

<https://doi.org/10.15407/knit2023.05.060>  
УДК 523.3-36:523.43-36:577.112.384.4:577.175.82:612.815.1

**Н. В. КРИСАНОВА**, старш. наук. співроб., канд. біол. наук

**М. В. ДУДАРЕНКО**, молодш. наук. співроб.

**А. О. ПАСТУХОВ**, наук. співроб., канд. біол. наук

ORCID: 0000-0001-5837-6412

E-mail: pastukhovart@gmail.com

**Р. В. СІВКО**, наук. співроб., канд. біол. наук

**Л. М. КАЛИНОВСЬКА**, аспірант

ORCID: 0000-0002-3741-7040

**М. М. ДРЮК**, аспірант

**А. Г. НАЗАРОВА**, пров. інж.

**І. І. ГУТИЧ**, лаборант

**В. В. ШЛЯХОВИЙ**, інж. 1 кат.

**Н. Г. ПОЗДНЯКОВА**, старш. наук. співроб., канд. біол. наук

ORCID: 0000-0001-9922-5389

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України, відділ нейрохімії  
вул. Леонтовича 9, Київ, Україна, 01054

## ОЦІНКА ПОТЕНЦІЙНОЇ НЕЙРОАКТИВНОСТІ У НЕРВОВИХ ТЕРМІНАЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ КОМПОНЕНТА ПЛАНЕТАРНОГО ПИЛУ ФУЛЕРЕНУ C60

*Дослідження інфрачервоного спектру середовища планетарної туманності Тс 1 виявило випромінювання холодних і нейтральних фулеренів C60 та C70. Результати аналізу інфрачервоних спектрів, отриманих за допомогою космічного телескопа «Габбл» остаточно довели наявність у міжзоряному середовищі фулерену C60. Ці великі вуглецеві молекули можуть утворюватися і перебувати у міжзоряному середовищі, а також є кандидатами для пояснення багатьох дифузних смуг міжзоряного поглинання. У даній роботі оцінювалась потенційна нейроактивність компонента планетарного пилу фулерену C60 у ізольованих нервових терміналях головного мозку щурів. Показано, що фулерен C60 у неопромінену стані у концентрації 0.05...0.25 мг/мл не змінював позаклітинні рівні збуджувального нейромедіатора L-[<sup>14</sup>C]глутамату та гальмівного нейромедіатора [<sup>3</sup>H]ГАМК у препаратах нервових терміналей головного мозку. Однак підвищення концентрації до 0.5 та 1.00 мг/мл призводило до зростання позаклітинних рівнів L-[<sup>14</sup>C]глутамату та [<sup>3</sup>H]ГАМК. Тобто, фулерен C60 не викликає ознак гострої нейротоксичності у нервових терміналях головного мозку у межах концентрацій 0.05...0.25 мг/мл. Однак, враховуючи, що C60 піддається фотоокисленню, можна очікувати, що він може набувати нейротоксичних властивостей in situ.*

**Ключові слова:** планетарний пил, L-[<sup>14</sup>C]глутамат, [<sup>3</sup>H]ГАМК, синапсоми, нервові терміналі головного мозку, позаклітинні рівні нейромедіаторів.

Цитування: Крисанова Н. В., Дударенко М. В., Пастухов А. О., Сівко Р. В., Калиновська Л. М., Дрюк М. М., Назарова А. Г., Гутіч І. І., Шляховий В. В., Позднякова Н. Г. Оцінка потенційної нейроактивності у нервових терміналях головного мозку компонента планетарного пилу фулерену C60. *Космічна наука і технологія*. 2023. **29**, № 5 (144). С. 60—68. <https://doi.org/10.15407/knit2023.05.060>

© Видавець ВД «Академперіодика» НАН України, 2023. Стаття опублікована за умовами відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

## ВСТУП

За останні десятиліття за допомогою астрономічних спостережень у різних середовищах було виявлено низку молекул і різноманітних ознак міжзоряного пилу. Велика частина пилу, що визначає фізико-хімічні характеристики міжзоряного середовища, утворюється у відтоках асимптотичних гігантських зірок-гігантів і далі переробляється, коли ці об'єкти стають планетарними туманностями. У 2010 році дослідження інфрачервоного спектру середовища планетарної туманності Тс 1 виявило випромінювання холодних і нейтральних фулеренів C60 і C70. Ці дві молекули становили кілька відсотків доступного космічного вуглецю в цьому регіоні, що вказувало на те, що у певних умовах фулерени можуть ефективно формуватися у космосі [14].

Дані, отримані за допомогою інфрачервоного спектрографа на космічному телескопі Spitzer в 2012 р., вперше надали докази наявності C60 у твердій фазі бінарної системи XX Орн, що складається з пізнього (M7III) гіганта та ранньої (B0V?) зірки. Гаряча зірка цієї системи є субкарликом В, який оточений іонізованою оболонкою та оболонкою, що містить C60, імовірно у формі диска [19].

