Поведінкові реакції тварин на ін'єкцію дофаміноміметика апоморфіну були непрямим тестом на ступінь дегенерації ДА-нейронів середнього мозку. Через сім днів після введення 6-гідроксидофаміну тварин розділили на такі групи: 1 – контрольні тварини, у яких викликали інтенсивні циркуляторні рухи за допомогою ін'єкції апоморфіну (0,5 мг/кг) (n = 6); 2 – щури, яким за годину до ін'єкції АМ вводили 0,5 мл фізіологічного розчину (n = 6); 3 – тварини, яким за годину до ін'єкції АМ вводили розчин N-ацетилцистеїну (150 мг/кг) (n = 6).

Порівнюючи поведінкові тести на щурах у трьох групах, можемо припустити, що зменшення числа обертів щурів контрольної групи й тварин із попередньою ін'єкцією фізіологічного розчину відбувалося не через припинення дії апоморфіну, а через розвиток м'язової втоми під час тривалих циркуляторних рухів. Водночас у щурів третьої групи після застосування N-АЦ зниження середньої кількості обертів не спостерігали. Це може вказувати на активацію захисної дії антиоксидантної системи у відповідь на тривалу м'язову активність, а N-АЦ можна розглядати як потужний активатор захисних механізмів, спрямованих на зниження втоми скелетних м'язів.

Ключові слова: N-ацетилцистеїн, антиоксидант, геміпаркінсонізм, м'язова активність, м'язова втома.

Influence of N-Acetylcysteine on Movement Activity of Hemiparinsonian Rats Induced by Dopamine Receptor Agonist Injection

Iryna Mishchenko¹, Olena Mankivska², Bohdan S. Kopyak²,
Nataliya Pil'kevych², Oleksandr Motuziuk¹

¹Lesia Ukrainka Eastern European National University, Lutsk, Ukraine

²Bogomoletz Institute of Physiology, Kyiv, Ukraine

Correspondence: mishchenkoiryna16@gmail.com

Abstract. The muscle contraction during labor activity is accompanied by motor and postural disorders as a results of their fatigue or chronic pain. It is known, that in the process of muscle fatigue development the metabolism is disturbed, products of incomplete oxidation of oxygen – peroxide, free radicals, oxygen ions – are formed. The cells protection from such damage is provided by the antioxidant system. In the field of sport physiology, in the study of muscle fatigue, exogenous antioxidant such as N-acetylcysteine (NAC) is widely

used, which accelerates the muscles recovery process after their fatigue. The aim of this study was to detect the preventive effect of a preceding injection of NAC on the development of muscle fatigue in a non-anesthetized animal with experimental hemiparkinsonism during prolonged circulatory movements induced by the injection of apomorphine (AM).

The studies were conducted on the Wistar-Kyoto line rats, which caused a one-sided destruction of the dopaminergic (DA) upright system of the brain by injection of 8 μ g 6-hydroxidophan dissolved in 4 μ l of physiological solution with the addition of 0,1 % of ascorbic acid, which inhibits the oxidation of neurotoxin.

Animal behavioral reactions to the dopaminomimetics injection were assessed with an indirect test for the DA-neurons degeneration level in the middle brain. After seven days of 6-hydroxidophanum administration, the animals were divided into the groups: 1 – control animals, which had intense circulatory movements by injection of apomorphine (0,5 mg / kg) (n = 6); 2–rats, which were injected 0.5 ml of physiological solution (n = 6) one hour prior to the injection of AM; 3–animals that were injected with an N-acetylcysteine solution (150 mg / kg) (n = 6) an hour before the injection of AM.

By comparing behavioral tests in rats in three groups, it can be assumed that the decrease in the number of rotation in the control group rats and the animals with the prior injection of the physiological solution was not due to the finish of the apomorphine action, but due to the development of muscle fatigue during prolonged circulatory movements. At the same time, the rats of the third group, after the application of NAC, had no decrease in the average number of rotation. This may indicate the activation of the antioxidant defense activity in response to prolonged muscular activity, and the NAC can be considered as a powerful activator of protective mechanisms which reduces the fatigue of skeletal muscle.

Key words: N-acetylcysteine, antioxidant, hemiparkinsonism, muscular activity, muscle fatigue.

