

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

---

ISSN 1512-0112

No 3 (180) March 2010

---

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии  
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

# **GEORGIAN MEDICAL NEWS**

**No 3 (180) 2010**

**ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ  
ТБИЛИСИ - НЬЮ-ЙОРК**

“**Georgian Medical News**” is a Georgian-Russian-English-German monthly journal and carries original scientific articles on medicine and biology, which are of experimental, theoretical and practical character.

“**Georgian Medical News**” is a joint publication of GMN Editorial Board and The International Academy of Sciences, Education, Industry and Arts (U.S.A.).

“**Georgian Medical News**” is included in the international system of medical information “MEDLINE” which represents the central electronic database of the world medical scientific literature. The journal is stored in the funds of US national library. It is listed in the catalogue of The Central Scientific-Medical Public Library of Russian Federation and world-wide catalogues: “*Ulrich’s International Periodicals Directory*” and “*Medical and Health Care Serials in Print*”. “MEDLINE”-sourced journal “**Georgian Medical News**” is available in Scopus – the largest abstract and citation database of research literature and quality web sources. Articles from the bulletin are under review of *scientific and technological informative journal of the Russian Academy of Sciences*.

“**Georgian Medical News**” - ежемесячный научно-медицинский рецензируемый журнал, в котором на русском, английском и немецком языках публикуются оригинальные научные статьи экспериментального, теоретического и практического характера в области медицины и биологии, статьи обзорного характера, рецензии; периодически печатается информация о проведенных научных мероприятиях, новшествах медицины и здравоохранения.

“**Georgian Medical News**” является совместным изданием с Международной Академией Наук, Образования, Искусств и Естествознания (IASEIA) США.

“**Georgian Medical News**” включен в международную систему медицинской информации “MEDLINE”, которая является центральной электронной базой данных мировой медицинской научной литературы. Журнал хранится в фондах библиотеки конгресса США; входит в каталог Государственной Центральной научно-медицинской библиотеки Российской Федерации и Всемирные каталоги *Ulrich’s International Periodicals Directory* и *Medical and Health Care Serials in Print*. Индексированный в системе “MEDLINE” журнал “**Georgian Medical News**” отражён в базе данных SCOPUS голландского издательства “Elsevier” - на данный момент самой крупной реферативной БД. Статьи из журнала реферированы в реферативном журнале *Всероссийского института научной и технической информации Российской академии наук (ВИНИТИ РАН)* и хранятся в его базе данных по медицине.

“**Georgian Medical News**” - არის ყოველთვიური სამეცნიერო სამედიცინო რეცენზირებადი ჟურნალი, რომელშიც რუსულ, ინგლისურ და გერმანულ ენებზე ქვეყნდება ექსპერიმენტული, თეორიული და პრაქტიკული ხასიათის ორიგინალური სამეცნიერო სტატიები მედიცინისა და ბიოლოგიის სფეროში, მიმოხილვითი ხასიათის სტატიები, რეცენზიები.

“**Georgian Medical News**” წარმოადგენს ერთობლივ გამოცემას აშშ-ის მეცნიერების, განათლების, ინდუსტრიის, ხელოვნებისა და ბუნებისმეტყველების საერთაშორისო აკადემიასთან (IASEIA) ერთად.

“**Georgian Medical News**” შეყვანილია სამედიცინო ინფორმაციის საერთაშორისო სისტემა “MEDLINE”-ში, რომელიც წარმოადგენს მსოფლიოს სამედიცინო სამეცნიერო ლიტერატურის ცენტრალურ ელექტრონულ მონაცემთა ბაზას. ინახება აშშ-ის კონგრესის ბიბლიოთეკის ფონდებში; შესულია რუსეთის ფედერაციის სახელმწიფო ცენტრალური სამეცნიერო ბიბლიოთეკის კატალოგსა და საერთაშორისო კატალოგებში “*Ulrich’s International Periodicals Directory*” და “*Medical and Health Care Serials in Print*”. “MEDLINE”-ის სისტემაში ინდექსირებული ჟურნალი “**Georgian Medical News**” ასახულია SCOPUS-ის მონაცემთა ბაზაში, რომელიც წარმოადგენს ჰოლანდიური გამომცემლობის “Elsevier”-ის სადღეისოდ ყველაზე მსხვილ რეფერატულ მონაცემთა ბაზას. ჟურნალში გამოქვეყნებული სტატიები რეფერირდება *რუსეთის მეცნიერებათა აკადემიის სამეცნიერო და ტექნიკური ინფორმაციის ინსტიტუტის* რეფერატულ ჟურნალში და ინახება მედიცინის მონაცემთა ბაზაში.

## МЕДИЦИНСКИЕ НОВОСТИ ГРУЗИИ

Ежемесячный совместный грузино-американский научный электронно-печатный журнал  
Агентства медицинской информации Ассоциации деловой прессы Грузии,  
Академии медицинских наук Грузии, Международной Академии Наук, Индустрии,  
Образования и Искусств США.  
Издается с 1994 г. Распространяется в СНГ, ЕС и США

### НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

Лаури Манагадзе

### ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Нино Микаберидзе

### НАУЧНО-РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Архимандрит Адам - Вахтанг Ахаладзе, Амиран Антадзе, Нелли Антелава, Тенгиз Ахметели,  
Лео Бокерия, Зураб Вадачкориа, Отар Герзмава, Лиана Гогиашвили, Николай Гонгадзе,  
Ирина Квачадзе, Зураб Кеванишвили, Палико Кинтраиа, Теймураз Лежава, Джианлуиджи Мелотти,  
Караман Пагава, Николай Пирцхалаишвили, Вальтер Стакл, Фридон Тодуа, Кеннет Уолкер,  
Рамаз Хецуриани, Рудольф Хохенфеллнер, Рамаз Шенгелия

### НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Михаил Бахмутский (США), Александр Геннинг (Германия),  
Амиран Гамкрелидзе (Грузия), Константин Кипиани (Грузия),  
Георгий Кавтарадзе (Грузия), Георгий Камкамидзе (Грузия),  
Паата Куртанидзе (Грузия), Вахтанг Масхулия (Грузия),  
Тамара Микаберидзе (Грузия), Тенгиз Ризнис (США), Дэвид Элуа (США)

Website:

[www.geomednews.org](http://www.geomednews.org)

[www.viniti.ru](http://www.viniti.ru)

The International Academy of Sciences, Education, Industry & Arts. P.O.Box 390177,  
Mountain View, CA, 94039-0177, USA. Tel/Fax: (650) 967-4733

**Версия:** печатная. **Цена:** свободная.

**Условия подписки:** подписка принимается на 6 и 12 месяцев.

**По вопросам подписки обращаться по тел.: 93 66 78.**

**Контактный адрес:** Грузия, 380077, Тбилиси, ул.Асатиани 7, IV этаж,

тел.: 995(32) 54 24 91, 995(32) 22 54 18, 39 47 82,

Fax: +995(32) 53 70 58, e-mail: [ninomikaber@hotmail.com](mailto:ninomikaber@hotmail.com); [nikopir@dgmholding.com](mailto:nikopir@dgmholding.com); [gmn@caucasus.net](mailto:gmn@caucasus.net)

**По вопросам размещения рекламы обращаться по тел.: 8(99) 97 95 93**

© 2001. Ассоциация деловой прессы Грузии

© 2001. The International Academy of Sciences,  
Education, Industry & Arts (USA)

## **GEORGIAN MEDICAL NEWS**

Monthly Georgia-US joint scientific journal published both in electronic and paper formats of the Agency of Medical Information of the Georgian Association of Business Press; Georgian Academy of Medical Sciences; International Academy of Sciences, Education, Industry and Arts (USA).

Published since 1994. Distributed in NIS, EU and USA.

### **SCIENTIFIC EDITOR**

Lauri Managadze

### **EDITOR IN CHIEF**

Nino Mikaberidze

### **SCIENTIFIC EDITORIAL COUNCIL**

Archimandrite Adam - Vakhtang Akhaladze, Amiran Antadze, Nelly Antelava, Tengiz Akhmeteli, Leo Bokeria, Otar Gerzmava, Liana Gogiashvili, Nicholas Gongadze, Rudolf Hohenfellner, Zurab Kevanishvili, Ramaz Khetsuriani, Paliko Kintraia, Irina Kvachadze, Teymuraz Lezhava, Gianluigi Melotti, Kharaman Pagava, Nicholas Pirtskhalaishvili, Ramaz Shengelia, Walter Stackl, Pridon Todua, Zurab Vadachkoria, Kenneth Walker

### **SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD**

Michael Bakhmutsky (USA), Alexander Gënning (Germany), Amiran Gamkrelidze (Georgia), David Elua (USA), Konstantin Kipiani (Georgia), Giorgi Kavtaradze (Georgia), Giorgi Kamkamidze (Georgia), Paata Kurtanidze (Georgia), Vakhtang Maskhulia (Georgia), Tamara Mikaberidze (Georgia), Tengiz Riznis (USA),

### **CONTACT ADDRESS IN TBILISI**

GMN Editorial Board  
7 Asatiani Street, 4<sup>th</sup> Floor  
Tbilisi, Georgia 380077

Phone: 995 (32) 54-24-91  
995 (32) 22-54-18  
995 (32) 39-47-82  
Fax: 995 (32) 53-70-58

### **CONTACT ADDRESS IN NEW YORK**

D. & N. COM., INC.  
111 Great Neck Road  
Suite # 208, Great Neck,  
NY 11021, USA

Phone: (516) 487-9898  
Fax: (516) 487-9889

### **WEBSITE**

[www.geomednews.org](http://www.geomednews.org)  
[www.viniti.ru](http://www.viniti.ru)

## К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ!

При направлении статьи в редакцию необходимо соблюдать следующие правила:

1. Статья должна быть представлена в двух экземплярах, на русском или английском языках, напечатанная через полтора интервала на одной стороне стандартного листа с шириной левого поля в три сантиметра. Используемый компьютерный шрифт - **Times New Roman (Кириллица)**, размер шрифта - **12**. К рукописи, напечатанной на компьютере, должна быть приложена дискета со статьёй. Файл следует озаглавить латинскими символами.

2. Размер статьи должен быть не менее шести и не более пятнадцати страниц машинописи, включая указатель литературы и резюме на английском, русском и грузинском языках.

