

пи: 1) ВІЛ-інфіковані без вказівок на вживання за життя наркотиків — 10 (12,5 %) осіб; 2) ВІЛ-інфіковані наркомани — 70 (87,5 %) осіб.

Наголосимо, що, як і загалом, у цій вибірці переважали безробітні особи та люди без професії. Так, зокрема у першій групі (ВІЛ-інфіковані без вказівок на вживання наркотиків), 9 осіб були безробітними і лише одна жінка працювала прибиральницею. У другій групі (ВІЛ-інфіковані наркомани) 68 осіб не працювали, один чоловік був інвалідом другої групи, а один працював кухарем. Одже, більшість ВІЛ-інфікованих (77 осіб — 96 %) — це люди, так би мовити, асоціальні. Працювали з 80 осіб лише двоє.

Висновки

За матеріалами патолого-анатомічних розтинів на базі Одеського обласного патолого-анатомічного бюро, здійснен-

них упродовж 1998–2002 рр., кількість ВІЛ-інфікованих осіб обох статей наочно зростає з часом, віддзеркалюючи несприятливу епідеміологічну ситуацію у регіоні, а також безпосередній опосередкований (з погляду на репродуктивний вік померлих) втрати населення. Серед жінок переважну більшість становили особи фертильного віку

ВІЛ-інфіковані Одещини (за даними 1998–2002 рр.) переважно були людьми з низьким рівнем соціальної адаптації — особами без професії або ж робітниками. Певно, на цей соціальний аспект слід зважати при розробці будь-яких соціальних і медичних заходів протидії поширенню ВІЛ/СНІДу. Значна частка ВІЛ-інфікованих помирає вдома, не звертаючись за медичною допомогою.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гранитов В. М. ВІЧ-інфекція / СПИД, СПИД-асоційовані ін-

фекції и инвазии. — М.: Мед. книга; Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2003. — 119 с.

2. Засипка Л. Г., Котлік Л. С., Лісецька В. І. Дозорний епіднадгляд за ВІЛ-інфекцією / СНІДом в Одеській області // Инфек. контроль. — 2003. — № 1. — С. 28-30.

3. Кобыща Ю. Детерминанти распространения ВИЧ среди шприцевых наркоманов на Украине // Журн. микробиологии. — 1999. — № 1. — С. 34-36.

4. Клинико-эпидемиологические особенности ВИЧ-инфекции и СПИДа на Украине / А. Д. Вовк, А. М. Щербинская, Н. П. Ченцова и др. // Журнал микробиологии. — 1999. — № 1. — С. 29-31.

5. Казанцева И. А., Пермяков Н. К. Синдромология и патологическая анатомия инфекции ВИЧ (СПИДа) // Архив патологии. — 1990. — Т. 52, № 7. — С. 3-8.

6. Зайцев В. М., Лифляндский В. Г., Маринкин В. И. Прикладная медицинская статистика. — СПб.: ФОЛИАНТ, 2003. — 429 с.

7. Шолов В. Г. Патологична анатомія: Підручник. — Вінниця: НОВА КНИГА, 2004. — 768 с.

УДК 582.282.23.045

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

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВЗАЄМОДІЇ МЕЗО-ФЕНІЛЗАМІЩЕНИХ ТЕТРАПІРОЛІВ З ЕУКАРІОТИЧНИМИ КЛІТИНАМИ

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

Зростаюча кількість порфіринових фотосенсибілізаторів (ФС), які використовуються в терапії пухлин, стимулює створення простої й адекватної тест-моделі для визначення біологічної активності цих сполук [4; 8]. Морфологічна характеристика дріжджоподібних грибів має високий ступінь подібності з клітинами ссавців [5]. Вони легко культивуються та можуть бути використані для досліджень, проведення яких у більш складних системах занадто важке та трудомістке. Дріжджі, наприклад, такі як *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, уже не раз були тест-системами при оцінці ушкоджень у разі

фотоінактивації еукаріотичних клітин [9].

Мета нашої роботи — порівняння фотосенсибілізуючої активності (ФСА) фенілзаміщених ФС щодо культур *Candida albicans* і аденокарциноми Ерліха (АКЕ), а також характеристика інтенсивності нагромадження сполук.

