

до дії ксенобіотиків за ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку // Тези доп. наук. конф. «Вікові аспекти чутливості організму до ксенобіотиків». — Чернівці: Медик, 2002. — С. 6.

6. Кметь О. Г. Вплив різних доз пірацетаму на стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги головного мозку за гострої гіпоксії // Буковин.

мед. вісник. — 2004. — Т. 8, № 3. — С. 164-168.

7. Гмиро В. Е., Сердюк С. Е. Поиск избирательных блокаторов NMDA и AMPA/каинатных рецепторов в ряду бис-амониевых соединений с адамантильными радикалами // Эксперим. и клин. фармакология. — 2000. — Т. 63, № 1. — С. 7-13.

8. Королюк М. А., Иванова Л. И.,

Майорова И. Г. Метод определения активности каталазы // Лабор. дело. — 1988. — № 1. — С. 16-19.

9. Amphetamine selectively blocks inhibitory glutamate transmission in dopamine neurohs / A. Paladini Carlos, D. Fiorillo Christopher, Hitoshi Motikawa, John T. Williams // Nature Neurosci. — 2001. — Vol. 4, N 3. — P. 275-281.

УДК 582.282.23.045

М. Ю. Русакова, Т. О. Філіпова, Б. М. Галкін, З. І. Жиліна,
В. О. Іваниця, Ю. В. Ішков, С. В. Водзінський

ХАРАКТЕРИСТИКА ФОТОСЕНСИБІЛІЗУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ ПІРИДИЛПОРФІРИНУ В КУЛЬТУРІ *CANDIDA ALBICANS*

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

У попередніх роботах нами було показано, що сполукам, які належать до класу піридилпорфіринів, властивий досить високий рівень фотосенсибілізуючої активності [5], тому похідні дані є перспективною основою для створення препаратів — фотосенсибілізаторів (ФС), молекули яких під впливом світла з певною довжиною хвилі можуть ініціювати окиснювальні процеси, зокрема деструкцію новоутворень [3; 7]. Під час дослідження дії даних речовин на культуру *C. albicans* в рідкому середовищі було визначено, що чималий рівень впливу був властивий цинковому комплексу мезо-(4-N-метилпіридил)порфірину тозилату концентрацією 10,0 мкМ, який через 24 год спричиняв 80%-не пригнічення розвитку дріжджів [2].

Метою нашої роботи було дослідження характеру інактивуючого впливу похідних мезо-тетракіс(4-N-метилпіридил)порфірину тозилату на культуру *Candida albicans*.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводилося з використанням 5,10,15,20-тетракіс(4-N-метилпіридил)порфірину тозилату (I), а також його комплексів із цинком (Zn-I) та залізом (Fe-I). Вибір діапазону концентрацій (0,01–10,0 мкМ), а також активацію речовин здійснювали за схемами, наведеними в [2; 4].

Експериментальна тест-модель була розроблена на основі штаму дріжджів *Candida albicans* ATCC 18804, отриманого з музею кафедри мікробіології і вірусології ОНУ ім. І. І. Мечникова [1]; 0,1 мл дріжджової суспензії ($1 \cdot 10^6$ клітин/мл) після опромінення у присутності відповідної концентрації досліджуваних ФС розподіляли шпателем по поверхні предметного скла, покритого тонким шаром агару. Препарати інкубувались у вологій камері (30 °С) протягом 24–48 год і вивчалися в незабарвленому вигляді при збіль-

шенні $\times 100$. У різних точках препаратів прораховувалося 100–150 мікроколоній, які містять певне число клітин. Брунька вважалась окремою клітиною. Мікроколонії, що складаються з 1, 2, 3–9, 10–30, більш ніж 30 клітин, зараховувалися до різних класів.

Контролем служила суспензія опромінених клітин мікроорганізмів, що не містила екзогенних ФС.

Для кожного похідного експеримент проводили двічі, кількість повторів для відповідних концентрацій становила п'ять разів. Отримані результати опрацьовували методами варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента, застосовуючи програму Excel-2003.

Результати дослідження та їх обговорення

Вивчати фотодинамічну активність досліджуваних ФС можна не тільки в рідкій суспензії клітин, а також при культивуванні тест-мікроорганізмів



на твердих живильних середовищах. Вивчаючи динаміку морфологічних змін, що відбуваються під час культивування дріжджів на голодному агарі, можна встановити характер дії речовин.

Контрольні дріжджі, висіяні на агар, починають утворювати бруньки приблизно через 60–70 хв інкубації (рисунок). Незабаром процес поділу охоплює всі клітини популяції, і до кінця 4-ї години в культурі, як правило, не залишається жодної одноклітинної форми. Після завершення першого брунькування мікроорганізми вступають у другий цикл розмноження. Двоклітинні форми перетворюються у чотири-, рід-

ше — триклітинні, «пари» перетворюються на «ланцюжки», «гілочки» змінюються «дисками», типовими для тих дріжджів, які нормально розмножуються на твердому середовищі. Подальше зростання мікроколоній, аж до макроскопічних розмірів, здійснюється у формі «дисків».