3. В статье должны быть освещены актуальность данного материала, методы и результаты исследования и их обсуждение.

При представлении в печать научных экспериментальных работ авторы должны указывать вид и количество экспериментальных животных, применявшиеся методы обезболивания и усыпления (в ходе острых опытов).

4. Таблицы необходимо представлять в печатной форме. Фотокопии не принимаются. **Все цифровые, итоговые и процентные данные в таблицах должны соответствовать таковым в тексте статьи.** Таблицы и графики должны быть озаглавлены.

5. Фотографии должны быть контрастными и обязательно представлены в двух экземплярах. Рисунки, чертежи и диаграммы следует представлять четко выполненные тушью; фотокопии с рентгенограмм - в позитивном изображении **в tiff формате.**

На обороте каждого рисунка карандашом указывается его номер, фамилия автора, сокращённое название статьи и обозначаются верхняя и нижняя его части.

Подписи к рисункам составляются обязательно на отдельном листе с указанием номеров рисунков. В подписях к микрофотографиям следует указывать степень увеличения через окуляр или объектив и метод окраски или импрегнации срезов.

6. Фамилии отечественных авторов приводятся в статье обязательно вместе с инициалами, иностранных - в иностранной транскрипции; в скобках должен быть указан соответствующий номер автора по списку литературы.

7. В конце каждой оригинальной статьи должен быть приложен библиографический указатель основных по данному вопросу работ, использованных автором. Следует указать порядковый номер, фамилию и инициалы автора, полное название статьи, журнала или книги, место и год издания, том и номер страницы.

В алфавитном порядке указываются сначала отечественные, а затем иностранные авторы. Указатель иностранной литературы должен быть представлен в печатном виде или написан от руки четко и разборчиво тушью.

8. Для получения права на публикацию статья должна иметь от руководителя работы или учреждения визу и сопроводительное отношение, написанные или напечатанные на бланке и заверенные подписью и печатью.

9. В конце статьи должны быть подписи всех авторов, полностью приведены их фамилии, имена и отчества, указаны служебный и домашний номера телефонов и адреса или иные координаты. Количество авторов (соавторов) не должно превышать пяти человек.

10. К статье должны быть приложены краткое (на полстраницы) резюме на английском, русском и грузинском языках (включающее следующие разделы: вступление, материал и методы, результаты и заключение) и список ключевых слов (key words).

11. Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять статьи. Корректурa авторам не высылаётся, вся работа и сверка проводится по авторскому оригиналу.

12. Недопустимо направление в редакцию работ, представленных к печати в иных издательствах или опубликованных в других изданиях.

**При нарушении указанных правил статьи не рассматриваются.**

## REQUIREMENTS

Please note, materials submitted to the Editorial Office Staff are supposed to meet the following requirements:

1. Articles must be provided with a double copy, in English or Russian languages and typed or computer-printed on a single side of standard typing paper, with the left margin of **3** centimeters width, and **1.5** spacing between the lines, typeface - **Times New Roman (Cyrillic)**, print size - **12** (referring to Georgian and Russian materials).

With computer-printed texts please enclose a diskette carrying the same file titled with Latin symbols.

2. Size of the article, including index and resume in English, Russian and Georgian languages must be at least 6 pages and not exceed the limit of 15 pages of typed or computer-printed text.

3. Submitted material must include a coverage of a topical subject, research methods, results, and review.

Authors of the scientific-research works must indicate the number of experimental biological species drawn in, list the employed methods of anesthetization and soporific means used during acute tests.

4. Tables must be presented in an original typed or computer-printed form, instead of a photocopied version. **Numbers, totals, percentile data on the tables must coincide with those in the texts of the articles.** Tables and graphs must be headed.

5. Photographs are required to be contrasted and must be submitted with doubles. Please number each photograph with a pencil on its back, indicate author's name, title of the article (short version), and mark out its top and bottom parts. Drawings must be accurate, drafts and diagrams drawn in Indian ink (or black ink). Photocopies of the X-ray photographs must be presented in a positive image in **tiff format**.

Accurately numbered subtitles for each illustration must be listed on a separate sheet of paper.

In the subtitles for the microphotographs please indicate the ocular and objective lens magnification power, method of coloring or impregnation of the microscopic sections (preparations).

6. Please indicate last names, first and middle initials of the native authors, present names and initials of the foreign authors in the transcription of the original language, enclose in parenthesis corresponding number under which the author is listed in the reference materials.

7. Each original article must have in its closing a list of source materials used by the author, which must include only the basic works on the given issue, numbered in succession, with indication of the last names and first and middle initials of the authors, names of periodicals, titles of the articles or books, place and year of edition, volume and page numbers.

List first the native authors, and then the foreign ones alphabetically. The index of foreign literature must be typed, computer-printed or legibly hand-written in Indian or black ink.

8. To obtain the rights of publication articles must be accompanied by a visa from the project instructor or the establishment, where the work has been performed, and a reference letter, both written or typed on a special signed form, certified by a stamp or a seal.

9. Articles must be signed by all of the authors at the end, and they must be provided with a list of full names, office and home phone numbers and addresses or other non-office locations where the authors could be reached. The number of the authors (co-authors) must not exceed the limit of 5 people.

10. Articles must have a short (half page) abstract in English, Russian and Georgian (including the following sections: introduction, material and methods, results and conclusions) and a list of key words.

11. Editorial Staff reserves the rights to cut down in size and correct the articles. Proof-sheets are not sent out to the authors. The entire editorial and collation work is performed according to the author's original text.

12. Sending in the works that have already been assigned to the press by other Editorial Staffs or have been printed by other publishers is not permissible.

## ავტორთა საქურაღებოლ!

რედაქციაში სტატიის წარმოდგენისას საჭიროა დაიცვათ შემდეგი წესები:

1. სტატია უნდა წარმოადგინოთ 2 ცალად, რუსულ ან ინგლისურ ენებზე დაბეჭდილი სტანდარტული ფურცლის 1 გვერდზე, 3 სმ სიგანის მარცხენა ველისა და სტრიქონებს შორის 1,5 ინტერვალის დაცვით. გამოყენებული კომპიუტერული შრიფტი **Times New Roman (Кириллица)**; შრიფტის ზომა – 12. სტატიას თან უნდა ახლდეს დისკეტი სტატიით. ფაილი დაასათაურეთ ლათინური სიმბოლოთი.

2. სტატიის მოცულობა არ უნდა შეადგენდეს 6 გვერდზე ნაკლებსა და 15 გვერდზე მეტს ლიტერატურის სიის და რეზიუმეების (ინგლისურ, რუსულ და ქართულ ენებზე) ჩათვლით.

3. სტატიაში საჭიროა გაშუქდეს: საკითხის აქტუალობა; კვლევის მიზანი; საკვლევი მასალა და გამოყენებული მეთოდები; მიღებული შედეგები და მათი განსჯა. ექსპერიმენტული ხასიათის სტატიების წარმოდგენისას ავტორებმა უნდა მიუთითონ საექსპერიმენტო ცხოველების სახეობა და რაოდენობა; გაუტკივარებისა და დაძინების მეთოდები (მწვავე ცდების პირობებში).

4. ცხრილები საჭიროა წარმოადგინოთ ნაბეჭდი სახით. ყველა ციფრული, შემაჯამებელი და პროცენტული მონაცემები უნდა შეესაბამებოდეს ტექსტში მოყვანილს.

5. ფოტოსურათები უნდა იყოს კონტრასტული; სურათები, ნახაზები, დიაგრამები - დასათაურებული, დანომრილი და სათანადო ადგილას ჩასმული. რენტგენოგრამების ფოტოასლები წარმოადგინეთ პოზიტიური გამოსახულებით **tiff** ფორმატში. მიკროფოტოსურათების წარწერებში საჭიროა მიუთითოთ ოკულარის ან ობიექტივის საშუალებით გადიდების ხარისხი, ანათალების შედეგების ან იმპრეგნაციის მეთოდი და აღნიშნოთ სურათის ზედა და ქვედა ნაწილები.

6. სამამულო ავტორების გვარები სტატიაში აღინიშნება ინიციალების თანდართვით, უცხოურისა – უცხოური ტრანსკრიპციით; კვადრატულ ფხხილებში უნდა მიუთითოთ ავტორის შესაბამისი N ლიტერატურის სიის მიხედვით.

7. სტატიას თან უნდა ახლდეს ავტორის მიერ გამოყენებული სამამულო და უცხოური შრომების ბიბლიოგრაფიული სია (ბოლო 5-8 წლის სიღრმით). ანბანური წყობით წარმოდგენილ ბიბლიოგრაფიულ სიაში მიუთითეთ ჯერ სამამულო, შემდეგ უცხოელი ავტორები (გვარი, ინიციალები, სტატიის სათაური, ჟურნალის დასახელება, გამოცემის ადგილი, წელი, ჟურნალის №, პირველი და ბოლო გვერდები). მონოგრაფიის შემთხვევაში მიუთითეთ გამოცემის წელი, ადგილი და გვერდების საერთო რაოდენობა.

8. სტატიას თან უნდა ახლდეს: ა) დაწესებულების ან სამეცნიერო ხელმძღვანელის წარდგინება, დამოწმებული ხელმოწერითა და ბეჭდით; ბ) დარგის სპეციალისტის დამოწმებული რეცენზია, რომელშიც მითითებული იქნება საკითხის აქტუალობა, მასალის საკმაობა, მეთოდის სანდოობა, შედეგების სამეცნიერო-პრაქტიკული მნიშვნელობა.

9. სტატიის ბოლოს საჭიროა ყველა ავტორის ხელმოწერა, რომელთა რაოდენობა არ უნდა აღემატებოდეს 5-ს.

10. სტატიას თან უნდა ახლდეს რეზიუმე ინგლისურ, რუსულ და ქართულ ენებზე არანაკლებ ნახევარი გვერდის მოცულობისა (სათაურის, ავტორების, დაწესებულების მითითებით და უნდა შეიცავდეს შემდეგ განყოფილებებს: შესავალი, მასალა და მეთოდები, შედეგები და დასკვნები; ტექსტუალური ნაწილი არ უნდა იყოს 15 სტრიქონზე ნაკლები და საკვანძო სიტყვების ჩამონათვალი (key words).