Наприкінці 2015 р. групі швейцарських та німецьких дослідників, очолюваній Джоном Майером із Базельського університету, вдалося довести у лабораторних умовах наявність у міжзоряному просторі фулерену C60<sup>+</sup>, що мав позитивний заряд. Були проаналізовані іони фулерена C60<sup>+</sup> у газовій фазі, при температурі 5.8 К. Отримані спектри в інфрачервоній області точно збігалися з двома дифузними міжзоряними лініями. За оцінками вчених, у цій формі може перебувати до 0.9 % космічного вуглецю [15].

У 2019 р. результати аналізу інфрачервоних спектрів, отриманих за допомогою космічного телескопа «Габбл» остаточно довели наявність у міжзоряному середовищі фулерену C60<sup>+</sup>. Співвідношення довжин хвиль і сили діапазону виявились достатньо подібними до тих, які були визначені в останніх лабораторних експериментах. Це підтвердило гіпотези про те, що великі

вуглецевмісні молекули можуть утворюватися і перебувати у міжзоряному середовищі, а також є кандидатами для пояснення багатьох дифузних смуг міжзоряного поглинання [17].

Необхідно підкреслити, що при довготривалих пілотованих космічних місіях однією з можливих причин виникнення порушень функціонування мозку може бути вплив планетарного та міжзоряного пилу, склад і властивості якого, а також вплив на здоров'я людини, зокрема нейротоксична дія, недостатньо досліджені [5, 6, 23]. Показано, що частинки місячного пилу сорбуються на скафандрах і потрапляють всередину космічних станцій [32, 40]. Внаслідок безпосереднього контакту з частинками місячного пилу протягом декількох місій «Аполлон» спостерігалось подразнення очей, дихальних шляхів та шкіри астронавтів. Було продемонстровано, що місячний пил, а також наночастинки є причиною запалення [13, 16], яке, як відомо, може змінювати проникність гемато-енцефалічного бар'єру [1]. Нейротоксична дія наночастинок може реалізуватись через інгібування синтезу нейромедіатора, зміну потоку іонів через клітинні мембрани, блокування транспорту нейромедіаторів у нервових закінченнях головного мозку [9, 10, 12].

Метою нашого дослідження було провести оцінку гострої нейротоксичності комерційного препарату фулерену C60 («Sigma», США), як компонента планетарного пилу. Цю мету було реалізовано шляхом оцінювання однієї з ключових характеристик синаптичної нейротрансмісії з використанням пресинаптичних нервових терміналей (синаптосом), виділених з кори великих півкуль головного мозку щура. У нервових терміналях досліджували позаклітинний рівень радіоактивно мічених нейромедіаторів L-[<sup>14</sup>C]глутамату та гамма-аміномасляної кислоти ([<sup>3</sup>H]ГАМК).

Необхідно зазначити, що глутамат і ГАМК є відповідно ключовими швидкими збудливим та гальмівним нейромедіаторами у центральній нервовій системі. Порушення транспорту/гомеостазу глутамату та ГАМК сприяє нейрональній дисфункції та патогенезу основних неврологічних розладів [4, 24].

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

**1. Матеріали.** У роботі були використані такі реактиви: Фулерен C60, NEPES (N-2-hydroxyethylpiperazine-n-2-ethanesulfonic acid), EGTA, EDTA, фіколл-400, амінооксиоцтова кислота, глутамат, сцинтиляційна рідина Sigma-Fluor® High Performance LSC Cocktail, компоненти інкубаційного середовища нервових терміналей — «Sigma», США; [<sup>3</sup>H]ГАМК, L-[<sup>14</sup>C]глутамат, «Perkin Elmer» (США).

**2. Етичні норми.** Всі експерименти були виконані відповідно до «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених Комісією з догляду, утримання й використання експериментальних тварин Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України (Протокол № 1 від 14.01.2020).

Дослідження проводили на білих щурах-самцях лінії Wistar. Щурів утримували на стандартному раціоні віварію.

**3. Виділення очищеної фракції синапсом з гомоловного мозку щурів.** Синапсоми виділяли за методом Котмана [18, 29]. У експериментах використовували щурів вагою 150...200 г. У декапітованих тварин брали великі півкулі головного мозку, відокремлюючи стовбурову частину та мозочок. Для отримання фракції синапсом готували 20 % гомогенат, використовуючи скляний гомогенізатор Поттера (зазор 0.2 мм). Середовище виділення містило 0.32M сахарози, 5 мМ NEPES-NaOH pH 7.4, 0.2 мМ EDTA. Гомогенат центрифугували при 2500g 5 хв для відокремлення ядер, кровоносних судин, зруйнованих нервових клітин. Подальше центрифугування надосадової рідини при 12000g 10 хв. дозволяло отримати «грубу» мітохондріальну фракцію, що містила мітохондрії, синапсоми, мієлінізовані залишки. Осад ресуспендували в середовищі виділення та наносили на градієнт фіколу, який містив 13, 6, 4 % фікол, приготований на середовищі виділення, і центрифугували при 70000g 45 хв на бакет-роторі. Фракцію синапсом, що отримували в інтерфазі між 13 і 6 % розчинами фіколу, збирали, розводили середовищем виділення 1:4 та центрифугували при 15000g 20 хв. Отриманий осад суспендували в середовищі, яке містило у мМ: NaCl-126, KCl-5, MgCl<sub>2</sub>-1.4,

NaH<sub>2</sub>PO-1.0, NEPES-20, pH 7.4, D-глюкозу-10. Всі операції проводили при 0...4 °С. Всі розчини, які використовували в операціях виділення синапсом та подальшого дослідження процесів вивільнення нейромедіатора, постійно насичували киснем. Концентрацію протеїну визначали за методом Ларсона та ін. [25].