Вступ

Скелетні м'язи мають великі енергетичні резерви для тривалих скорочень, але надмірна фізична активність призводить до зниження їхньої сили й розвитку втоми. Тривале та інтенсивне м'язове скорочення, пов'язане з фізичною активністю або роботою, часто супроводжується м'язовим болем, порушенням постави й контролю над рухами [1; 2]. У процесі формування м'язової втоми відбувається порушення обміну речовин, утворюються продукти неповного окислення кисню: перекис, вільні радикали та іони кисню. Збільшення продукції реактивних форм кисню (РФК), що впливає на розвиток м'язової втоми й викликає пошкодження механізму тривалої скорочувальної активності [3]. Пошкодження може включати зміни в структурах білка, азотистих основ і руйнування мембран [4]. Захист клітин від ушкоджень забезпечується антиоксидантною системою [5]. Хоча механізми втоми скелетних м'язів досить детально описані [6], проблема запобігання або корекції втоми м'язів залишається нерозв'язаною. У дослідженнях м'язової втоми ендогенні антиоксиданти, такі як N-ацетилцистеїн (N-АЦ) і β -аланін, широко використовуються для прискорення відновлення м'язової активності після їх утоми [7; 8]. Також нещодавно показано, що біоактивні розчинні вуглецеві наноструктури, такі як фулерени C_{60} , завдяки властивості приєднувати вільні електрони можуть бути використані як потенційні антиоксиданти [9]. У попередній роботі ми вже досліджували вплив N-АЦ і β -

аланіну на втому триголового м'яза литки щурів, індуковану переривчастою високо-частотною електростимуляцією *n. tibialis*. Показано, що застосування N-АЦ призводить до зменшення часу відновлення сили м'язового скорочення й збільшення часу роботи м'язової активності під час розвитку втоми в анестезованих щурів [10; 11].

У цьому дослідженні для оцінки розвитку та модуляції втоми скелетних м'язів у неанестезованих щурів використано модель тварин з експериментальним геміпаркінсонізмом [12; 13]. Ми припустили, що внутрішньоочеревинна ін'єкція агоніста рецептора дофаміну (ДА) апоморфіну (АМ), який викликає тривалі циркулярні рухи в гемі паркінсонічних тварин, може призвести до втоми скелетних м'язів тварини, а використання антиоксиданта N-АЦ дасть змогу виявити зміни в рухах щурів протягом однієї години.

Мета досліджень – виявити профілактичний ефект попередньої ін'єкції N-АЦ на розвиток м'язової втоми у неанестезованої тварини з експериментальним геміпаркінсонізмом під час тривалих циркуляторних рухів, викликаних ін'єкцією АМ.

Матеріали й методи досліджень

Експериментальні дослідження виконано на щурах-самцях лінії Вістар масою 260–350 г, які отримано з віварію Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України. Експериментальні тварини утримувалися в плексигласових клітках (1 щур у клітці) у приміщенні з фільтрацією повітря та

температурою повітря 20–22 °С. Усі тварини утримувалися на стандартній харчовій дієті й мали вільний доступ до їжі та води *ad libitum*.

Усі експериментальні процедури з лабораторними тваринами виконані з дозволу Комітету з біомедичної етики Інституту та проводилися згідно з Європейською директивою Ради громад від 24 листопада 1986 р. (86/609/ЕЕС) та відповідно до Закону України від 21.02.2006, № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Щоб змусити неанестезованих щурів рухатися за допомогою хімічної стимуляції, у них викликали експериментальний геміпаркінсонізм (рис. 1). Операцію проводили під «нембуталовим» наркозом (45 мг/кг, в/о, «Nembutal», США). За допомогою ін'єкції 6-гідроксидофаміну (6-ГОДА, 8 мкг, «Sigma», США), розчиненого у 4 мкл фізіологічного