Дія порфіринів на *C. albicans* істотно змінює динаміку брунькування протягом 24–48 год [6]. Характеристика впливу мезо-тетракіс(4-N-метилпіридил)порфірин тозилату (I) на розвиток *C. albicans* упродовж двох діб наводиться у табл. 1. Максимальна пригнічувальна активність спостерігалася на першу добу інкубації — 1,0 та 10,0 мкМ. Цьо-

му відповідає наявність окремих клітин (до 70 % від загальної кількості врахованих форм), які виростили на твердому середовищі. Решта елементів культури була представлена ланцюжками (до 30 %) і дископодібними колоніями з розірваними краями (до 10 %). Невеликі концентрації сполуки I також пригнічували розвиток мікроорганізмів: при мікроскопії були виявлені до 100 % — для 0,1 мкМ і близько 90 % — для 0,01 мкМ ланцюжків. Розвиток дріжджів зупинявся відразу, без поділу.

Що стосується дії вільної основи похідного, яка спостерігалася на другу добу, то її рівень значно зменшився (до рівня контролю в концентрації 1,0 мкМ). Це, очевидно, пов'язано з тим, що сполука I спричиняла формування дефектів, які гальмували розвиток клітин, але не виявлялися летальними для них, як і у випадку [9]. Втім, деяка затримка росту культури спостерігалася — до 100 % ланцюжків клітин при 0,1 мкМ і 40 % дископодібних колоній із розірваними краями — при 0,01 мкМ.

Вплив цинкового комплексу мезо-тетракіс(4-N-метилпіридил)порфірин тозилату (Zn-I) на тест-культуру залежав від концентрації та часу інкубації (табл. 2). Так, на першу добу 1,0 та 10,0 мкМ Zn-I призводили до безпосередньої затримки поділу дріжджів. Мінімальні кількості даної сполуки викликали утворення ланцюжків клітин (до 100 % — при 0,1 мкМ і близько 60 % — при 0,01 мкМ).

На другу добу інгібуюча дія досліджуваної речовини не була такою вираженою, проте спостерігався дозозалежний ефект. При цьому частка дисків із розірваним краєм зменшувалася таким чином: 0,01 мкМ (100 %) > 0,1 мкМ > 1,0 мкМ (10 %). Також було встановлено поступове збільшення кількості присутніх ланцюжків клітин до 100 % для 10,0 мкМ

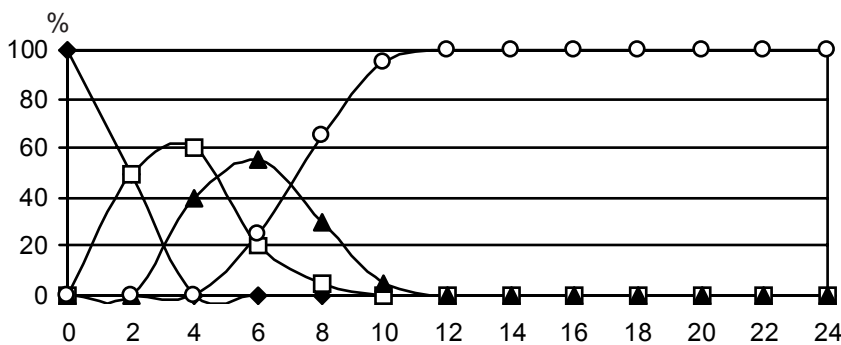


Рисунок. Динаміка зміни форм мікроколоній протягом 24 год інкубації. Всь ординат: розподіл різних форм мікроколоній (% від кількості всіх колоній); ось абсцис — час інкубації, год. Легенд: ромби — окремі клітини; квадрати — пари клітин; трикутники — ланцюжки клітин; ромби — дископодібні колонії

Таблиця 1

Форми інактивації клітин *Candida albicans* мезо-тетракіс(4-N-метилпіридил)порфірин тозилатом (I), M±m (%)

Морфологічні форми	Контроль	Концентрація сполуки, мкМ			
		0,01	0,1	1,0	10,0
24 год					
Окремі клітини	0	0	0	72,5±3,4*	69,1±2,7*
«Ланцюги»	0	91,0±3,5*	100*	27,5±1,5*	19,0±0,7*
Дископодібні колонії з розірваними краями	0	9,0±0,8*	0	0	11,9±1,1*
Дископодібні колонії	100	0	0	0	0
48 год					
Окремі клітини	0	0	0	0	0
«Ланцюги»	0	58,3±1,9*	100*	0	92,0±2,6*
Дископодібні колонії з розірваними краями	0	41,7±1,0*	0	0	8,0±0,7*
Дископодібні колонії	100	0	0	100	0

Примітка. У табл. 1–3: n=10; * — P<0,05 порівняно з контролем відповідної морфологічної групи.