11. რედაქცია იტოვებს უფლებას შეასწოროს სტატია. ტექსტზე მუშაობა და შეჯერება ხდება საავტორო ორიგინალის მიხედვით.

12. დაუშვებელია რედაქციაში ისეთი სტატიის წარდგენა, რომელიც დასაბეჭდად წარდგენილი იყო სხვა რედაქციაში ან გამოქვეყნებული იყო სხვა გამოცემებში.

აღნიშნული წესების დარღვევის შემთხვევაში სტატიები არ განიხილება.

Содержание:

<b>Хеладзе З.С., Джаиани С.В., Цуцкиридзе Б.Н., Хеладзе Зв.З., Чахунашвили Г.К., Чахунашвили Д.К.</b> ЛЕЧЕБНАЯ ЭНДОСКОПИЯ ПРИ КРОВОТЕЧЕНИЯХ ИЗ ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА У КРИТИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ .....	7
<b>Ückert S., Kedia G.T., Satzger I., Geismar U., Sohn M., Kuczyk M.A., Hedlund P., Waldkirch E.S.</b> C-KIT-POSITIVE MULTIPOLAR CELLS IN HUMAN PENILE ERECTILE TISSUE: EXPRESSION OF CONNEXIN 43 AND RELATION TO TRABECULAR SMOOTH MUSCLE CELLS .....	13
<b>Тунян М.Ю., Лалаян Б.К., Закарян А.Е., Григорян К.Л., Погосян Г.А., Егиазарян А.В.</b> ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ЦЕЛЬНОЙ СЛЮНЫ ПРИ АНТИОКСИДАНТНОМ ЛЕЧЕНИИ ТКАНЕЙ ПРОТЕЗНОГО ПОЛЯ .....	20
<b>Зурабашвили Д.З., Чантурия И.Р., Кикалишвили Б.Ю., Данелия Г.Г.</b> ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ ТАБАЧНОГО ДЫМА НА УРОВЕНЬ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЯХ.....	25
<b>Дундуа Г.И., Абуладзе Г.В., Джинджолия Н.Р., Небиеридзе М.И.</b> ЭФФЕКТИВНОСТЬ АТОРВАСТАТИНА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ ФОРМОЙ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ НА ФОНЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА .....	29
<b>Сулаберидзе Г.Д., Фероян Э.В., Кокаиа Л.Э.</b> ДВИГАТЕЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НЕРВНО-МЫШЕЧНОГО АППАРАТА И МАКСИМАЛЬНАЯ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ СПОРТСМЕНОВ .....	33
<b>Gamkrelidze A., Baramidze L., Sturua L., Galdava G.</b> ILLICIT DRUGS USE IN GEORGIAN STUDENTS; PILOT STUDY RIGOROUSLY FOLLOWING CRITERIA OF EUROPEAN SCHOOL PROJECT ON ALCOHOL AND OTHER DRUG .....	39
<b>Tsiklauri N., Nozadze I., Gurtskaia G., Berishvili V., Abzianidze E., Tsagareli M.</b> TOLERANCE INDUCED BY NON-OPIOID ANALGESIC MICROINJECTIONS INTO RAT'S PERIAQUEDUCTAL GRAY AND NUCLEUS RAPHE.....	47
<b>Давиташвили Д.Т., Мусеридзе Д.П., Сванидзе И.К., Павлиашвили Н.С., Саникидзе Т.В.</b> КОРРЕКЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСРЕДСТВОМ ВИТАМИНОВ Е И С.....	56
<b>Кебадзе Н.В., Габуния У.А., Какауридзе Н.Г.</b> ВЗАИМОСВЯЗЬ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА СО СТАДИЙНОСТЬЮ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	61
<b>Maisuradze L., Lortkipanidze N., Eliozishvili M., Gvilia I., Darchia N.</b> POSTTRAUMATIC STRESS DISORDER AND INSOMNIA DEVELOPMENT IN INDIVIDUALS DISPLACED FROM SHIDA KARTLI, GEORGIA.....	64

<b>Арзиани Б.А., Чихладзе Ц.К., Гумбаридзе Н.Г., Лекишвили Г.Н.</b> ВЛИЯНИЕ ПРОСТЫХ ФЕНОЛОВ НА НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У КРЫС .....	69
<b>Эмухвари М.Г., Ахвледиани М.В., Букия Т.Ш., Шарашидзе Н.А., Воробьева Е.О.</b> ОСОБЕННОСТИ АТЕРОСКЛЕРОЗА КРУПНЫХ СОСУДОВ, РАЗВИТЫХ НА ФОНЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ С УЧЕТОМ НЕКОТОРЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ .....	77
<b>Шенгелия М.Ш., Чикваидзе Э.Н., Саникидзе Т.В.</b> ПРО- И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ БИЛИРУБИНА. ЭПР ИССЛЕДОВАНИЕ .....	88

НАУКА

ЛЕЧЕБНАЯ ЭНДОСКОПИЯ ПРИ КРОВОТЕЧЕНИЯХ ИЗ ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ  
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА У КРИТИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Хеладзе З.С., Джаиани С.В., Цуцкиридзе Б.Н., Хеладзе Зв.З.,  
Чахунашвили Г.К., Чахунашвили Д.К.

*Институт медицины критических состояний, Тбилиси, Грузия*

Лечение больных с желудочно-кишечным кровотечением (ЖКК) является сложной, окончательно нерешенной проблемой. Частота кровотечений из верхних отделов пищеварительного тракта составляет до 30-и случаев на 100000 населения [2,5,8].

Уровень смертности от кровотечений из верхних отделов пищеварительного тракта колеблется в пределах от 5 до 10% и, хотя в развитых странах имеет некоторую тенденцию к снижению, в нашей стране остается на высоких показателях. От кровотечения умирают, в основном, люди преклонного возраста, лица с тяжелыми сопутствующими заболеваниями и в критическом состоянии. При этом летальность при рецидиве кровотечения остается высокой и не имеет тенденции к снижению: ее уровень, в среднем, составляет 30-40% [3,4,9].

Основную роль в успешном лечении больных с ЖКК играет ранняя и точная диагностика причин кровотечения. Для установления факта кровотечения и его источника необходимо тщательно проанализировать клинико-лабораторные данные и осуществить экстренную эзофагогастродуоденоскопию (ЭГДС), благодаря которой в 95% случаев удается установить источник кровотечения [1,6].

Современные эндоскопические технологии позволяют осуществить не только временный, но и окончательный местный гемостаз, а также провести мероприятия, препятствующие возобновлению кровотечения, что позволит избежать экстренной операции или, при необходимости, выполнить открытую операцию в более благоприятных условиях. Однако, многие методики эндоскопического гемостаза в настоящее время являются технически сложными и дорогостоящими, связаны с высоким риском для больного

и поэтому редко применяются в широкой практике [7,10].

Целью данного исследования явилось определение оптимальной методики эндоскопического гемостаза при желудочно-кишечном кровотечении у тяжелобольных, в том числе в критическом состоянии.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- провести сравнительную оценку результатов эффективности различных видов эндоскопического гемостаза;
- оценить вероятность рецидивного кровотечения при применении капрофера, термокоагуляции, инъекционном гемостазе и при их комбинированном применении;
- определить перспективность использования метода орошения раствором капрофера, термокоагуляции и их комбинированного применения по результатам лечения ЖКК у критических больных.

**Материал и методы.** За последние 15 лет опыта эндоскопической диагностики и лечения кровотечений из верхних отделов ЖКТ мы располагаем 410-ью наблюдениями диагностической и оперативной гастроскопии, из них у 65-и больных в критическом состоянии. Из них мужчин было 256 (62,5%) и женщин – 154 (37,5%). Распределение по полу и возрасту представлено в таблице 1.

Противопоказанием к проведению ЭГДС являлось агональное состояние больного, когда результаты исследования не могут повлиять на дальнейшую тактику ведения пациента. Исследования выполнялись в отделении интенсивной терапии гастрофиброскопом фирмы «Olympus» Gif Q-30. Местная анестезия проводилась методом аэрозольного орошения полости ротоглотки 10% раствором лидокаина.

Таблица. 1. Пол и возраст больных с желудочно-кишечными кровотечениями

Пол Возраст	Мужчины		Женщины		Всего	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
20-29 лет	29	11,3	3	1,9	32	7,8
30-39 лет	36	14,1	11	7,1	47	11,5
40-49 лет	41	16,0	24	15,6	65	15,8
50-59 лет	53	20,7	49	31,9	102	24,9
60-69 лет	57	22,3	43	27,9	100	24,4
70 и выше	40	15,6	24	15,6	64	15,6
Всего	256	100	154	100	410	100

С целью орошения кровоточащей поверхности нами использовался раствор капрофера, включающий в себя карбонильный комплекс треххлористого железа и эпсилонаминокапроновой кислоты, обладающий выраженными гемостатическими свойствами. Капрофер вызывал практически мгновенное образование сгустка крови. Среди всех способов эндоскопического гемостаза метод орошения места кровотечения раствором капрофера был наиболее распространен ввиду высокой эффективности и простоты применения.

Для остановки кровотечения с помощью тока высокой частоты мы использовали электроды для монополярного способа диатермокоагуляции фирмы «Olympus» CD-1L, CD-3L. Электрод с цилиндрическим наконечником применялся во всех случаях, если размер язвы превышал 5 мм в диаметре, шариковый электрод при язве - меньше 5 мм в диаметре. Электрод проводился через биопсийный канал эндоскопа и подводился к кровоточащему участку. В качестве источника тока использовался электрохирургический аппарат «ЭН – 57 М». Мощность источника тока, вызывающего коагулирующий эффект составляла 50 Вт.