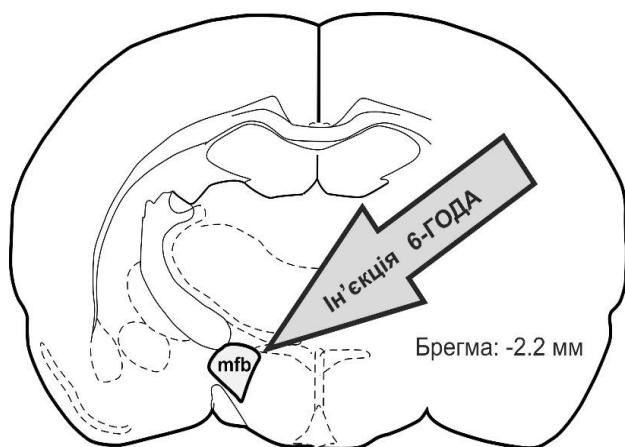


Рис. 1. Модель експериментального геміпаркінсонізму

Примітки. *mfb* (медіальний пучок переднього мозку) – місце введення селективного нейротоксину 6-гідроксидофаміну (6-ГОДА): рівень -2,2 мм каудально до брегми, відповідно до стереотаксичного атласу мозку щура [14].

розчину з додаванням 0,1 % аскорбінової кислоти, яка гальмує окислення нейротоксину, викликали одностороннє руйнування дофамінергічної (ДА) висхідної системи мозку. Мікроін'єкції 6-ГОДА робились у лівій медіальний висхідний пучок переднього мозку, який розміщений за координатами: росто-каудально від Брегми (AP) = -2,2 мм, медіолатерально від середньої лінії (ML) = +1,5 мм та дорсовентрально від *dura mater* (DV) = -8,0 мм, відповідно до стереотаксичного атласу мозку щура [14]. Щоб забезпечити високо-ефективну дію 6-ГОДА, за

25–30 хв до його ін'єкції проводили премедикацію тварин інгібітором моноаміноксидази Паргіліном (40 мг/кг, в/о, «Sigma», США) і блокатором захоплення нейротоксину норадренергічними нейронами Дезипраміну, (25 мг/кг, в/о, «Sigma», США). Через тиждень після одностороннього введення 6-ГОДА вивчали поведінкові реакції тварин на ін'єкцію дофаміноміметика апоморфіну (0,5 мг/кг, в/о «Sigma», США). Це було непрямим тестом на ступінь дегенерації ДА-нейронів середнього мозку. Раніше встановлено, що інтенсивні циркуляторні рухи у відповідь на введення АМ (у бік, протилежний введенню 6-ГОДА) з інтенсивністю понад 180 обертів за 30 хв свідчать про зменшення кількості ДА-нейронів компактною частини чорної субстанції (SNC) і вентрального поля покривки (VTA) лівої півкулі в середньому на 96,6 і 92,1 % відповідно [12].

Через сім днів після введення 6-ГОДА тварин розділили на такі групи: 1 – контрольні тварини, у яких викликали інтенсивні циркуляторні рухи за допомогою ін'єкції апоморфіну (0,5 мг/кг) (n = 6); 2 – щури, яким за годину до ін'єкції АМ вводили 0,5 мл фізіологічного розчину (n = 6); 3 – тварини, яким за годину до ін'єкції АМ вводили розчин N-ацетилцистеїну (150 мг/кг) (n = 6).

Кількість обертів геміпаркінсонічних тварин, викликаних ін'єкцією апоморфіну, усереднювали за кожні 6 хв протягом години (1–6 хв, 7–12 хв, 13–18 хв, 19–24 хв, 25–30 хв, 31–36 хв, 37–42 хв, 43–48 хв, 49–54 хв і 55–60 хв) і нормалізували відносно першої шестихвилинки. Кожна тварина брала участь у шести експериментах. Отримані дані (середнє ± стандартна похибка середнього) аналізували за допомогою однопараметричного дисперсійного аналізу варіацій ANOVA. Значення $p < 0,05$ вважали достовірним. Якщо міжгрупова різниця була виявлено, використовували апостеріорний аналіз Bonferroni.

Результати

Щоб виявити вплив N-АЦ на фізичну активність щурів та розвиток м'язової втоми у тварин у процесі виконання тривалих рухів, у цій роботі застосували модель щурів з експериментальним геміпаркінсонізмом. Особливість цієї моделі полягає у відсутності електричної стимуляції, яка є основним чинником, завдяки якому розвивається втома скелетних м'язів. Роль такої стимуляції бере на себе дофаміноміметик Апоморфін, який може викликати в таких геміпаркінсонічних щурів

тривалі циркуляторні рухи, які в результаті призводять до фізичної втоми тварин.