**4. Визначення позаклітинного рівня L-[<sup>14</sup>C]глутамату у препараті синапсом.** Суспензія синапсом розводилася стандартним сольовим розчином так, що містила 1 мг протеїну/мл, і після 10 хв преінкубації при 37 °С навантажували L-[<sup>14</sup>C]глутаматом (500 нМ, 238 мКі/ммол) в кальцієвому стандартному сольовому розчині упродовж 10 хв. Після цього суспензія синапсом відмивалася 10 об'ємами стандартного сольового розчину і розводилася до концентрації 1 мг протеїну/мл і відразу використовувалася для визначення вивільнення L-[<sup>14</sup>C]глутамату з синапсом. Аліквоти (120 мкл, 25...30 мкг навантажених L-[<sup>14</sup>C]глутаматом синапсом), преінкубували 10 хв при 37 °С, потім додавали водну суспензію Фулерену C60 у концентрації 0.05...1.00 мг/мл. Позаклітинний рівень L-[<sup>14</sup>C]глутамату визначали як нестимульоване вивільнення L-[<sup>14</sup>C]глутамату з синапсом у безкальцієвому середовищі за 6 хв. Суспензію синапсом швидко осаджували у мікроцентрифузі «Eppendorf» при 10000g протягом 20 с. Аліквоти надосаду (90 мкл) та солюбілізованого додецилсульфатом натрію осаду (90 мкл) змішували зі сцинтиляційною рідиною Sigma-Fluor® High Performance LSC Cocktail (1.5 мл) та визначали радіоактивність за допомогою сцинтиляційного лічильника Hidex 600SL (Фінляндія). Загальний вміст радіоактивно міченого L-[<sup>14</sup>C]глутамату визначали як суму радіоактивності у аліквоті надосаду та у аліквоті солюбілізованого осаду. Позаклітинний рівень L-[<sup>14</sup>C]глутамату обчислювали як відсоток від загального вмісту радіоактивно міченого L-[<sup>14</sup>C]глутамату, накопиченого синапсомами [8, 36].

**5. Визначення позаклітинного рівня [<sup>3</sup>H]ГАМК у препараті синапсом.** Синапсоми (2 мг протеїну/мл) в оксигенованому стандартному сольовому розчині, який містив 10 мкМ амінооксиоцтової кислоти, інкубували 5 хв при 37 °С у присутності 5 · 10<sup>-7</sup> М (0.1 Кі/мл) [<sup>3</sup>H]ГАМК.

Після охолодження на льоду суспензію втричі розводили охолодженим сольовим розчином і центрифугували при 4000g 5 хв. Осад суспендували при температурі 4 °C і концентрації протеїну 1 мг/мл у сольовому розчині, який містив 10 мкМ амінооксиоцтової кислоти. Синаптосоми, що акумулювали [<sup>3</sup>H]ГАМК (1 мг протеїну/мл), негайно використовували для вивчення процесів вивільнення ГАМК. Аліквоти (120 мкл, 25...30 мкг навантажених [<sup>3</sup>H]ГАМК синапсом), преінкубували 10 хв при 37 °C, потім додавали водну суспензію Фулерену С60 у концентраціях 0.05...1.00 мг/мл. Позаклітинний рівень [<sup>3</sup>H]ГАМК визначали як нестимульоване вивільнення [<sup>3</sup>H]ГАМК з синапсом за 6 хв. Суспензію синапсом швидко осаджували у мікроцентрифузі «Eppendorf» при 10000g протягом 20 с. Аліквоти надосаду (90 мкл) та солюбілізованого додецилсульфатом натрію осаду (90 мкл) змішували зі сцинтиляційною рідиною Sigma-Fluor® High Performance LSC Cocktail (1.5 мл) та визначали радіоактивність за допомогою сцинтиляційного лічильника Hidex 600SL (Фінляндія). Загальний вміст радіоактивно міченої [<sup>3</sup>H]ГАМК визначали як суму радіоактивності у аліквоті надосаду та у аліквоті солюбілізованого осаду. Позаклітинний рівень [<sup>3</sup>H]ГАМК обчислювали як відсоткову долю від загального вмісту радіоактивно міченої [<sup>3</sup>H]ГАМК, накопиченого синапсом [11, 30].