Матеріали та методи дослідження

У роботі були використані дріжджі *Candida albicans* ATCC 18804 (Одеса, ОНУ ім. І. І. Мечникова) й аденокарцинома Ерліха (Київ, ІЕПОР ім. Р. Є. Кавецького НАНУ). Зберігання тест-культури мікроорганізмів і підтриман-

ня АКЕ здійснювали за схемами, наведеними в [1; 3].

Досліджувані ФС, синтезовані в ПНДЛ-5 ОНУ ім. І. І. Мечникова, є 5, 10, 15, 20-тетракісфенілпохідними хлорину (I) та порфірину (II), а також їх олов'яними комплексами (Sn-I і Sn-II відповідно).

Робоча концентрація тест-культур дорівнювала $1 \cdot 10^6$ клітин/мл. Попередня інкубація, активація речовин і визначення життєздатності клітин при вивченні ФСА проводилися, як вказано в [2; 9]. Діапазон концентрацій сполук становив 0,01–10,00 мкМ згідно з [7].

Наступним етапом роботи було вивчення динаміки проникнен-



ня сполук в еукаріотичні клітини. Підготовча частина експерименту була аналогічна такій для ФСА. При роботі з *C. albicans* відміту добову суспензію переносили для попереднього культивування (протягом 3 год) у свіжу порцію живильного середовища. Потім до всіх клітин додавали розчини ФС до одержання концентрації 1,0 мкМ. Надалі використовувались осади, отримані після центрифугування (1200 об/хв, 20 хв) суспензій, які відбиралися через відповідні проміжки часу після початку сумісної інкубації.

Для визначення кількості сполук усередині дріжджів після сумісної інкубації з них видаляли клітинну стінку за допомогою 0,5 N NaOH (50 °C) і здійснювали екстракцію ФС [1]. Вміст (мкг/1·10⁶ клітин) нагромаджених сполук у клітинах обох типів реєстрували за відповідною інтенсивністю поглинання на приладі Specord M-40, Німеччина [6].

За контроль (К) при визначенні ФСА та динаміки проникнення речовин правили відповідні суспензії клітин, до яких замість ФС додавали фізіологічний розчин. Для кожного похідного експеримент повторювали двічі, кількість повторів для кожної концентрації — чотири рази.

Отримані результати обробляти методами варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента із застосуванням програми Excel-2003.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати експерименту свідчать про те, що досліджувані фенілпохідні інтенсивно впливали на розвиток дріжджів після опромінення світлом видимої області (табл. 1). При цьому хлорини як вільна основа (I), так і олов'яний комплекс (Sn-I) у цілому виявилися більш ефективними ФС, ніж їх порфіринові аналоги. Найбільший інгібуючий вплив був властивий максимальним концентраціям усіх похідних, за винятком Sn-II, — приріст біомаси не перевищував 30 % порівняно з контролем. Що стосується Sn-II, то для 10,0 мкМ даної сполуки ефект пригнічення був менш вираженим, становлячи приблизно 50 %.

Результати, отримані при визначенні ФСА досліджуваних сполук із використанням традиційної тест-системи — АКЕ, наведені в табл. 2. Як і в культурі дріжджоподібних грибів, фенілпохідні значно змінювали життєздатність клітин, а більш ефективними ФС, у цілому, вияви-

лися фенілпохідні хлоринів (I, Sn-I).

Максимальне зменшення частини живих клітин пухлинної культури спостерігалось у присутності 0,1 мкМ більшості похідних і становило 40–75 % порівняно з контролем. Винятком виявився олов'яний комплекс мезо-тетрафенілпорфірину (Sn-II), найбільш активна концентрація якого — 10,0 мкМ — сприяла 32%-му пригніченню.

Надалі в роботі було проведено вивчення динаміки нагромадження досліджуваних сполук тест-культурами. Умови попереднього культивування *C. albicans* дозволили одержати суспензію, клітини якої знаходилися в активному фізіологічному стані. Середній розмір дріжджів став мінімальним, більшість із них, що брунькувалися, — з однорідною цитоплазмою та тонкою оболонкою [1; 5]. Очевидно, тому вже через 10 хв після початку інкубації *C. albicans* у присутності речовин був виявлений істотний внутрішньоклітинний вміст похідних (рис. 1). Максимальний вміст у середньому становив 30–55 % від доданої до середовища кількості досліджуваних сполук. При цьому більш інтенсивно дріжджами поглиналися

Таблиця 1

Активність досліджуваних фотосенсибілізаторів щодо культури *Candida albicans in vitro*, M±m (A₅₂₀, опт. од.)