У процесі експериментального дослідження встановлено, що в контрольній групі щурів у відповідь на введення АМ тварини починали виконувати тривалі (протягом однієї години) циркуляторні рухи з різними швидкостями та з тенденцією до поступового зменшення їх кількості. У середньому тварини починали обертатися зі швидкістю 12–16 оборотів за хвилину (об/хв) з поступовим їх зниженням до кінця експерименту до 1–6 об/хв. Тобто середня кількість обертів щурів у кінці експерименту знижувалася до 20–30 % відносно початкових значень. Щури другої контрольної групи, що одержували в ролі премедикації фізіологічний розчин, демонстрували подібні результати. Як видно з табл. 1, тварина № 2 першої контрольної групи після ін'єкції АМ починала обертатись із

середньою швидкістю $15,3 \pm 0,9$ об/хв, а закінчувала через годину з результатом $5,16 \pm 0,7$ об/хв. Тварина № 2 із групи 2 починала обертатися зі швидкістю $14,8 \pm 1,7$ і закінчувала з $3 \pm 0,8$ об/хв, тобто результати були дуже подібними. Загальна кількість обертів (за годину) для обох груп щурів складала 534 і 568 обертів відповідно. Зазначимо, що достовірних відмінностей у середній кількості обертів між групами щурів 1- та 2-х груп було зареєстровано (табл. 1).

Тварини третьої групи, яким попередньо (за 1 год) внутрішньоочередивно вводили N-АЦ, у відповідь на ін'єкцію АМ, починали обертатись зі швидкістю аналогічною до щурів груп 1 і 2. Так, у щурів з ін'єкцією N-АЦ у перші 12 хв експерименту спостерігали зменшення

Тварини третьої групи, яким попередньо (за 1 год) внутрішньоочередивно вводили N-АЦ, у відповідь на ін'єкцію АМ починали

Таблиця 1

Середня кількість обертів тварини, викликаних ін'єкцією апоморфіну

Група	Час, хв	Тварини					
		1	2	3	4	5	6
№1 (контроль)	1–6	10,6±0,9	15,3±0,9	17,81±1,9	9,83±0,7	18,3±0,8	13,8±1,9
	7–12	10,3±0,8	11,3±0,3	10±0,5	8,83±0,3	10,5±0,2	10,6±0,2
	13–18	5,16±0,4	11,1±0,5	10,6±0,7	8,5±0,2	11±0,3	10,6±0,3
	19–24	4,66±0,3	9,5±0,6	10,8±0,5	7,5±0,2	11,3±0,5	9,83±0,1
	25–30	4,83±0,4	8,33±0,5	11,1±0,8	6,16±0,5	9,1±0,3	8,83±0,6
	31–36	5±0,1	8,83±0,7	11,6±0,4	5,66±0,5	7,16±0,2	8,66±0,7
	37–42	5,33±0,3	7,33±1,4	10±0,4	6±0,4	6,16±0,4	7,16±0,5
	43–48	4,16±0,4	0,5±0,3	7,5±1,0	4,5±0,7	8,83±0,5	6,33±0,6
	49–54	4,66±0,4	0	3,33±1,3	3±0,7	5,16±0,4	6,5±0,8
55–60	5,33±0,4	0	0,5±0,5	1,33±0,5	4±0,5	5,16±0,7	
№2 (фізіологічний розчин)	1–6	14,5±0,7	14,8±1,7	17,83±1,7	11,5±0,8	13,8±1,4	18,6±3,5
	7–12	12,5±0,2	11±0,5	13,1±0,4	7,33±0,8	10,3±0,3	10,6±0,5
	13–18	11,6±0,3	11,1±0,5	11,1±0,3	7,16±0,4	10±0,3	10,5±0,5
	19–24	11,6±0,2	9±0,5	10,6±0,4	6,83±0,3	9,5±0,4	10,6±0,5
	25–30	10±0,4	9,5±0,9	10±0,4	6,83±0,4	8,33±0,2	9,66±0,6
	31–36	10,1±0,6	7,5±0,7	9,83±0,2	6,66±0,5	9,16±0,3	9,83±0,7
	37–42	8,66±0,4	8,66±0,6	9,33±0,5	7,5±0,2	8, ±50,2	5,5±103
	43–48	9,16±0,4	8,83±0,3	9,5±0,6	5,83±0,8	7,16±0,5	1,16±0,3
	49–54	7,16±0,4	7,66±0,4	7,16±0,4	4,33±0,8	7±0,9	0
55–60	5,16±1,1	3±0,8	5,16±0,9	3,16±1,2	6,16±1,0	0	
№3 (N-ацетилцистеїн)	1–6	15,6±2,0	16,1±1,8	15,3±1,2	14±1,6	16±0,7	16±1,8
	7–12	10,8±0,3	13,6±0,2	13,5±0,4	12,6±0,6	12±0,6	13±0,6
	13–18	11,1±0,5	15,5±0,7	15,3±0,5	14,8±0,4	13,5±0,4	14,1±0,4
	19–24	11,3±0,7	17,3±0,6	15,6±0,3	16,1±0,3	13,5±0,5	13,2±1,3
	25–30	12,6±0,5	16,3±0,9	14,8±0,3	17,6±0,8	14,6±0,5	13,8±1,0
	31–36	12,8±0,5	16±0,4	15,1±0,5	12,3±0,9	16±0,4	12,8±1,1
	37–42	14,1±0,5	15,8±0,4	16,6±0,4	13,1±0,8	16,8±0,9	16,5±0,9
	43–48	15±0,4	15,6±0,4	18,5±0,2	13,5±0,9	17,6±0,2	14,5±1,3
	49–54	14,6±0,7	16,6±0,8	16,8±0,9	15,1±0,8	15,1±0,7	12,3±0,8