**6. Статистична обробка результатів.** Результати представлено як середнє ± SEM в *n* незалежних експериментах. Різницю між двома групами порівнювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (One-way ANOVA). Різниця вважалася достовірною при  $p < 0.05$ . Статистична обробка даних, побудова графіків і розрахунки функцій проводили з використанням програми Excel.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Na<sup>+</sup>-залежні транспортери глутамату та ГАМК є ключовими учасниками термінації синаптичної нейротрансмісії та опосередковують поглинання нейромедіаторів у цитоплазму та встановлення позаклітинного рівня нейромедіаторів [7]. Ці транспортери використовують електрохімічний градієнт Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> через плазматичну мембрану як

рушійну силу. Порушення позаклітинного рівня глутамату призводить до нейротоксичності та загибелі постсинаптичних нейронів завдяки надмірному збудженню глутаматних рецепторів на їхній мембрані. Підвищення позаклітинного рівня ГАМК може призвести до порушення балансу збудження-гальмування у нервовій системі.

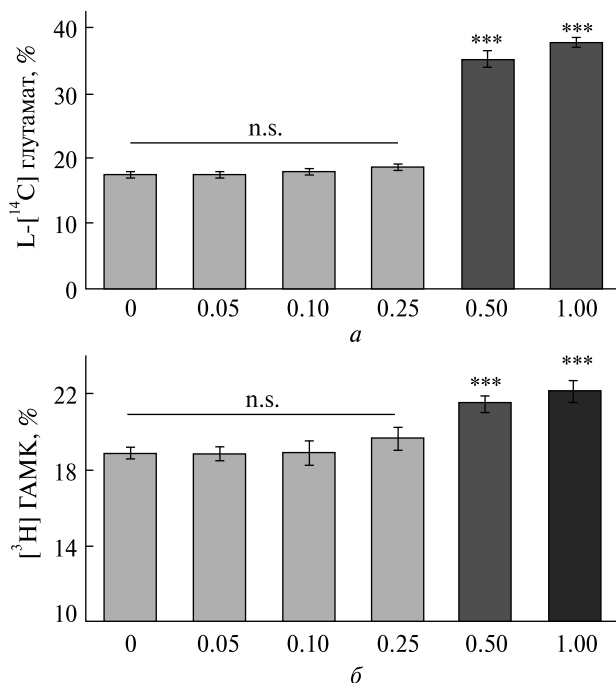
У наших експериментах було показано, що фулерен С60 у діапазоні концентрацій від 0.05 до 0.25 мг/мл не змінював позаклітинного рівня L-[<sup>14</sup>C]глутамату у препаратах синапсом.

Як показано на рис. 1, а, позаклітинний рівень L-[<sup>14</sup>C]глутамату у препаратах синапсом дорівнював 17.51 ± 0.46 % від загальної кількості накопиченого синапсом радіоактивно міченого L-[<sup>14</sup>C]глутамату в контролі, 17.36 ± 0.39 % при наявності 0.05 мг/мл фулерену С60 [ $F_{(1,22)} = 0.06, p = 0.79, n = 12$ ], 17.88 ± 0.51 % при наявності 0.10 мг/мл фулерену С60 [ $F_{(1,22)} = 0.31, p = 0.57, n = 12$ ], 18.58 ± 0.42 % при наявності 0.25 мг/мл фулерену С60 [ $F_{(1,22)} = 3.24, p = 0.08, n = 12$ ].

Однак при збільшенні концентрації фулерену С60 до 0.50 мг/мл і 1.00 мг/мл спостерігалось підвищення позаклітинного рівня L-[<sup>14</sup>C]глутамату у препаратах синапсом, який становив 35.21 ± 1.18 % від загальної кількості накопиченого синапсом радіоактивно міченого L-[<sup>14</sup>C]глутамату при концентрації фулерену С60 0.50 мг/мл [ $F_{(1,22)} = 212.49, p < 0.001, n = 12$ ], та 37.84 ± 0.85 % для концентрації фулерену С60 1.00 мг/мл [ $F_{(1,22)} = 483.39, p < 0.001, n = 12$ ] (рис. 1, а).

Позаклітинний рівень [<sup>3</sup>H]ГАМК у препараті синапсом також не змінювався при наявності фулерену С60 у діапазоні концентрацій від 0.05 до 0.25 мг/мл і становив 18.94 ± 0.29 % від загальної кількості накопиченої синапсом радіоактивно міченої [<sup>3</sup>H]ГАМК у контролі, 18.89 ± 0.37 % при наявності 0.05 мг/мл фулерену С60 [ $F_{(1,22)} = 0.01, p = 0.91, n = 12$ ], 18.96 ± 0.62 % при наявності 0.10 мг/мл фулерену С60 [ $F_{(1,22)} = 0.0007, p = 0.97, n = 12$ ], 19.68 ± 0.61 % при наявності 0.25 мг/мл фулерену С60 [ $F_{(1,22)} = 1.29, p = 0.26, n = 12$ ] (рис. 1, б).