Форми інактивації клітин *Candida albicans* цинковим комплексом мезо-тетракіс(4-N-метилпіридил)порфірин тозилату (Zn-I), M±m (%)

Морфологічні форми	Конт-роль	Концентрація сполуки, мкМ			
		0,01	0,1	1,0	10,0
24 год					
Окремі клітини	0	0	0	100*	100*
«Ланцюги»	0	0	53,1±4,2*	0	0
Дископодібні колонії з розірваними краями	0	0	0	0	0
Дископодібні колонії	100	100	47,0±3,7*	0	0
48 год					
Окремі клітини	0	0	0	0	0
«Ланцюги»	0	0	0	91,2±5,3*	87,3±2,6*
Дископодібні колонії з розірваними краями	0	0	0	0	12,7±3,0*
Дископодібні колонії	100	100	100	8,8±1,4*	0

Таблиця 3

Форми інактивації клітин *Candida albicans* залізним комплексом мезо-тетракіс(4-N-метилпіридил)порфірин тозилату (Fe-I), M±m (%)

Морфологічні форми	Конт-роль	Концентрація сполуки, мкМ			
		0,01	0,1	1,0	10,0
24 год					
Окремі клітини	0	90,4±5,7*	90,0±4,9*	100*	21,4±2,0*
«Ланцюги»	0	0	10,0±3,2*	0	10,0±1,7*
Дископодібні колонії з розірваними краями	0	9,6±1,7*	0	0	68,6±2,3*
Дископодібні колонії	100	0	0	0	0
48 год					
Окремі клітини	0	0	0	0	0
«Ланцюги»	0	88,3±2,8*	92,1±4,6*	100*	50,4±3,1*
Дископодібні колонії з розірваними краями	0	11,7±0,8*	7,9±1,0*	0	49,6±2,2*
Дископодібні колонії	100	0	0	0	0

Zn-I. Порівнюючи дані результати з рівнем активності цинкового комплексу на першу добу, можна припустити, що похідне Zn-I сприяло порушенням процесу транскрипції, викликаючи затримку формування молекул ДНК, як це було встановлено для інших ФС [8].

На відміну від попереднього похідного, залізний комплекс мезо-тетракіс(4-N-метилпіридил)порфірин тозилату (Fe-I) через добу після початку інкубації в усіх концентраціях викликав безпосередню, без поділу, загибель клітин (табл. 3). Для концентрацій 0,01 і 0,1 мкМ їх частка становила 90 %, а при 1,0 мкМ — 100 %. Проте при максимальному вмісті Fe-I у середовищі рівень даних елементів культури не перевищував 20 %. Решта була представлена ланцюжками (70 %) та дисками з розірваним краєм (10 %).

На другу добу досліджуваній ФС також інгібував розвиток *C. albicans*, але менш істотно — 90 % культури при 0,01 та 0,1 мкМ становили ланцюжки клітин, тобто форми віддаленої інактивації; 1,0 мкМ Fe-I викликали 100%-не ураження дріжджів, що виражалося в утворенні ланцюжків. При максимальному вмісті даної сполуки в середовищі 50 % дорівнювали ланцюжки клітин і 50 % — диски з розірваним краєм.

Таким чином, досліджувані ФС, перш за все, здійснюють гальмування першого поділу, яке має оборотний характер. При цьому висіяні на середовище мікроорганізми представлені окремими клітинами. Друга затримка розвитку відбувається після першого циклу розмноження — оборотність цього ефекту значно нижча, ніж першого. Після другого брунькування дріжджі звичайно поділяються два-п'ять разів у дещо сповільненому темпі, а потім деякі з них по-

чинають розмножуватись із звичайною швидкістю, інші ж зазнають третього пригнічення розвитку, яке майже або повністю необоротне. Це можна пояснити тим фактом, що сполуки спричиняють виникнення мутацій в окремих клітинах, кількість яких нагромаджується протягом кількох поколінь і призводить до їх загибелі. Тоді колонії, які спостерігаються при цьому, мають вигляд «дисків із розірваним краєм». Процеси реактивації в клітинах практично повністю завершу-

ються протягом 24 год їх інкубації при 30 °С, а мікроколонії, що не встигли до цього часу перетворитися на нормальні «диски», приречені на загибель.