Примітки. 1–6 – Кількість обертів шести тварин із кожної експериментальної групи. Усереднення проводили за шістьма експериментами для кожної тварини.

обертатись зі швидкістю аналогічною до щурів груп 1 і 2. Так, у щурів з ін'єкцією N-АЦ у перші 12 хв експерименту спостерігали зменшення середньої кількості обертів на 15–20 %, після чого інтенсивність циркуляторних рухів поступово збільшувалося до початкових значень. Наприклад, щур № 2 з групи тварин з ін'єкцією N-АЦ після ін'єкції АМ починав обертатись із середньою швидкістю $16,1 \pm 1,8$ об/хв і закінчував експеримент через годину зі швидкістю $16,6 \pm 0,8$ об/хв, із загальною кількістю оборотів протягом години 783. Однофакторний аналіз варіацій ANOVA використано для оцінки дії N-АЦ на інтенсивність рухів тварин усіх трьох експериментальних груп. Апостеріорний аналіз Bonferroni засвідчив достовірне ($p < 0,001$) збільшення середнього числа обертів у щурів групи 3, порівняно з тваринами груп 1 і 2, починаючи з 13–18 хв.

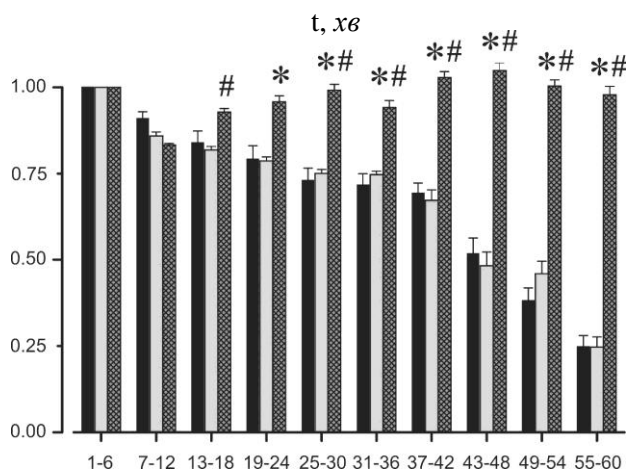


Рис. 2. Нормовані (відносно до першої шестихвилинки) усереднені (середнє \pm стандартна похибка середнього) значення кількості обертів за хвилину в щурів з ін'єкцією апоморфіну

Примітки. Чорні, сірі та заштриховані стовпчики – контрольна група тварин, щури з попередньою системною ін'єкцією фізіологічного розчину та попередньою ін'єкцією N-АЦ.