Підвищення концентрації фулерену С60 в суспензії синапсом, навантажених [<sup>3</sup>H]ГАМК, до 0.50 мг/мл і 1.00 мг/мл так само, як і в экс-



**Рис. 1.** Позаклітинні рівні L-[<sup>14</sup>C]глутамату (а) та [<sup>3</sup>H]ГАМК (б) у препаратах синапсомом при наявності фулерену С60 у концентраціях 0.05...1.00 мг/мл. Дані представлені у вигляді середнього значення ± SEM, n = 12, \*\*\* — достовірна різниця порівняно з контролем на рівні p < 0.001, n.s. — достовірної різниці немає

периментах з L-[<sup>14</sup>C]глутаматом, призводило до зростання позаклітинного рівня [<sup>3</sup>H]ГАМК, який дорівнював  $21.55 \pm 0.46$  % від загальної кількості накопиченої синапсомомами радіоактивно міченої [<sup>3</sup>H]ГАМК при концентрації фулерену С60 0.50 мг/мл [ $F_{(1,22)} = 25.52, p < 0.001, n = 12$ ], та  $22.17 \pm 0.65$  % при концентрації фулерену С60 1.00 мг/мл [ $F_{(1,22)} = 22.63, p < 0.001, n = 12$ ] (рис. 1, б).

Тобто, фулерен С60 у концентрації 0.05...0.25 мг/мл не змінював позаклітинні рівні L-[<sup>14</sup>C]глутамату та [<sup>3</sup>H]ГАМК у препаратах нервових терміналей головного мозку, але у діапазоні концентрацій 0.5...1.00 мг/мл було зареєстровано збільшення позаклітинного рівня обох нейромедіаторів.

З моменту свого відкриття фулерен С60 привернув увагу біологів завдяки своїй унікальній хімії та потенційному біологічному застосуванню. Його відносно великий розмір (~0.7 нм), архітектура

порожнистої сфери, широка електрична кон'югація, електрофільність, симетрія, низька токсичність і здатність накопичуватися у біологічних тканинах — все це створює унікальні можливості для застосування фулерену С60 у широкому спектрі галузей від матеріалознавства до медицини.

Фулерен С60 також привернув значну увагу своїм потенціалом як антиоксидант і поглинач АФК (активних форм кисню) [28]. Було показано, що похідні фулерену С60 поглинають ряд вільних радикалів, зокрема супероксидні та гідроксильні радикали [41]. Також було показано, що різні похідні фулерену С60 можуть локалізуватися на мітохондріальній мембрані і що фулерен С60 може впливати на функцію мітохондрій *in vitro* [34], та зроблено припущення, що фулерен С60 може локалізуватися на мітохондріальній мембрані *in vivo* та детоксикувати мітохондріальні АФК. Згідно з гіпотезою це повинно запобігти пошкодженню клітин і пом'якшити довгострокову токсичність мітохондріальних АФК, можливо навіть продовжити здорову тривалість життя, якщо мітохондріальні або вільнорадикальні теорії старіння виявляться істотним внеском у довголіття людини.

Одним із найбільш вражаючих результатів досліджень впливу фулеренів С60 *in vivo* отримано у експерименті, який показав, що група щурів, яким з юності вводили фулерен С60, розчинений в оливковій олії (С60-ОО), мала подовжену середню тривалість життя (збільшення на 90 %) порівняно з щурами, які отримували лише дозу з оливковою олією (ОО) або взагалі без нічого [3]. Однак інше дослідження надало докази шкідливого впливу С60 на ембріони мишей *in vitro* та *in vivo* [39], тоді як ряд досліджень були зосереджені на захисних властивостях фулерену С60 у конкретних моделях ушкодження [2, 35]. Дослідження тривалості життя гризунів було проведено також з використанням похідних фулеренів, карбоксифулеренів, які мають важливі фізичні та хімічні відмінності від фулерену С60. Миші, які отримували карбоксифулерен, жили на 11 % довше, ніж контрольні миші з покращеною когнітивною діяльністю [31].

Таким чином, дослідження виявили різноманітний вплив фулеренів С60 *in vitro* та *in vivo*.

Потенційна здатність продовжити термін життя, і розбіжність в отриманих результатах, можливий токсичний вплив за певних умов, особливо в умовах довготривалих космічних місій, потребує подальших досліджень, які є надзвичайно цінними.

Літературні джерела свідчать, що фулерен С60 руйнується під дією УФ-опромінення [38]. Повідомлялося також про полімеризацію та агрегацію фулерену після впливу світла, що свідчить про те, що з С60 можуть відбуватися численні перетворення [22, 37].

Функціоналізовані похідні фулерену С60 були досліджені як протипухлинні фотосенсибілізатори у фотодинамічній терапії [21], противірусні молекули як інгібітори протеази ВІЛ [20], вектори доставки ліків для пептидів [33], генів та інших великих молекул [27, 42], а також агенти діагностичної візуалізації як металеві кон'югати [26].

Враховуючи, що фулерен С60 піддається фотоокисленню, можна очікувати, що він може набувати нейротоксичних властивостей *in situ*. Це питання потрібно додатково досліджувати у модельних експериментах, що автори роботи планують виконати у подальших дослідженнях. Зо-

крема, планується дослідити вплив фулерену С60 на ключові характеристики синаптичної передачі у нервових терміналях головного мозку для умов моделювання космічного випромінювання.