Висновки

Отримані дані свідчать, що досліджувані похідні мезо-тетракіс(4-N-метилпіридил)порфірин тозилату викликають суттєві зміни в розвитку *C. albicans*. При використанні методу фіксованих мікроколоній



було встановлено, що 1,0–10,0 мкМ вільної основи даного похідного (I) сприяли затримці першого поділу дріжджів, який відновлювався впродовж 48 год. Менші концентрації даної сполуки призводили до віддаленого гальмування процесу розмноження мікроорганізмів, як на першу, так і на другу добу спільної інкубації. Що стосується комплексів Zn-I та Fe-I, то більш висока інгібуюча активність була характерна для мезо-тетракіс(4-N-метилпіридил)порфірин тозилату заліза, який здійснював через 24 год затримку першого циклу поділу та 48 год — значну віддалену інактивацію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Квасников Е. И., Щеколова И. Ф. Дрожжи. Биология. Пути использования. — К.: Наук. думка, 1991. — С. 45-78.
2. Русакова М. Ю. Фотоінактивація клітин *Candida albicans* в присутності синтетичних порфіринів // Вісник ОНУ. Біологія. — 2005. — Т. 10, № 3. — С. 83-88.
3. Странадко Е. Ф. Механізми действия ФДТ // Рос. онкол. журнал. — 2000. — № 4. — С. 52-56.
4. Фотодинамическая инактивація дрожжей *Candida guilliermondii* в присутствии фотодитазина / М. Г. Страховская, Н. С. Беленкина, Э. В. Иванова и др. // Микробиология. — 2002. — Т. 71, № 3. — С. 349-353.
5. Застосування дріжджів *Candida albicans* і *Rhodotorula bogoriensis* для вивчення фотосенсибілізуючих властивостей синтетичних порфіринів

/ Т. О. Філіпова, М. Ю. Русакова, Б. М. Галкін та ін. // Одес. мед. журнал. — 2003. — № 4. — С. 34-38.

6. Фрайкин Г. Я., Страховская М. Г., Рубин А. Б. Индуцированные светом процессы защиты клеток от фотоповреждений // Биохимия. — 2000. — Т. 65, № 6. — С. 865-875.

7. Korbelik M. Photosensitizers in photodynamic therapy // Periodicum biologorum. — 1991. — Vol. 96, N 4. — P. 563-574.

8. Murata M., Kowanishi S. Oxidative DNA damage by vitamin A and its derivative via superoxide generation // J. Biol. Chem. — 2000. — Vol. 275, N 3. — P. 2003-2008.

9. Endoplasmic reticulum and Golgi apparatus are the preferential sites of Foscan® localization in cultured tumour cells / М.-H. Teiten, L. Bezdetsnaya, P. Morliere et al. // Br. J. Cancer. — 2003. — Vol. 88, N 1. — P. 146-152.

УДК 616.61-008.6-092-07

В. Г. Савка

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ІНТЕНСИВНОСТІ, ЕЛІПТИЧНОСТІ ТА ПОКАЗНИКА ДВОПРОМЕНЕЗАЛОМЛЕННЯ КРИСТАЛІЧНОЇ РЕЧОВИНИ ПРИ КОРЕЛЯЦІЙНО-ОПТИЧНОМУ ДОСЛІДЖЕННІ НИРОК ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ТУБУЛО-ІНТЕРСТИЦІЙНОГО СИНДРОМУ

Буковинський державний медичний університет, Чернівці,
Чернівецький національний університет ім. Юрія Федьковича

Патогенез формування тубуло-інтерстиційного синдрому нирок зумовлений прямим колагенезостимулювальним впливом ангіотензину-2 з розвитком дифузного фіброзу кіркової, мозкової речовин і сосочка нирок [5; 6]. За допомогою кореляційно-оптичного дослідження тубуло-інтерстиційного синдрому можна виявити ступінь розростання колагену як кристалічної речовини [9; 10]. Водночас кристалічна речовина має цілу низку фізичних характеристик: інтенсивність, еліптичність, показник двопроменеазломлення, — кожну з яких

можна оцінити за допомогою таких показників, як М — середня, D — дисперсія, А — асиметрія, Е — ексцес [1]. Детальний аналіз кристалічної речовини нирок як маркера колагену за умов розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому з використанням вищеперерахованих кількісних фізичних параметрів у кірковій, мозковій речовинах і сосочку нирок практично не проводився.

Мета нашої роботи — провести патологічний аналіз стану кристалічної речовини нирок як маркера колагену при кореляційно-оптичному дослідженні за умов розвитку тубу-

ло-інтерстиційного синдрому з використанням її характеристик: інтенсивність, еліптичність, показник двопроменеазломлення з оцінкою останніх за допомогою показників: М — середня, D — дисперсія, А — асиметрія, Е — ексцес.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведено на 40 білих нелінійних щурах-самцях масою 0,16–0,18 кг за умов гіпонатрієвого раціону харчування. Тубуло-інтерстиційний синдром моделювали за допомогою одноразового введення сулеми підшкірно дозою 5 мг/кг