Обговорення

Отже, отримані результати проведеного нами дослідження виявили значне зменшення обертів у тварин контрольної групи щурів і тварин із попередньою ін'єкцією фізіологічного розчину. Тобто протягом однієї години експерименту, починаючи від ін'єкції АМ та до кінця експерименту, кількість обертів за хвилину в таких тварин зменшилася приблизно на 70 %. Відомо, що після тривалої фізичної активності метаболізм у м'язах значно

посилюється. Це призводить до накопичення вторинних продуктів окислення в м'язових волокнах і надалі сприяє розвитку втоми [16]. Під час інтенсивної фізичної активності, потік кисню через м'язові клітини значно збільшується. Високий рівень поглинання кисню може спричинити до надмірне утворення АФК та пов'язується із хворобливою чутливістю м'язів і руйнуванням міофібрил [17]. Водночас в умовах м'язового стомлення під час біохімічного дослідження тканин ТМЛ виявило значне збільшення продуктів метаболізму (LA) й маркерів прооксидантного та окисного стресу (TBARS і H_2O_2). Таке зростання концентрації маркерів призводило до підвищення активності ендогенних антиоксидантів GSH, CAT, GPx і SOD у волокнах ТМЛ. Уведення ж N-АЦ спричиняли до зниження рівня активності TBARS і H_2O_2 та GSH, CAT, GPx і SOD майже до контрольних значень. Передбачається, що N-АЦ впливає на вміст та активність ендогенних антиоксидантів і може певною мірою запобігати стомленню під час активного скорочення м'язів, підтримуючи тим самим їх нормальний фізіологічний стан [11].

Відомо, що посилення вільнорадикальних процесів є одним із головних патогенних факторів розвитку втоми скелетних м'язів [18]. При значних фізичних навантаженнях спостерігаємо сильне перевиробництво вільних радикалів у м'язовій тканині [19]. Використання екзогенних антиоксидантів різної природи призводить до значного зниження кількості вільних радикалів у скелетних м'язах при інтенсивних фізичних навантаженнях і збільшує час розвитку м'язової втоми [20–22]. Вищеописані дані демонструють доцільність використання антиоксидантів для корекції рівня окисного стресу в м'язовій тканині при екстремальних впливах на організм.

Висновок

Порівнюючи поведінкові тести на щурах у трьох групах, можемо припустити, що зменшення кількості обертів щурів контрольної групи й тварин із попередньою ін'єкцією фізіологічного розчину відбувалося не через припинення дії апоморфіну, а через розвиток м'язової втоми під час тривалих циркуляторних рухів. Водночас у щурів третьої групи після застосування N-АЦ зниження середньої кількості обертів не спостерігалось. Це може вказувати на активацію захисної дії антиоксидантної системи у відповідь на тривалу м'язову активність, а N-АЦ можна розглядати як потужний активатор захисних

механізмів, спрямованих на зниження стомлюваності скелетних м'язів.