Таким чином, у даній роботі показано, що компонент планетарного пилу фулерен С60 у неопроміненому стані при концентрації 0.05...0.25 мг/мл не змінював позаклітинні рівні L-[<sup>14</sup>C]глутамату та [<sup>3</sup>H]ГАМК у препаратах нервових терміналей головного мозку. Тобто, фулерен С60 не викликає ознак гострої нейротоксичності у нервових терміналях за цих концентрацій. У діапазоні концентрацій 0.5...1.00 мг/мл було зареєстровано збільшення позаклітинного рівня обох нейромедіаторів, і відповідно порушення балансу збудження-гальмування у нервових терміналях.

*Роботу виконано за підтримки Цільової програми наукових досліджень Національної академії наук України «Аерокосмічні спостереження довкілля в інтересах сталого розвитку та безпеки» (ERA-PLANET-UA) на 2021—2023 рр. та Цільової комплексної програми НАН України з наукових космічних досліджень на 2018—2022 рр.*

## REFERENCES

- Abbott N. J. (2000). Inflammatory mediators and modulation of blood-brain barrier permeability. *Cell. Mol. Neurobiol.*, **20**, № 2, 131—147. DOI: 10.1023/A:1007074420772/METRICS.
- Aly F. M., Othman A., Haridy M. A. M. (2018). Protective effects of fullerene C60 nanoparticles and virgin olive oil against genotoxicity induced by cyclophosphamide in rats. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2018**. DOI: 10.1155/2018/1261356.
- Baati T., Bourasset F., Gharbi N., et al. (2012). The prolongation of the lifespan of rats by repeated oral administration of [60] fullerene. *Biomaterials*, **33**, № 19, 4936—4946. DOI: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2012.03.036.
- Borisova T. (2016). Permanent dynamic transporter-mediated turnover of glutamate across the plasma membrane of presynaptic nerve terminals: arguments in favor and against. *Rev. Neurosci.*, **27**, № 1, 71—81. DOI: 10.1515/revneuro-2015-0023.
- Borisova T. (2018). Nervous system injury in response to contact with environmental, engineered and planetary micro- and nano-sized particles. *Front. Physiol.*, **9**, 728. DOI: 10.3389/fphys.2018.00728.
- Borisova T. (2019). Express assessment of neurotoxicity of particles of planetary and interstellar dust *npj Microgravity*, **5**, № 1, 2. DOI: 10.1038/s41526-019-0062-7.
- Borisova T., Borysov A. (2016). Putative duality of presynaptic events. *Rev. Neurosci.*, **27**, № 4, 377—383. DOI: 10.1515/revneuro-2015-0044.
- Borisova T., Kucherenko D., Soldatkin O., et al. (2018). An amperometric glutamate biosensor for monitoring glutamate release from brain nerve terminals and in blood plasma. *Anal. Chim. Acta*, **1022**, 113—123.
- Borisova T., Pozdnyakova N., Dudarenko M., et al. (2021). GABAA receptor agonist cinazepam and its active metabolite 3-hydroxyphenazepam act differently at the presynaptic site. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **45**, 39—51. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2021.03.013.