Оценка степени тяжести кровопотери базировалась на совокупности клинических и лабораторных данных. Нами выделены три степени кровопотери: I степень – легкая кровопотеря: общее состояние удовлетворительное, умеренная тахикардия – до 100 ударов в минуту, АД – в норме, ЦВД – 5-15 см вод. ст., диурез не снижен, гемоглобин – не ниже 100 г/л, дефицит ОЦК – до 20% от должного, метаболического ацидоза нет;

II степень – средняя кровопотеря: общее состояние средней тяжести, пульс – до 120 ударов в минуту, систолическое АД – не ниже 80 мм рт. ст., ЦВД

– не меньше 5 см вод. ст., умеренная олигурия, гемоглобин – от 100 до 80 г/л, дефицит ОЦК в пределах от 20 до 29%, компенсированный метаболический ацидоз;

III степень – тяжелая кровопотеря: состояние тяжелое, пульс – больше 120 ударов в минуту, АД – ниже 80 мм рт. ст., ЦВД – 0, олигурия, гемоглобин – меньше 80 г/л, дефицит ОЦК – 30% и более, метаболический и дыхательный ацидоз.

Эндоскопические признаки кровотечения оценивались по классификации Forrest [11], получившей в настоящее время признание во всем мире:

*Тип I – активное кровотечение:*

- Ia – пульсирующей струей;
- Ib – потоком.

*Тип II – признаки недавнего кровотечения:*

- IIa – видимый (некровоточащий) сосуд;
- IIb – фиксированный тромб – сгусток;
- IIc – плоское черное пятно (черное дно язвы).

*Тип III – язва с чистым (белым) дном [11].*

**Результаты и их обсуждение.** По нашим данным (таблица 2) превалировали кровотечения из язвы двенадцатиперстной кишки, эрозий желудка и сочетанных эрозий. Частыми причинами кровотечений являлись также язва желудка и эрозийно-геморрагический дуоденит. Реже встречались синдром Мэллори – Вейса, варикозное расширение вен пищевода и злокачественные новообразования. К редким причинам кровотечений мы отнесли мальформацию сосудов и болезнь Крона.

Эндоскопические методы гемостаза при диффузных поражениях слизистой оболочки желудка (болезнь Рандю – Вебера - Ослера, геморрагическая гастропатия и др.) нами не использовались из-за малой эффективности. В этих случаях назначалась

консервативная терапия, направленная на коррекцию патологического состояния, явившегося причиной кровотечения.

Таблица 2. Диагноз больных с желудочно-кишечными кровотечениями

Диагноз	Число больных	
	Абс.	%
Язва желудка	42	10,2
Язва 12-перстной кишки	95	23,2
Сочетанные язвы	13	3,2
Эрозивно-геморрагический гастрит	72	17,6
Эрозивно-геморрагический дуоденит	32	7,8
Сочетанные эрозии	54	13,2
Опухолевые заболевания	29	7,1
Варикозное расширение вен пищевода	36	8,8
Синдром Мэллори-Вейса	20	4,9
Другие заболевания	17	4,0
Всего	410	100

Симптомами ЖКК в большинстве случаев являлись кровавая рвота или рвота жидкостью типа “кофейной гущи” – в 65-70% случаев, дегтеобразный стул (мелена) – в 40-45% случаев и комплекс симптомов острой кровопотери – ощущение слабости, шум в ушах, сердцебиение, холодный пот. У 10-12% больных отмечалась потеря сознания. В таких случаях пальцевое исследование прямой кишки было необходимо с целью выявления черного стула.

В случаях, когда из-за большого количества крови не удавалось визуализировать источник кровотечения, делали промывание желудка “ледяной” водой с помощью толстого желудочного зонда и выполняли повторное эндоскопическое исследование. В зависимости от источника кровотечения, его интенсивности и оснащённости эндоскопического кабинета выбирали тот или иной способ местного гемостаза.

Показаниями к применению эндоскопических методов гемостаза являлись активное артериальное или венозное кровотечение, а также высокий риск рецидива кровотечения. Риск рецидива кровотечения считается высоким, если имеется видимый некровоточащий сосуд (F IIa) или фиксированный тромб-сгусток (F IIb). Риск рецидива кровотечения повышается при наличии в желудке большого количества крови, сгустков или жидкости типа “кофейной гущи”, при глубоких язвах малой кривизны желудка и задней стенки луковицы двенадцатиперстной кишки, обширных распа-

дающихся опухолях и острых эрозивно-язвенных изменениях слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки. При прогнозировании возможного рецидива кровотечения мы исходили не только из эндоскопических критериев, но и клинико-лабораторных показателей, основными из них являлись геморрагический шок, заболевания печени, тяжесть сопутствующих заболеваний, возраст больного, дефицит ОЦК и скорость снижения гемоглобина.

К неблагоприятным прогностическим факторам при ЖКК относились: возраст больного старше 60-и лет; критическое состояние пациента; наличие двух и более сопутствующих заболеваний; массивная кровопотеря (больше 2 л); шок при поступлении; рецидив кровотечения в течение 72-х часов.

Виды применяемых нами лечебных методов эндоскопии:

1. Инъекционный гемостаз. Он заключался в прямом введении действующего вещества в зону кровотечения. Для инъекций использовалась смесь раствора адреналина и гипертонического раствора в соотношении 1:5 в количестве от 5 до 15 мл. Через биопсийный канал эндоскопа проводили инъектор, к дистальному концу которого был присоединен шприц с раствором. Иглой прокалывали слизистую оболочку и вводили раствор по периметру язвы из нескольких точек до полной остановки кровотечения. Образовавшийся после инъекции

отек слизистой оболочки сохранялся в течение 2-3-х суток. С помощью инъекционного метода удавалось добиться гемостаза только у 75% пациентов. Дополнительное введение склерозирующих веществ (полидоканола, этаноламида) или этанола не проводилось из-за высокого риска некротизации тканей.

2. Орошение капрофером. Механизм действия препарата обусловлен химической коагуляцией белков плазмы и антифибринолитическим действием. С целью эндоскопической остановки гастродуоденального кровотечения для обработки одиночного источника кровотечения (эрозия, язва, разрыв слизистой оболочки кардиопищеводной зоны), использовали 1-3 мл стандартного раствора капрофера. При диффузном кровотечении из множественных эрозий и язв и распадающихся опухолей желудка препарат применялся в количестве 10-15 мл в разведении 1:5 с 5% раствором эписилона-аминокапроновой кислоты. В случае кровотечения из острых эрозий и язв, разрывов слизистой кардиопищеводной зоны и распадающихся опухолей желудка окончательный гемостаз определялся в 95% случаев. При геморрагиях из хронических язв капрофер был менее активен и вызывал временную остановку кровотечения в 85% случаев.

3. Термокоагуляция. Данная методика, ввиду опасности перфорации, не рекомендовалась при истончении стенки органа (глубоких язвах желудка и двенадцатиперстной кишки, кровотечении из дивертикула и т.д.). Методом термокоагуляции не удавалось остановить кровотечение из крупных сосудов (3-5 мм). При распадающейся злокачественной опухоли определялся эффект “приваривания” к коагулятору, что может усилить кровотечение. При использовании термокоагуляции необходимо четко визуализировать источник кровотечения, важно, чтобы его не прикрывала кровь. Зонд подвели к краю язвы или опухоли в непосредственной близости от кровоточащего сосуда. При кровотечениях, соответствующих Forrest 1a, гемостаз начинался при мощности 4,5-5,5, при которой возникает искрение, что приводило к точечному ожогу кровоточащего сосуда и прекращению пульсирующего кровотечения. После первичной остановки аппарат переводился на режим “коагуляция” с мощностью 3,5-4,5. Электрод касался поверхности в течение 1 - 2 сек., при этом коагулировалась поверхность слизистой - 1,5-2,0 мм<sup>2</sup>, начиная от источника кровотечения.

Смещаясь в шахматном порядке, обрабатывали всю поверхность язвенного дефекта и формировали плотную коагуляционную пленку белого цвета. При кровотечениях, соответствующих Forrest 1b, гемостаз выполнялся в режиме “коагуляция” при мощности 4,5-5,5. Для остановки кровотечения из распадающейся опухоли использовался шариковый либо цилиндрический электрод. Гемостаз выполнялся в режиме “коагуляция” при мощности 3,5-4,5. По эффективности и безопасности метод сопоставим с инъекционной терапией, эффективность термокоагуляции составляла 80 - 85%.

4. Комбинированные методы лечебной эндоскопии. Наиболее часто нами применялся комбинированный метод лечебной эндоскопии, сочетающий орошение капрофером и термокоагуляцию в различных сочетаниях, особенно при лечении больных с тяжелым, активным язвенным кровотечением. С помощью комбинированного метода нам удалось добиться окончательного гемостаза более чем у 95% пациентов с ЖКК, в том числе в критическом состоянии.

Рецидив кровотечения после лечебной эндоскопии отмечался в 15%, обычно он развивался в первые 24 часа лечебного вмешательства, особенно при обильном первоначальном кровотечении. Наиболее часто рецидив наблюдался после инъекционного метода гемостаза – в 25% случаев. При применении капрофера рецидив кровотечения наступал, в среднем, в 10%, при термокоагуляции в 15-20% случаев. Наилучшие результаты наблюдались при комбинированном применении капрофера и термокоагуляции; рецидив кровотечения наступал не более чем у 5% пациентов.

Пациенты отмечали отсутствие неприятных ощущений во время остановки кровотечения. После остановки кровотечения больные находились на постельном режиме, назначался голод в течение 1-2 суток, затем протертая холодная пища. При большой кровопотере проводилась кровозамещающая и гемостатическая терапия. При выявленной язве желудка или двенадцатиперстной кишки назначали курс противоязвенной терапии. Для снижения риска повторных кровотечений использовали антисекреторные препараты и мукоген. Весьма эффективно введение высоких доз ингибиторов протонной помпы – рабепразола, неопразола и ульцепразола, которое проводится после лечебной эндоскопии. Вы-

шеописанная терапия существенно снижает частоту рецидивов кровотечения, при повторной лечебной эндоскопии и оперативных вмешательствах. Механизм действия препаратов обусловлен их способностью понижать секрецию соляной кислоты, которая повышает фибринолитическую активность слизистой у больных с гастродуоденальными язвами, причем, крайне важным является поддержание рН на уровне не ниже 6,0; поэтому наиболее эффективно применение ингибиторов протонной помпы, менее – антагонистов  $H_2$ -рецепторов. Данный метод особенно показан больным с эндоскопическими признаками «свежего» кровотечения. Мукоген также применялся в высоких дозировках, в течение всего периода лечения.