Сполука	Контроль	Концентрація сполуки, мкМ			
		0,01	0,1	1,0	10,0
I	0,120±0,010	0,058±0,002*	0,039±0,005*	0,034±0,002*	0,028±0,001*
II		0,102±0,013	0,116±0,014	0,100±0,006	0,033±0,003*
Sn-I		0,051±0,004*	0,075±0,014*	0,049±0,008*	0,033±0,002*
Sn-II		0,098±0,015	0,064±0,007*	0,070±0,005*	0,065±0,006*

Примітка. У табл. 1, 2: n=8; * — P<0,05 порівняно з контролем.

Таблиця 2

Активність досліджуваних фотосенсибілізаторів щодо культури аденокарциноми Ерліха *in vitro*, M±m (A₅₄₀, опт. од.)

Сполука	Контроль	Концентрація сполуки, мкМ			
		0,01	0,1	1,0	10,0
I	1,192±0,010	0,540±0,025*	0,520±0,037*	0,600±0,032*	0,640±0,025*
II		0,325±0,038*	0,300±0,041*	0,940±0,089*	0,556±0,036*
Sn-I		1,190±0,090*	0,720±0,066*	0,998±0,038*	0,732±0,044*
Sn-II		0,850±0,053	0,940±0,030*	0,875±0,005*	0,805±0,045*



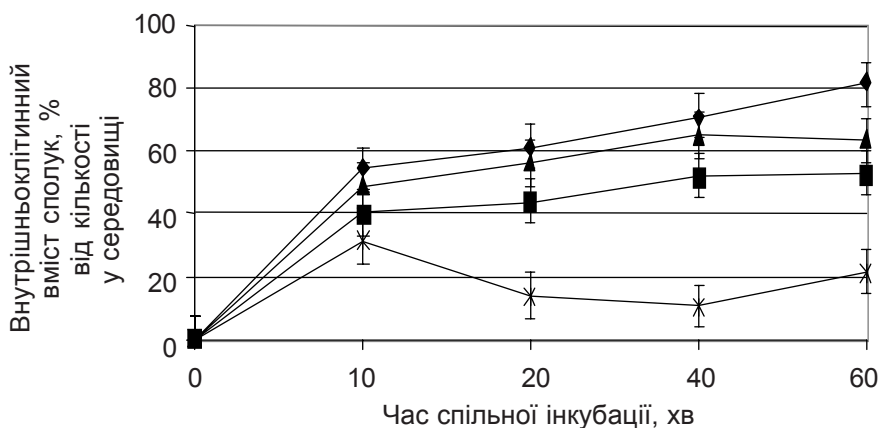


Рис. 1. Динаміка нагромадження мезо-фенілзаміщених порфіринів клітинами *Candida albicans*

Примітка. На рис. 1, 2: -◆- — сполука I; -■- — сполука II; -▲- — Sn-I; × — Sn-II

хлоринові похідні I та Sn-I, ніж їх порфіринові аналоги (II і Sn-II).

Із часом відбувалося поступове підвищення нагромадження всіх досліджуваних похідних, за винятком олов'яного комплексу мезо-тетрафенілхлорину (Sn-II). Так, починаючи з 10-ї до 40-ї хв інкубації внутрішньоклітинний рівень даної сполуки знизився практично втричі. Надалі ж кількість Sn-II трохи зросла й до кінця інкубації дорівнювала 22 %. Що стосується інших речовин, то поступове поглинання клітинами *C. albicans* привело до значного (до 81%) збільшення вмісту хлоринової основи I та практично до 50 % — для похідних II та Sn-I.

Дослідження процесу нагромадження пухлинними клітинами показало, що, як і у випадку з дріжджами, відбувалося практично миттєве поглинання значної кількості сполук (рис. 2). При цьому у клітинах АКЕ через 10 хв

після початку інкубації було визначено 68 і 55 % від вихідної кількості фенілхлоринів I і Sn-I у середовищі.

Щодо порфіринових похідних, то інтенсивність проникнення речовин усередину клітин виявилася більш низькою та дорівнювала лише 50 і 30 % для II і Sn-II відповідно. Надалі процеси нагромадження досліджуваних сполук проходили повільніше. Так, для хлоринів збільшення внутрішньоклітинного вмісту в проміжку від 10 хв і до закінчення інкубації дорівнювало у середньому 16 %, для порфіринів — приблизно 9 %.