10. Borisova T., Pozdnyakova N., Krisanova N., et al. (2021). Unique features of brain metastases-targeted AGuIX nanoparticles vs their constituents: A focus on glutamate-/GABA-ergic neurotransmission in cortex nerve terminals. *Food Chem. Toxicol.*, **149**, 112004. DOI: 10.1016/j.fct.2021.112004.
11. Borisova T., Pozdnyakova N., Shaitanova E., et al. (2015). Synthesis of new fluorinated analogs of GABA, Pregabalin bioisosteres, and their effects on [3H]GABA uptake by rat brain nerve terminals. *Bioorg. Med. Chem.*, **23**, № 15, 4316–4323. DOI: 10.1016/J.BMC.2015.06.038.
12. Borysov A., Krisanova N., Chunihin O., et al. (2014). A comparative study of neurotoxic potential of synthesized polysaccharide-coated and native ferritin-based magnetic nanoparticles. *Croat. Med. J.*, **55**, № 3, 195–205. DOI: 10.3325/cmj.2014.55.195.
13. Bourdon J. A., Saber A. T., Jacobsen N. R., Jensen K. A., Madsen A. M., Lamson J. S., Wallin H., Moller P., Loft S., Yauk C. L., Vogel U. B. (2012). Carbon black nanoparticle instillation induces sustained inflammation and genotoxicity in mouse lung and liver. *Particle and Fibre Toxicol.*, **9**, № 1, 5. DOI: 10.1186/1743-8977-9-5.
14. Cami J., Bernard-Salas J., Peeters E., et al. (2010). Detection of C60 and C70 in a young planetary nebula. *Science*, **329**, № 5996, 1180–1182. DOI: 10.1126/SCIENCE.1192035.
15. Campbell E. K., Holz M., Gerlich D., et al. (2015). Laboratory confirmation of C60(+) as the carrier of two diffuse interstellar bands. *Nature*, **523**, № 7560, 322–323. DOI: 10.1038/NATURE14566.
16. Chatterjee A., Wang A., Lera M., et al. (2010). Lunar soil simulant uptake produces a concentration-dependent increase in inducible nitric oxide synthase expression in murine RAW 264.7 macrophage cells. *J. Toxicol. Environ. Heal. Part A*, **73**, № 9, 623–626. DOI: 10.1080/15287390903578182.
17. Cordiner M. A., Linnartz H., Cox N. L. J., et al. (2019). Confirming interstellar C60+ using the Hubble Space Telescope. *Astrophys. J. Lett.*, **875**, № 2, L28. DOI: 10.3847/2041-8213/AB14E5.
18. Cotman C. W. (1974). Isolation of synaptosomal and synaptic plasma membrane fractions. *Methods Enzymol.*, **31**, 445–452.
19. Evans A., van Loon J. T., Woodward C. E., et al. (2012). Solid-phase C60 in the peculiar binary XX Oph. *Mon. Notic. Roy. Astron. Soc. Lett.*, **421**, № 1, L92–L96. DOI: 10.1111/J.1745-3933.2012.01213.X.
20. Friedman S. H., DeCamp D. L., Kenyon G. L., et al. (1993). Inhibition of the HIV-1 protease by fullerene derivatives: model building studies and experimental verification. *J. Amer. Chem. Soc.*, **115**, № 15, 6506–6509. DOI: 10.1021/JA00068A005.
21. Huang Y. Y., Sharma S. K., Yin R., et al. (2014). Functionalized fullerenes in photodynamic therapy. *J. Biomed. Nanotechnol.*, **10**, № 9, 1918. DOI: 10.1166/JBN.2014.1963.
22. Juha L., Krása J., Láska L., et al. (1993). Fast degradation of fullerenes by ultraviolet laser radiation. *Appl. Phys. B. Photo-phys. Laser Chem.*, **57**, № 1, 83–84. DOI: 10.1007/BF00324103/METRICS.
23. Krisanova N., Kasatkina L., Sivko R., et al. (2013). Neurotoxic potential of lunar and martian dust: influence on em, proton gradient, active transport, and binding of glutamate in rat brain nerve terminals. *Astrobiol.*, **13**, № 8, 679–692. DOI: 10.1089/ast.2012.0950.
24. Krisanova N. V., Triakash I. O., Borisova T. A. (2009). Synaptopathy under conditions of altered gravity: changes in synaptic vesicle fusion and glutamate release. *Neurochem. Int.*, **55**, № 8, 724–731. DOI: 10.1016/J.NEUINT.2009.07.003.
25. Larson E., Howlett B., Jagendorf A. (1986). Artificial reductant enhancement of the Lowry method for protein determination. *Anal. Biochem.*, **155**, № 2, 243–248. DOI: 10.1016/0003-2697(86)90432-X.
26. Liu J., Ohta S. ichi, Sonoda A., et al. (2007). Preparation of PEG-conjugated fullerene containing Gd3+ ions for photodynamic therapy. *J. Control. Release*, **117**, № 1, 104–110. DOI: 10.1016/J.JCONREL.2006.10.008.
27. Maeda-Mamiya R., Noiri E., Isobe H., et al. (2010). In vivo gene delivery by cationic tetraamino fullerene. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **107**, № 12, 5339–5344. DOI: 10.1073/PNAS.0909223107/ASSET/30D5E1E2-9A10-4F23-9643-2EE45D-A03CBA/ASSETS/GRAPHIC/PNAS.0909223107EQ2.GIF.
28. Markovic Z., Trajkovic V. (2008). Biomedical potential of the reactive oxygen species generation and quenching by fullerenes (C60). *Biomaterials*, **29**, № 26, 3561–3573. DOI: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2008.05.005.
29. Pozdnyakova N., Krisanova N., Dudarenko M., et al. (2020). Inhibition of sigma-1 receptors substantially modulates GABA and glutamate transport in presynaptic nerve terminals. *Exp. Neurol.*, **333**. DOI: 10.1016/J.EXPNEUROL.2020.113434.
30. Pozdnyakova N., Pastukhov A., Dudarenko M., et al. (2016). Neuroactivity of detonation nanodiamonds: dose-dependent changes in transporter-mediated uptake and ambient level of excitatory/inhibitory neurotransmitters in brain nerve terminals. *J. Nanobiotechnol.*, **14**, № 1, 25. DOI: 10.1186/s12951-016-0176-y.
31. Quick K. L., Ali S. S., Arch R., et al. (2008). A carboxyfullerene SOD mimetic improves cognition and extends the lifespan of mice. *Neurobiol. Aging*, **29**, № 1, 117–128. DOI: 10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2006.09.014.
32. Rehders M., Grosshäuser B. B., Smarandache A., et al. (2011). Effects of lunar and mars dust simulants on HaCaT keratinocytes and CHO-K1 fibroblasts. *Adv. Space Res.*, **47**, № 7, 1200–1213. DOI: 10.1016/j.asr.2010.11.033.