В заключение необходимо отметить, что в данном исследовании обобщен положительный опыт использования различных видов эндоскопического гемостаза, в основном, с применением раствора капрофера, при желудочно-кишечных кровотечениях на фоне стрессорных язвенно-эрозивных изменений слизистой. Исследования проводились, в том числе, у больных со значительной кровопотерей, тяжелыми сопутствующими заболеваниями и больных в критическом состоянии. Наилучшие результаты получены при применении капрофера в сочетании с термокоагуляцией. Рецидив кровотечения при данных видах эндоскопического гемостаза также был на самых низких цифрах.

Полученные нами данные свидетельствуют о перспективности комбинированного применения капрофера и метода термокоагуляции при ЖКК. Одновременно с этим показано проведение антисекреторной терапии блокаторами протонной помпы и усиление защиты слизистой оболочки препаратом мукоген в высоких дозах. Считаем, что исследования по определению эффективности вышеописанных методов следует продолжить с целью их более широкого внедрения в практическую деятельность.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулутко Е.М., Васильев С.А. Острая массивная кровопотеря. М.: Геотар-мед; 2001: 176.
2. Курыгин А.А., Стойко Ю.М., Багненко С.Ф. Неотложная хирургическая гастроэнтерология. Спб.: Питер; 2001: 568.
3. Луцевич Э.В., Астапенко В.Г., Белов И.Н. Руководство по гастроинтестинальной эндоскопии.

Мн.: Выш. Школа; 1990: 303с.

4. Савельев В.С., Буянов В.М., Лукомский Г.И. Руководство по клинической эндоскопии. М.: Медицина; 1985: 543.
5. Chan S.H., P-I. Hsu, Lin X-Z. Bleeding peptic ulcer-risk factors for rebleeding and sequential changes in endoscopic findings. Gut 1994; 35: 746-49.
6. Cook D.J., Reeve B.K., Guyatt G.H. et al. Stress ulcer prophylaxis in critically ill patients: resolving discordant meta-analyses. JAMA 1996; 275: 308-14.
7. Cotton P.B., Williams C.B. Practical gastrointestinal endoscopy. Third edition. Blackwell Scientific Publ.: 1990; 290.
8. Lewis B., Wenger J., Wayne J. Intraoperative enteroscopy versus small bowel enteroscopy in patients with obscure GI bleeding. Am J Gastroenterol. 1991; 86: 171-4.
9. Mathius-Vliegen E., Tytgat G. Intraoperative endoscopy: technique, indications and results. Gastrointest Endosc. 1986; 32: 381-4.
10. Rockall T.A., Logan R.F., Devlin H.B., Northfield T.C. Selection of patients for early discharge or outpatient care after acute upper gastrointestinal haemorrhage. Lancet 1996; 347: 1138-40.
11. Forrest J.A.H., Finlayson N.D.C., Shearman D.J.C. Endoscopy in gastrointestinal bleeding. Lancet 1974.

## SUMMARY

### ENDOSCOPIC TREATMENT IN CRITICALLY ILL PATIENTS WITH UPPER GASTROINTESTINAL BLEEDING

**Kheladze Z., Jaiani S., Tsutskiridze B., Kheladze Zv., Chakhunashvili G., Chakhunashvili D.**

*Institute of Critical Care Medicine, Tbilisi, Georgia*

The goal of the current research was to ascertain the optimal methods of an endoscopic haemostasis in critical care patients with GDB. The research was conducted on critically ill patients. The different endoscopic methods of treatment: injectional hemostasis, irrigation with local hemostatics, thermo coagulation, and combined method were used. Treatment with injectional hemostasis resulted in hemostasis in 75% of patients. Irrigation with local hemostatics was conducted using the local hemostatic agent caprofer and (or) 10% solution of epsylonaminocapronal acid. The final hemostasis was achieved in the 90% of the cases; bleeding was stopped in 85% of the cases when the hemorrhages occurred from chronic ulcers. The effect of thermo coagulation method was 80-85%. Combined method of treatment (combination of the

irrigation with caprofer and thermo coagulation) helped to achieve 95% of the final hemostasis in critically ill patients.

The achieved results certify that the combined use of caprofer and method of electro coagulation in critical care patients with GDB is very perspective. Simultaneously with this, it is also recommended to use anti-segregation therapy with blockers of proton pump and boosting the defense of the mucous tissue with high doses of mucogen.

**Key words:** endoscopy, hemostasis, caprofer, thermo coagulation.

## РЕЗЮМЕ

### ЛЕЧЕБНАЯ ЭНДОСКОПИЯ ПРИ КРОВОТЕЧЕНИЯХ ИЗ ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА У КРИТИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Хеладзе З.С., Джаиани С.В., Цуцкиридзе Б.Н., Хеладзе Зв.З., Чахунашвили Г.К., Чахунашвили Д.К.

*Институт медицины критических состояний, Тбилиси, Грузия*

Целью данного исследования явилось определение оптимальной методики эндоскопического гемостаза при желудочно-кишечных кровотечениях у тяжелобольных, в том числе в критическом состоянии. В работе обобщен положительный опыт использования различных видов эндоскопического гемостаза при желудочно-кишечных кровотечениях (ЖКК). Исследования проводились у больных со значительной кровопотерей, тяжелыми сопутствующими заболеваниями и критических больных. Применялись следующие лечебные виды эндоскопии:

1. Инъекционный гемостаз. С помощью данного метода удавалось добиться гемостаза только у 75% пациентов.
2. Орошение местными гемостатиками. Применялись 10% раствор эпсилонаминокапроновой кислоты и (или) раствор капрофера. Окончательный гемостаз определялся в 90% случаев, при хронических язвах остановка кровотечения наблюдалась в 85% случаев.
3. Термокоагуляция. По эффективности и безопас-

ности метод сопоставим с инъекционной терапией, эффективность термокоагуляции составляла 80-85%.

4. Комбинированный метод лечебной эндоскопии. Применялось орошение местными гемостатиками и термокоагуляция в различных сочетаниях. При этом удалось добиться окончательного гемостаза более чем у 95% пациентов в критическом состоянии.

Таким образом, наиболее выраженный эффект эндоскопического гемостаза был получен при применении капрофера в сочетании с термокоагуляцией. Риск рецидива кровотечения при данных видах эндоскопического гемостаза был наименьший. Полученные нами данные свидетельствуют о перспективности комбинированного применения местных гемостатиков и метода термокоагуляции при ЖКК. Одновременно с этим рекомендовано проведение антисекреторной терапии блокаторами протонной помпы и усиление защиты слизистой оболочки препаратом мукоген в высоких дозах.

## რეზიუმე

კრიტიკულ მდგომარეობაში მყოფი ავადმყოფების ენდოსკოპიური მკურნალობა გასტროდუოდენური სისხლდენისას

ზ. ხელაძე, ს. ჯაიანი, ბ. ცუცკირიძე, ზვ. ხელაძე, გ. ჩახუნაშვილი, დ. ჩახუნაშვილი

კრიტიკული მედიცინის ინსტიტუტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ენდოსკოპიური ჰემოსტაზის ოპტიმალური მეთოდის დადგენა გასტროდუოდენური სისხლდენების (გდს) დროს მძიმე ავადმყოფებში, მათ შორის კრიტიკულ მდგომარეობაში მყოფ პაციენტებში. ნაშრომში განზოგადებულია სხვადასხვა სახის ენდოსკოპიური ჰემოსტაზის გამოყენების დადებითი გამოცდილება გასტროდუოდენური სისხლდენების დროს. კვლევა უტარდებოდათ ავადმყოფებს მნიშვნელოვანი სისხლის დანაკარგით, მძიმე თანმხლები დაავადებებით და კრიტიკულ მდგომარეობაში მყოფ პაციენტებს.

გამოიყენებოდა ენდოსკოპიის შემდეგი სამკურნალო მეთოდები:

1. ინექციური ჰემოსტაზი. აღნიშნული მეთოდის დახმარებით ჰემოსტაზს ვიღებდით პაციენტთა მხოლოდ 75%-ში.
2. ადგილობრივი ჰემოსტატიკებით მორწყვა. გამოიყენებოდა კაპროფერის და (ან) ეპსილონამინოკაპრონის მუავის 10%-იანი ხსნარი. საბოლოო ჰემოსტაზი ვლინდებოდა შემთხვევათა 90%-ში, ქრონიკული წყლულების დროს სისხლდენის შეჩერება აღინიშნებოდა შემთხვევათა 85%-ში.
3. თერმოკოაგულაცია. ეფექტურობითა და უსაფრთხოობით ეს მეთოდი ინექციური თერაპიის მსგავსია, ელექტროკოაგულაციის ეფექტურობა კი შეადგენდა 80-85%-ს.
4. სამკურნალო ენდოსკოპიის კომბინირებული მეთოდი. ამ შემთხვევაში გამოიყენებოდა ადგილობრივი ჰემოსტატიკებით მორწყვა და ელექტროკოაგულაცია სხვადასხვა შესამგებით. ამასთან საბოლოო ჰემოსტაზს

ვიღებდით კრიტიკულ მდგომარეობაში მყოფ 95%-ზე მეტ პაციენტებში.

ენდოსკოპიური ჰემოსტაზის განსაკუთრებით გამოხატული ეფექტი მიღწეულ იქნა კაპროფერის და თერმოკოაგულაციის ერთობლივი გამოყენებისას. ამ შემთხვევაში ნაკლები იყო სისხლდენის რეციდივის განვითარების რისკი.

მოპოვებული მონაცემები ამტკიცებს კაპროფერისა და თერმოკოაგულაციის მეთოდის ერთობლივი გამოყენების პერსპექტიულობას გღს-ს დროს. ამასთან ერთად ნაჩვენებია ანტისეკრეტორული თერაპიის ჩატარება პროტონული ტუმბოს ინჰიბიტორებითა და ლორწოვანი შრის დაცვის გაძლიერებით მუკოგენის მაღალი დოზების გამოყენებით.

---

## C-KIT-POSITIVE MULTIPOLAR CELLS IN HUMAN PENILE ERECTILE TISSUE: EXPRESSION OF CONNEXIN 43 AND RELATION TO TRABECULAR SMOOTH MUSCLE CELLS

Ückert<sup>1</sup> S., Kedia<sup>1</sup> G.T., Satzger<sup>2</sup> I., Geismar<sup>3</sup> U., Sohn<sup>4</sup> M.,  
Kuczyk<sup>1</sup> M.A., Hedlund<sup>5,6</sup> P., Waldkirch<sup>1</sup> E.S.