Висновки

За рівнем фотосенсибілізуючої активності щодо *Candida albicans* досліджувані сполуки можна розташувати таким чином:

$$I > II = S-I > Sn-II,$$

щодо аденокарциноми Ерліха:

$$II > I > Sn-I > Sn-II.$$

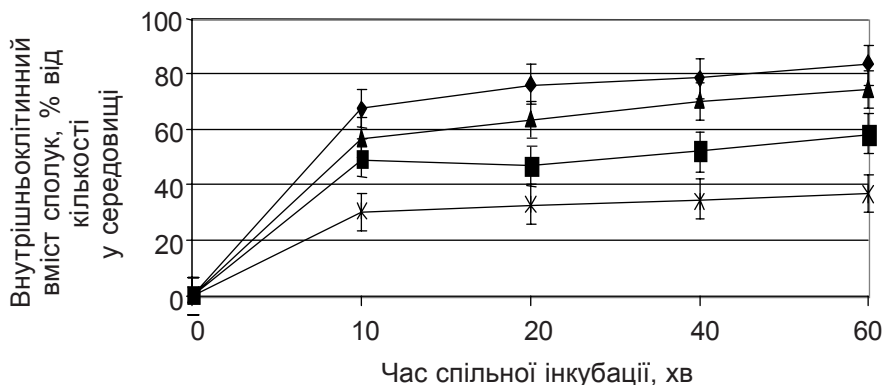


Рис. 2. Динаміка нагромадження мезо-фенілзаміщених порфіринів клітинами аденокарциноми Ерліха

Усі похідні протягом 60 хв спільної інкубації активно поглиналися клітинами тест-культур. Найбільший внутрішньоклітинний рівень спостерігався для 5, 10, 15, 20-тетракісфенілхлорину (I) та його олов'яного комплексу (Sn-I), мінімальний — для 5, 10, 15, 20-тетракісфенілпорфірину олова (Sn-II) як у культурі мікроорганізмів, так і пухлини. Незначні розбіжності, що були зафіксовані під час вивчення процесу нагромадження досліджуваних фотосенсибілізаторів, очевидно, пов'язані з різницею лінійних розмірів клітин.

Підсумовуючи одержані результати, можна дійти висновку щодо можливості використання культури *Candida albicans* для дослідження активності нових фотосенсибілізаторів як моделі системи, що дозволить отримати адекватні результати за короткий термін.

ЛІТЕРАТУРА

1. Квасников Е. И., Щекколова И. Ф. Дрожжи. Биология. Пути использования. — К.: Наук. думка, 1991. — 328 с.
2. Русакова М. Ю. Фотосенсибілізуюча активність нових синтетичних порфіринів щодо клітин *Candida albicans* // Вісник ОНУ. Біологія. — 2004. — Т. 9, № 5. — С. 183-187.
3. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / З. П. Софьяна, А. Б. Сыркин, А. Голдин и др. — М.: Медицина, 1980. — 296 с.
4. Ali H., van Lier J. E. Metal Complexes as Photo- and Radiosensitizers // Chem. Rev. — 1999. — Vol. 99, N 9. — P. 2379-2450.
5. Botstein D., Fink G. R. Yeast: an experimental organism for modern biology // Science. — 1998. — Vol. 240. — P. 1439-1443.
6. Foscan uptake and tissue distribution in relation to photodynamic efficacy / P. Cramers, M. Ruevekamp, H. Oppelaar et al. // British J. of Cancer. — 2003. — Vol. 88, N 2. — P. 283-290.
7. Jori G. Responses of tumor tissues to photodynamic therapy // Proc. SPIE. — 1994. — Vol. 2078. — P. 286-292.
8. Korbelik M. Photosensitizers in Photodynamic Therapy // Periodicum biologicorum. — 1991. — Vol. 96, N 4. — P. 563-574.
9. Lasarow R. M., Isseroff R. R., Gomez E. C. Quantitative *in vitro* assessment of phototoxicity by a fibroblast-neutral red assay // J. of Investig. Dermatology. — 2002. — Vol. 98. — P. 725-729.
10. Pinholster G. Toxicity testing in animals: alternative models // Env. Health Persp. — 2002. — Vol. 1, N 4. — P. 34-50.