Література

1. Ervilha, U. F.; Farina, D.; Arendt-Nielsen, L.; Graven-Nielsen T. Experimental muscle pain changes motor control strategies in dynamic contractions. *Exp Brain Res*, 2005; 164, 215–224 <https://doi.org/10.1007/s00221-005-2244-7>
2. Gandevia, S. C.; Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiol Rev*; 2001, 8, 1725–1789 <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.4.1725>
3. Pinheiro, C. H. J.; Vitzel, K. F.; Curi, R. Effect of N-acetylcysteine on markers of skeletal muscle injury after fatiguing contractile activity. *Scand J Med Sci Sports*; 2012, 22, 24–33 <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2010.01143.x>
4. Powers, S. K.; Jackson, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*; 2008, 88, 1243–1276 <https://dx.doi.org/10.1152/2Fphysrev.00031.2007>
5. Banerjee, A. K.; Mandal, A.; Chanda, D.; Chakraborti, S. Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Mol Cell Biochem*; 2003, 253, 307–312.
6. Boyas, S.; Guervel, A. Neuromuscular fatigue in healthy muscle: Underlying factors and adaptation mechanisms. *Ann Phys Rehabil Med*; 2011, 54, 88–108 <https://doi.org/10.1016/j.rehab.2011.01.001>
7. Reid, M. B.; Stokić, D. S.; Koch, S. M.; Khawli F. A.; Leis, A. A. N-acetylcysteine inhibits muscle fatigue in humans. *J Clin Invest*; 1994, 94, 2468–2474 <https://doi.org/10.1172/JCI117615>
8. Harris, R. C.; Sale C. Beta-alanine supplementation in high-intensity exercise. *Med Sport Sci*; 2012, 59, 1–17 <https://doi.org/10.1159/000342372>
9. Gharbi, N.; Pressac, M.; Hadchouel, M.; Szwarc, H.; Wilson, S. R.; Moussa F. C60 fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity. *Nano Lett*; 2005, 5, 2578–2585.
10. Prylutskyy, Y. I.; Vereshchaka, I. V.; Maznychenko, A. V.; Bulgakova, N. V.; Gonchar, O. O.; Kyzyma, O. A.; Ritter, U.; Scharff, P.; Tomiak, T.; Nozdrenko, D. M.; Mishchenko, I. V.; Kostyukov, A. I. C₆₀ fullerene as promising therapeutic agent for correcting and preventing skeletal muscle fatigue. *J Nanobiotechnology*; 2017, 15(1), 8 <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0246-1>
11. Vereshchaka, I.V.; Bulgakova, N. V.; Maznychenko, A. V.; Gonchar, O. O.; Prylutskyy, Y. I.; Ritter, U.; Moska, W.; Tomiak, T.; Nozdrenko, D. M.; Mishchenko, I. V.; Kostyukov, A. I. C₆₀ Fullerenes diminish muscle fatigue in rats comparable to N-acetylcysteine or в-alanine. *Front Physiol*, 2018, 9, 517
12. Maisky, V. A.; Oleshko, N. N.; Bazilyuk, O. V.; Talanov, S. A.; Sagach, V. F.; Appenzeller, O. Fos and nitric oxide synthase in rat brain with chronic mesostriatal dopamine deficiency: effects of nitroglycerin and hypoxia. *Parkinsonism Relat Disord*; 2002, 8:261–270
13. Talanov, S. A.; Maisky, V. A.; Fedorenko, O. A. Natural complexes are more effective in neuroprotection than single antioxidants. *Neuromedicine*; 2017, 1:1–8 <http://www.isaacpub.org/23/1458/1/1/11/2018/NRM.html>
14. Paxinos, G., Watson, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 3rd edition. Academic Press; 1997.
15. Kirik, D.; Rosenblad, C.; Björklund, A. Characterization of behavioral and neurodegenerative changes following partial lesions of the nigrostriatal dopamine system induced by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat. *Exp Neurol*; 1998, 152, 259–277 <https://doi.org/10.1006/exnr.1998.6848>
16. Casey, D. P.; Joyner, M. J. Local control of skeletal muscle blood flow during exercise: influence of available oxygen. *J Appl Physiol*; 2011, 111, 1527–1538 <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00895.2011>
17. Clanton, T. L.; Zuo, L.; Klawitter P. Oxidants and skeletal muscle function: physiologic and pathophysiologic implications. *Proc Soc Exp Biol Med*; 1999, 222, 253–262 <https://doi.org/10.1046/j.1525-1373.1999.d01-142.x>
18. Lee, K. P.; Shin, Y. J.; Cho, S. C.; Lee, S. M.; Bahn, Y. J.; Kim, J. Y.; Kwon, E. S.; Jeong, D. Y.; Park, S. C.; Rhee, S. G.; Woo, H. A.; Kwon, K. S. Peroxiredoxin 3 has a crucial role in the contractile function of skeletal muscle by regulating mitochondrial homeostasis. *Free Radical Biol Med*; 2014, 77, 298–306 <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.09.010>
19. Clarkson, P. M.; Thompson, H. S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr*; 2000, 72, 637–646 <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.2.637S>
20. Ferreira, L. F.; Reid, M. B. Muscle-derived ROS and thiol regulation in muscle fatigue. *J Appl Physiol*; 2008, 104, 853–860 <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00953.2007>
21. Mach, J.; Midgley, A. W.; Dank, S.; Grant, R.; Bentley, D. J. The effect of antioxidant supplementation on fatigue during exercise: potential role for NAD⁺(H). *Nutrients*; 2010, 2, 319–329 <https://dx.doi.org/10.3390/2Fnu2030319>
22. Hong, S. S.; Lee, J. Y.; Lee, J. S.; Lee, H. W.; Kim, H. G.; Lee, S. K.; Park, B. K.; Son, C. G. The traditional drug Gongjin-Dan ameliorates chronic fatigue in a forced-stress mouse exercise model. *J Ethnopharmacol*; 2015, 168, 268–278.