<sup>1</sup>Hannover Medical School, Division of Surgery, Department of Urology & Urological Oncology, Hannover, Germany; <sup>2</sup>Hannover Medical School, Department of Dermatology & Allergology, Hannover, Germany; <sup>3</sup>Private Practice, Dermatology, Hannover, Germany; <sup>4</sup>Frankfurter Diakonie-Kliniken, St. Markus Academic Hospital, Department of Urology, Frankfurt am Main, Germany; <sup>5</sup>Lund University Hospital, Institute for Laboratory Medicine, Department of Clinical & Experimental Pharmacology, Lund, Sweden; <sup>6</sup>University Vita Salute, Faculty of Medicine, San Raffaele Hospital, Urological Research Institute (URI), Milan, Italy

A variety of different cell types, including mast cells, melanocytes, nerve as well as glial cells, express the transmembrane receptor protein c-kit, known a tyrosine kinase enzyme [1]. It has been suggested that c-kit-positive interstitial cells (ICs) may play a pivotal role in urogenital smooth muscle as so-called pacemakers and mediators of neurotransmission. In order to identify on the level of light or electron microscopy c-kit-positive ICs, different characteristics have been defined. Those characteristics include the appearance of c-kit-positive multipolar cells in a network of interstitial cells. Usually, ICs can be

found located in very close connection to their target cells, such as smooth muscle cells, epithelial cells, or neurons of intrinsic nerves or nerve endings [2]. Ultrastructural characteristics include the presence of an extended smooth endoplasmic reticulum (sSR), caveolae, and bundles of intermediate filaments. However, such characteristics may vary in different organs [3,4]. A close relationship of multipolar ICs to each other has also been described. Cell-to-cell contact between ICs (as well as between ICs and neurons or smooth muscle cells) is due to the presence of gap junctions, known to enable the transmission

of electrical signals or second messengers, such as  $\text{Ca}^{2+}$ , cyclic AMP and inositol triphosphate. Eight different gap junction proteins have been identified in human tissues, whereas connexin 43 is considered the principal protein in gap junctions of interstitial cells [6].

With regard to the lower urinary tract and penile erectile tissue, the nitric oxide (NO)/ cyclic GMP signalling pathway plays a central role in the control of vascular and non-vascular smooth muscle. The finding that NO synthases (neuronal, endothelial, and inducible NOS), the soluble (cytosolic) guanylyl cyclase (sGC), cyclic GMP-specific phosphodiesterase type 5 (PDE5), and isoforms of the cyclic GMP-dependent protein kinase type I (cGKI) are expressed in male genital tissue is well in accordance with the reversion of tension observed in vitro of isolated human corpus cavernosum induced by vasoactive compounds known to affect (either inhibit or stimulate) the activities of said enzymes. This translates to the effective clinical response of male patients with erectile dysfunction (ED) to drug treatment with selective PDE5 inhibitors. Interestingly, there is evidence derived from animal and human studies that c-kit-positive ICs might play a role in the NO signalling pathway in the small intestine and urinary bladder [5,7-9]. Key enzymes of the NO/cyclic GMP/cGKI signalling pathway - namely nNOS, sGC and cGKI - are either prominently expressed within c-kit positive ICs (sGC and cGKI) or in nerve fibers transversing adjacent to c-kit-positive ICs (nNOS) [10].

In order to follow up the hypothesis of a role for c-kit-positive ICs in the control of the penile erectile tissue, we evaluated the expression and distribution of c-kit-positive ICs in the human corpus cavernosum and determined whether or not cavernous interstitial cells express the gap junction protein connexin 43.

**Material and methods.** *Immunohistochemistry.* In accordance with the regulations of the local ethical committees, human penile erectile tissue was obtained from patients who had received gender reassignment surgery or penile amputation due to localized penile carcinoma. Specimens were examined by a routined pathologist. Only cavernosal specimens classified histologically normal were used in the study. The tissue was fixated in phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) containing 4% formaldehyde and then embedded in Tissue-Tec (Miles Laboratories Inc., Elkhart, USA).

Ten micrometer (10  $\mu\text{m}$ ) cryostat sections were pre-incubated for 2 h in PBS supplemented with 0.2% Triton X-100 and 0.1% BSA, followed by exposure for at least 24 h to the primary antibodies (anti-c-kit, -smooth muscle  $\alpha$ -actin, and -connexin 43) in a proper dilution. After rinsing the sections with PBS, secondary antibodies (Alexa Fluor, dilution 1:300) were applied and allowed to incubate for 90 minutes. Then, sections were mounted using phenylendiamine. Visualization was commenced using a laser fluorescence microscope (Olympus Corp., Osaka, Japan) and the Viewfinder Lite™ program software (version 2.0) (Pixera Corp., Egham, UK).

*Antibodies.* Antibodies directed against c-kit (polyclonal affinity purified IgG raised in rabbits against a peptide mapping within the C-terminus of c-kit of human origin) were purchased from Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, USA (#sc-168), the anti-connexin 43 antibodies (purified monoclonal IgG1 raised in mice against a peptide corresponding to positions 252-270 of the mouse connexin 43 sequence) were from Millipore Corp., Billerica, USA (#MAB 3067). In order to verify the localization of c-kit positive multipolar cells within the smooth musculature, double-stainings using a monoclonal anti-smooth muscle  $\alpha$ -actin antibody (#A5228, Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) were also conducted. Fluorochrome-labelled secondary antibodies were obtained from Molecular Probes Europe BV, Leiden, The Netherlands.

**Results and their discussion.** Western blot analysis confirmed the specificity of the anti-c-kit and anti-connexin 43 antibodies (data not shown). Abundant immunoreactivities indicating the presence of  $\alpha$ -actin (Fig. 1B), c-kit (Fig. 1A,E), as well as connexin 43 (Fig. 1F) were observed in the sections of human corpus cavernosum. Double-labelled staining sections confirmed the localization of c-kit-positive multipolar cells adjacent to trabecular smooth muscle cells (Fig. 1A-C). Sections double-stained for c-kit and connexin 43 showed dense expression of connexin 43 in the bodies of c-kit-positive ICs (Fig. 1E-G). The number of c-kit-positive cells was significantly lower within the non-vascular and vascular cavernous smooth musculature than in the connective tissue surrounding the smooth muscle cells of the corpus cavernosum or cavernous arteries. Control stainings omitting the primary antibodies did not reveal fluorescence signals in any of the histological components of the penile erectile tissue.

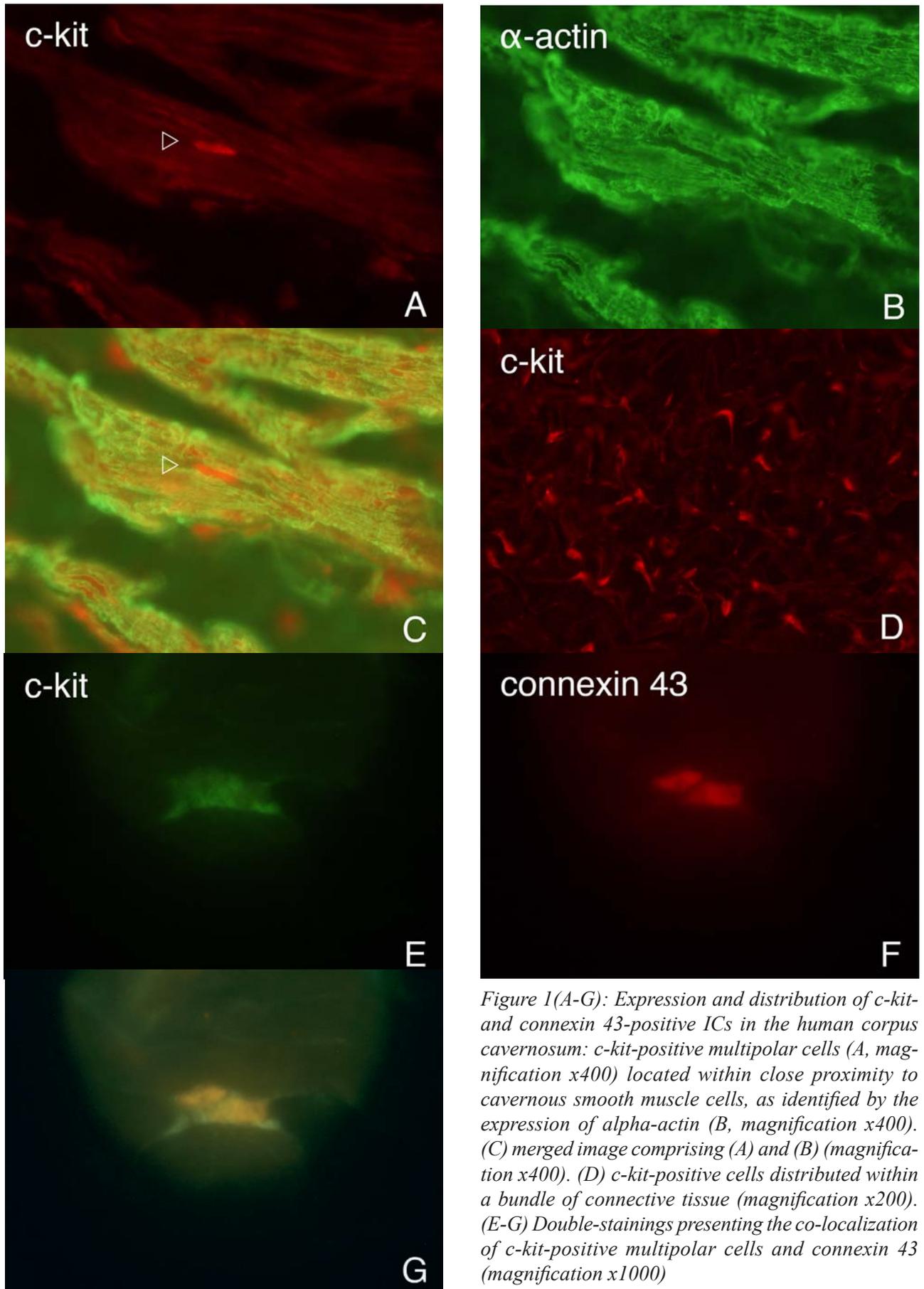


Figure 1(A-G): Expression and distribution of *c-kit*- and *connexin 43*-positive ICs in the human corpus cavernosum: *c-kit*-positive multipolar cells (A, magnification x400) located within close proximity to cavernous smooth muscle cells, as identified by the expression of alpha-actin (B, magnification x400). (C) merged image comprising (A) and (B) (magnification x400). (D) *c-kit*-positive cells distributed within a bundle of connective tissue (magnification x200). (E-G) Double-stainings presenting the co-localization of *c-kit*-positive multipolar cells and *connexin 43* (magnification x1000)