33. Rouse J. G., Yang J., Ryman-Rasmussen J. P., et al. (2007). Effects of mechanical flexion on the penetration of fullerene amino acid-derivatized peptide nanoparticles through skin. *Nano Lett.*, **7**, № 1, 155–160. DOI: 10.1021/NL062464M.
34. Santos S. M., Dinis A. M., Peixoto F., et al. (2014). Interaction of fullerene nanoparticles with biomembranes: from the partition in lipid membranes to effects on mitochondrial bioenergetics. *Toxicol. Sci.*, **138**, № 1, 117–129. DOI: 10.1093/TOXSCI/KFT327.
35. Shershakova N., Baraboshkina E., Andreev S., et al. (2016). Anti-inflammatory effect of fullerene C60 in a mice model of atopic dermatitis. *J. Nanobiotechnol.*, **14**, № 1, 1–11. DOI: 10.1186/S12951-016-0159-Z/TABLES/2.
36. Soldatkin O., Nazarova A., Krisanova N., et al. (2015). Monitoring of the velocity of high-affinity glutamate uptake by isolated brain nerve terminals using amperometric glutamate biosensor. *Talanta*, **135**, 67–74. DOI: 10.1016/j.talanta.2014.12.031.
37. Sun Y. P., Ma B., Bunker C. E., et al. (1995). All-carbon polymers (polyfullerenes) from photochemical reactions of fullerene clusters in room-temperature solvent mixtures. *J. Amer. Chem. Soc.*, **117**, № 51, 12705–12711. DOI: 10.1021/JA00156A007.
38. Taylor R., Parsons J. P., Avent A. G., et al. (1991). Degradation of C60 by light. *Nat. 1991 3516324*, **351**, № 6324, 277–277. DOI: 10.1038/351277a0.
39. Tsuchiya T., Oguri I., Yamakoshi Y. N., et al. (1996). Novel harmful effects of [60]fullerene on mouse embryos in vitro and in vivo. *FEBS Lett.*, **393**, № 1, 139–145. DOI: 10.1016/0014-5793(96)00812-5.
40. Wallace W. T., Taylor L. A., Liu Y., et al. (2009). Lunar dust and lunar simulant activation and monitoring. *Meteorit. Planet. Sci.*, **44**, № 7, 961–970.
41. Yin J. J., Lao F., Fu P. P., et al. (2009). The scavenging of reactive oxygen species and the potential for cell protection by functionalized fullerene materials. *Biomaterials*, **30**, № 4, 611. DOI: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2008.09.061.
42. Zakharian T. Y., Seryshev A., Sitharaman B., et al. (2005). A fullerene-paclitaxel chemotherapeutic: synthesis, characterization, and study of biological activity in tissue culture. *J. Amer. Chem. Soc.*, **127**, № 36, 12508–12509. DOI: 10.1021/JA0546525.

Стаття надійшла до редакції 25.07.2023

Після доопрацювання 01.08.2023

Прийнято до друку 25.08.2023

Received 25.07.2023

Revised 01.08.2023

Accepted 25.08.2023



*N. V. Krisanova*, Senior Researcher, PhD in Biology

*M. V. Dudarenko*, Junior Researcher

*A. O. Pastukhov*, Researcher, PhD in Biology

ORCID: 0000-0001-5837-6412

E-mail: pastukhovart@gmail.com

*R. V. Sivko*, Researcher, PhD in Biology

*L. M. Kalynovska*, postgraduate

ORCID: 0000-0002-3741-7040

*M. M. Driuk*, graduate student

*A. G. Nazarova*, senior engineer

*I. I. Gutich*, laboratory assistant

*V. V. Shliakhovyi*, engineer

*N. G. Pozdnyakova*, Senior Researcher, PhD in Biology

ORCID: 0000-0001-9922-5389

Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Department of Neurochemistry  
9, Leontovicha Str., Kyiv, 01054 Ukraine

#### EVALUATION OF THE POTENTIAL NEUROACTIVITY IN THE BRAIN NERVE TERMINALS OF THE C60 FULLERENE PLANETARY DUST COMPONENT

A study of the infrared spectrum of the environment of the planetary nebula Tc 1 revealed the radiation of cold and neutral fullerenes C60 and C70. The results of the analysis of infrared spectra obtained using the Hubble space telescope conclusively proved the existence of C60+ fullerene in the interstellar medium. These large carbon-containing molecules can form and exist in the interstellar medium and are candidates to explain many diffuse interstellar absorption bands. In this study, the potential neuroactivity of the C60 fullerene as a planetary dust component was assessed in the isolated rat brain nerve terminals. It was shown that C60 fullerene in the unirradiated state at concentrations of 0.05–0.25 mg/ml did not change the extracellular levels of excitatory neurotransmitter L-[<sup>14</sup>C]glutamate and inhibitory neurotransmitter [<sup>3</sup>H]GABA in the preparations of rat brain nerve terminals. An increase in fullerene C60 concentrations up to 0.5 and 1.00 mg/ml was accompanied by an increase in the extracellular levels of L-[<sup>14</sup>C]glutamate and [<sup>3</sup>H]GABA in the preparations of nerve terminals. Therefore, fullerene C60 did not cause signs of acute neurotoxicity in the brain nerve terminals within the concentration range of 0.05–0.25 mg/ml. However, given that C60 undergoes photooxidation, it can be expected that it may acquire neurotoxic properties in situ.

**Keywords:** planetary dust, fullerene C60, L-[<sup>14</sup>C]glutamate, [<sup>3</sup>H]GABA, synaptosomes, brain nerve terminals, extracellular neurotransmitter levels.