Our study demonstrates the expression of c-kit-positive multipolar ICs in the human penile corpus cavernosum. Multipolar ICs were identified by their morphology, anatomical localization, and immunoreactivity specific for the tyrosine kinase receptor c-kit. These cells did not stain for  $\alpha$ -actin. The c-kit-positive multipolar cells were seen located within close proximity to potential target cells (cavernous smooth muscle cells). This is well in support with the results from earlier studies, demonstrating the expression of c-kit-positive ICs in human as well as non-human urogenital organs and the expression of connexin 43 in interstitial cell gap junctions in non-urogenital tissues [6,11-13] With regard to human penile erectile tissue (corpus cavernosum), Shafik et al. (2006 & 2007), based on results from immunohistochemical stainings using anti-c-kit antibodies, reported that cells similar to interstitial cells of Cajal (ICsC) are present in the corpus cavernosum. However, the methods they applied did not allow to discriminate accurately between C-kit-positive interstitial cells and other cells, for example mast cells [14]. They also speculated that the distribution of ICsC might be different in the erectile tissues of men with different types of ED (neurogenic, arteriogenic, venogenic) and that the pattern of distribution may interfere with the intensity of coordinated discharges of slow wave electrical activity from ICsC and, thus, the control of cavernous smooth muscle cells [15]. Our present study, to the best of our knowledge, is the first that performed double-stainings of sections of the human corpus cavernosum using specific markers for ICs (c-kit) and smooth muscle cells ( $\alpha$ -actin), or for ICs and the gap junction protein connexin 43. Thereby, we were able to demonstrate immunosignals related to the expression of connexin 43 in the bodies of c-kit-positive ICs. Further ultrastructural studies are needed in order to directly identify gap junctions between c-kit-positive ICs and smooth muscle cells of the human corpus cavernosum. The stainings presented here revealed that the number of c-kit-positive cells was lower within the vascular and non-vascular cavernous smooth musculature than in the connective tissue surrounding bundles of smooth muscle cells. This finding gives hint to the localization in the connective tissue of potential target cells of ICs. Moreover, the localization and number of ICs (in the connective tissue and adjacent to smooth muscle) might indicate different functional properties of those cells.

Although c-kit-positive ICs have been found in a variety of different organs, such as urethra,

prostate, bladder, gastrointestinal tract and blood vessels [16-19], a pacemaker function of these cells has yet not been demonstrated convincingly. Pace making activity involves the control of  $Ca^{2+}$  inward currents and, thereby, is supposed to play a central role in maintaining smooth muscle contractility. However, it is not yet clear whether or not c-kit-positive ICs contribute to the mechanism of peristaltic propulsion in the gastrointestinal tract or control of contractile neuronal input to the urethra. With regard to the urogenital tract, there is evidence only from animal studies that c-kit-positive ICs might act as pacemakers maintaining the constant tone of the penile erectile tissue during the flaccid state [13,20]. Experimental set-ups utilizing more advanced techniques, such as single cell patch clamping and confocal  $Ca^{2+}$  imaging, are required in order to investigate more precisely the role of c-kit-positive ICs in the control of erectile smooth muscle tone during flaccidity and the termination of erection (detumescence).

In conclusion, our findings demonstrate the distribution of c-kit- and connexin 43-positive ICs in both the connective tissue and smooth musculature of the human corpus cavernosum. Additional studies are needed in order to evaluate the ultrastructure of penile ICs, identify gap junctions mainly mediating direct cell-to-cell communication, and investigate the role of ICs in pace-making mechanisms in the human penile erectile tissue.

## REFERENCES

1. Zhang S.C., Fedoroff S. Cellular localization of stem cell factor and c-kit receptor in the mouse nervous system. *Neurosci. Res.* 1997; 47: 1-15.
2. Huizinga J.D., Fausone-Pellegrini M.S. About the presence of interstitial cells of Cajal outside the musculature of the gastrointestinal tract. *J. Cell. Mol. Med.* 2005; 9: 468-473.
3. Wang X.Y., Berezin I., Mikkelsen H.B., et al. Pathology of interstitial cells of Cajal in relation to inflammation revealed by ultrastructure but not immunohistochemistry. *Am. J. Pathol.* 2002; 160: 1529-1540.
4. Torihashi S., Horisawa M., Watanabe Y. c-Kit immunoreactive interstitial cells in the human gastrointestinal tract. *J. Auton. Nerv. Sys.* 1999; 75: 38-50.
5. Daniel E.E., Berezin I. Interstitial cells of Cajal: are they major players in control of gastrointestinal motility? *J. Gastrointest. Motil.* 1992; 4: 1-24.

6. Nemeth L., Maddur S., Puri P. Immunolocalization of the gap junction protein connexin 43 in the interstitial cells of Cajal in the normal and Hirschsprung's disease bowel. *J. Pediatr. Surg.* 2000; 35: 823-828.
7. Sanders K.M., Ördög T., Koh S.D., et al. Development and plasticity of interstitial cells of Cajal. *Neurogastroenterol. Motil.* 1999; 11: 311-338.
8. Vannucchi M.G. Receptors in interstitial cells of Cajal: identification and possible physiological roles. *Microsc. Res. Tech.* 1999; 47: 325-335.
9. Smet P.J., Jonavicius J., Marshall V.R., de Vente J. Distribution of nitric oxide synthase-immunoreactive nerves and identification of the cellular targets of nitric oxide in guinea-pig and human urinary bladder by cGMP immunohistochemistry. *Neuroscience* 1996; 71: 337-348.
10. Salmhofer H., Neuhuber W.L., Ruth P., et al. Pivotal role of the interstitial cells of Cajal in the nitric oxide signaling pathway of the rat small intestine. *Cell Tissue Res.* 2001; 305: 331-340.
11. Metzger R., Neugebauer A., Rolle U., Böhlig L., Till H. C-kit receptor (CD117) in the porcine urinary tract. *Pediatr. Surg. Int.* 2008; 24: 67-76.
12. Hashitani H., Suzuki H. Identification of interstitial cells of Cajal in corporal tissues of the guinea-pig penis. *Br. J. Pharmacol.* 2004; 141: 199-204.
13. Sui G.P., Rothery S., Dupont E., Fry C.H., Severs N.J. Gap junctions and connexin expression in human suburothelial interstitial cells. *BJU Int.* 2002; 90: 118-129.
14. Shafik A. Study of interstitial cells in the penis: human study. *J. Sex. Med.* 2007; 4: 66-71.
15. Shafik A., Shafik I., Shafik A.A., El-Sibai O. Interstitial cells of Cajal in erectile dysfunction. *Arch. Androl.* 2006; 52: 255-262.
16. Harhun M.I., Pucovsky V., Povstyan O.V., et al. Interstitial cells in the vasculature. *J. Cell. Mol. Med.* 2005; 2: 232-243.
17. Sergeant G.P., McCloskey K.D., Holywood M.A., Thornbury K.D., McHale N.G. Specialized pacemaking cells in the rabbit urethra. *J. Physiol.* 2000; 526: 359-366.
18. McCloskey K.D., Gurney A.M. c-kit positive cells in the guinea pig bladder. *J. Urol.* 2002; 168: 832-836.
19. Exintaris B., Klemm M.F., Lang R.J. Spontaneous slow wave and contractile activity of the guinea pig prostate. *J. Urol.* 2002; 168: 315-322.
20. Hashitani H. Interaction between interstitial cells and smooth muscles in the lower urinary tract and penis. *J. Physiol.* 2006; 576: 707-714.

## SUMMARY

### C-KIT-POSITIVE MULTIPOLAR CELLS IN HUMAN PENILE ERECTILE TISSUE: EXPRESSION OF CONNEXIN 43 AND RELATION TO TRABECULAR SMOOTH MUSCLE CELLS

Ückert<sup>1</sup> S., Kedia<sup>1</sup> G.T., Satzger<sup>2</sup> I., Geismar<sup>3</sup> U., Sohn<sup>4</sup> M., Kuczyk<sup>1</sup> M.A., Hedlund<sup>5,6</sup> P., Waldkirch<sup>1</sup> E.S.

<sup>1</sup>Hannover Medical School, Division of Surgery, Department of Urology & Urological Oncology, Hannover, Germany; <sup>2</sup>Hannover Medical School, Department of Dermatology & Allergology, Hannover, Germany; <sup>3</sup>Private Practice, Dermatology, Hannover, Germany; <sup>4</sup>Frankfurter Diakonie-Kliniken, St. Markus Academic Hospital, Department of Urology, Frankfurt am Main, Germany; <sup>5</sup>Lund University Hospital, Institute for Laboratory Medicine, Department of Clinical & Experimental Pharmacology, Lund, Sweden; <sup>6</sup>University Vita Salute, Faculty of Medicine, San Raffaele Hospital, Urological Research Institute (URI), Milan, Italy

The aim of this study was to evaluate the hypothesis that interstitial cells might play a role in controlling and synchronizing via gap junctions the electrical activity of smooth muscle cells. The expression and distribution of interstitial cells in human penile erectile tissue was evaluated to determine whether or not cavernous interstitial cells express the gap junction protein connexin 43. Specimens of human corpus cavernosum were excised from full preparations of human penises. Cryostat sections (10 µm to 15 µm) of formaldehyde-fixed tissue segments were incubated using a double-labelling technique with antibodies directed against smooth muscle  $\alpha$ -actin, c-kit, and connexin 43. Then, sections were exposed to secondary antibodies. Visualization was commenced by means of laser fluorescence microscopy.

Double-staining techniques revealed immunosignals specific for c-kit (transmembrane receptor protein) and connexin 43 (gap junction protein) in multipolar cells located adjacent to smooth muscle cells. The number of c-kit-positive cells was significantly lower within the smooth musculature than within bundles of connective tissue surrounding smooth muscle cells of corpus cavernosum or cavernous arteries.

Our findings demonstrate the distribution of c-kit and connexin 43-positive interstitial cells in the connective tissue and smooth musculature of the corpus cavernosum. Additional studies are needed in order to evaluate further the ultrastructure of human penile erectile tissue and enable the identification of gap junctions mediating direct cell-to-cell communication.

**Key words:** human penile erectile tissue (corpus cavernosum), interstitial cells, c-kit-positive cells, gap junctions, connexin 43.

## РЕЗЮМЕ

### С-КИТ-ПОЗИТИВНЫЕ МУЛЬТИПОЛЯРНЫЕ КЛЕТКИ В ЭРЕКТИЛЬНОЙ ТКАНИ ПЕНИСА: СООТНОШЕНИЕ МЕЖДУ ЭКСПРЕССИЕЙ КОННЕКСИНА 43 И ГЛАДКОМЫШЕЧНОЙ КЛЕТКОЙ ПЕЩЕРИСТЫХ ТЕЛ ПОЛОВОГО ЧЛЕНА

Юкерт<sup>1</sup> Ш., Кедия<sup>1</sup> Г.Т., Зацгер<sup>2</sup> И., Гайсмар<sup>3</sup> У., Зонн<sup>4</sup> М., Кучик<sup>1</sup> М.А., Хедлунд<sup>5,6</sup> П., Валд-кирх<sup>1</sup> Э.С.

<sup>1</sup>Медицинский институт Ганновера, центр хирургии, отделение урологии и уро-онкологии, Ганновер, Германия; <sup>2</sup>Медицинский институт Ганновера, отделение дерматологии и аллергологии, Ганновер, Германия; <sup>3</sup>Частная практика, дерматология, Ганновер, Германия; <sup>4</sup>Диаконические клиники Франкфурта, академический госпиталь св. Маркуса, отделение урологии, Франкфурт на Майне, Германия; <sup>5</sup>Госпиталь университета Лунд, отделение клинической и экспериментальной фармакологии, Лунд, Швеция; <sup>6</sup>Университет Вита Салюте, медицинский факультет, госпиталь Сан Раффаэле, урологический исследовательский институт, Милан, Италия

Предполагают, что интерстициальные клетки могут играть определенную роль в регуляции (контролировании и синхронизации через щелевое соединение) электрической активности гладкомышечных клеток пещеристых тел мужского полового члена.

Целью исследования явилось изучение экспрессии и распределения интерстициальных клеток в кавернозной ткани мужского полового члена, а

также их свойства экспрессировать коннексин 43, так называемый белок межклеточного соединения. Пробы кавернозной ткани были взяты из операционного препарата мужского полового члена после транссексуальной операции. После фиксации в формальдегиде, замороженные срезы проб (10-15 μm) были окрашены, используя метод двойной маркировки антителами против гладкомышечного альфа-актина, белка c-kit и коннексина 43. Визуализация проводилась посредством лазерной флуоресцентной микроскопии после обработки вторичными антителами.

Метод двойного окрашивания показал специфичную иммунохимическую маркировку белков c-kit (трансмембранный рецептор) и коннексина 43 (так называемый белок щелевых контактов) в мультиполярных клетках, тесно прилегающих к гладкомышечным клеткам. Количество c-kit-положительных клеток было значительно меньше в гладкомышечной ткани, чем это наблюдалось в волокнах соединительной ткани, окружающих гладкомышечные клетки кавернозных тел и артерий.

Проведённые исследования выявили распределение c-kit- и коннексин 43-положительных интерстициальных клеток в соединительной и гладкомышечной ткани пещеристого тела мужского полового члена. Дополнительные исследования необходимы для дальнейшего изучения ультраструктуры кавернозных тел и идентификации щелевых контактов (gap junctions), обеспечивающих межклеточную коммуникацию.

## რეზიუმე

c-kit-დადებითი უჯრედები მამაკაცის სასქესო ორგანოს ქსოვილში: კონექსინ 43-ის ექსპრესია და მისი თანაფარდობა ღრუბლოვანი სხეულის გლუვკუნთოვან უჯრედებთან

შ. უკერტი<sup>1</sup>, გ. კედია<sup>1</sup>, ი. ზაცგერი<sup>2</sup>, უ. გაისმარი<sup>3</sup>, მ. ზონი<sup>4</sup>, მ. კუჩიკი<sup>1</sup>, პ. ჰედლუნდი<sup>5,6</sup>, ე. ვალდკირხი<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ჰანოვერის სამედიცინო ინსტიტუტი, ქირურგიული სექტორი, უროლოგიისა და ურონკოლოგიის დაპარტამენტი, ჰანოვერი, გერმანია; <sup>2</sup>ჰანოვერის სამედიცინო ინსტიტუტი, დერმატოლოგიისა და ალერგოლოგიის

დეპარტამენტი, ჰანოვერი, გერმანია; <sup>3</sup>დერმატოლოგიის კერძო პრაქტიკა, ჰანოვერი, გერმანია; <sup>4</sup>ფრანკფურტის დიაკონიის კლინიკა, წმ. მარკუსის სახ. აკადემიის კლინიკა, უროლოგიის დეპარტამენტი, ფრანკფურტი მაინზე-გერმანია; <sup>5</sup>ლუნდის საუნივერსიტეტო კლინიკა, ლაბორატორიული მედიცინის ინსტიტუტი, კლინიკური და ექსპერიმენტული ფარმაკოლოგიის დეპარტამენტი, ლუნდი, შვედეთი; <sup>6</sup>ვიტა სალუტეს უნივერსიტეტი, მედიცინის ფაკულტეტი, სან რაფაელეს სახ. კლინიკა, უროლოგიის კვლევითი ინსტიტუტი, მილანი, იტალია

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა შეგვესწავლა ინტერსტიციული უჯრედების ექსპრესია და განაწილება მამაკაცის სასქესო ორგანოს ღრუბლოვანი ქსოვილში, აგრეთვე განგვესაზღვრა მათი თვისება - გამოიწვიოს კონექსინ 43-ის (ე.წ. უჯრედშორისი კავშირების ცილა) ექსპრესია. ვარაუდობენ, რომ ინტერსტიციული უჯრედები არეგულირებენ ღრუბლოვანი სხეულის გლუვკუნთოვანი უჯრედების ელექტრულ აქტივობას.

კავერნული ქსოვილის სინჯები მიღებულ იქნა მამაკაცის სასქესო ორგანოს ტრანს-სექსუალური ოპერაციის შემდეგ. ფორმალდეჰიდში ფიქსირების შემდეგ, სინჯების გაყინული ანათალები (10-15  $\mu\text{m}$ ) შეიღება ორმაგი მონიშვნის მეთოდის გამოყენებით

გლუვკუნთოვანი ალფა-აქტინის, c-kit ცილისა და კონექსინ 43-ის მიმართ. ვიზუალიზაცია ხდებოდა ლაზერული ფლუორესცენტული მიკროსკოპის საშუალებით, მეორადი ანტისხეულებით დამუშავების შემდეგ.

ორმაგი შედეგის მეთოდმა აჩვენა, c-kit-ის (ტრანსმემბრანული რეცეპტორი) და კონექსინ 43-ის (ე.წ. gap junction protein) ცილების სპეციფიკური იმუნურ-ქიმიური მონიშვნა მულტიპოლარულ უჯრედებში, რომლებიც მჭიდროდ ეკვრიან გლუვკუნთოვან უჯრედებს. გლუვკუნთოვან ქსოვილში c-kit დადებითი უჯრედების რაოდენობა მნიშვნელოვნად ნაკლები აღმოჩნდა, ვიდრე ეს გამოვლინდა შემაერთებელი ქსოვილის ბოჭკოებში, რომლებიც განლაგებულია ღრუბლოვანი სხეულის და არტერიების გლუვკუნთოვანი უჯრედების ირგვლივ.

ჩატარებულმა გამოკვლევამ გამოავლინა c-kit და კონექსინ 43-ის განაწილება მამაკაცის სასქესო ორგანოს ღრუბლოვანი სხეულების შემაერთებელი და გლუვკუნთოვანი ქსოვილის ინტერსტიციულ უჯრედებში. მიგვაჩნია, რომ საჭიროა დამატებითი გამოკვლევების ჩატარება ღრუბლოვანი სხეულის ულტრასტრუქტურის შემდგომი შესწავლისა და gap junction-ის იდენტიფიცირების მიზნით, რომლებიც უზრუნველყოფენ უჯრედშორის კომუნიკაციებს.

## ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ЦЕЛЬНОЙ СЛЮНЫ ПРИ АНТИОКСИДАНТНОМ ЛЕЧЕНИИ ТКАНЕЙ ПРОТЕЗНОГО ПОЛЯ

Тунян М.Ю., Лалаян Б.К., Закарян А.Е., Григорян К.Л., Погосян Г.А., Егиазарян А.В.

*Национальный институт здравоохранения Министерства здравоохранения РА;  
Ереванский государственный университет*

Известно, что воспалительные реакции всегда сопровождаются повышением интенсивности процессов свободнорадикального окисления, особенно при явлениях гипоксии и нарушениях микроциркуляции, имеющих место при развитии побочного действия акриловых пластиночных съемных зубных протезов [6-8].

В условиях гипоксии увеличивается вероятность одноэлектронного восстановления кислорода в дыхательной цепи митохондрий с образованием супероксид-аниона, который, наряду с перекисью водорода и гидроксильным радикалом, катализирует образование липидных свободных радикалов из ненасыщенных жирных кислот [3,11]. Так инициируется цепной процесс перекисного окисления липидов. Хотя его химические стадии хорошо известны, их роль в патогенезе явлений побочного действия акриловых

протезов на ткани протезного поля остается не до конца выясненной.

Целью исследования явилось определить эффективность применения адаптогенов-антиоксидантов в комплексном лечении заболеваний тканей протезного поля и их влияние на процессы перекисного окисления липидов в цельной смешанной нестимулированной слюне.

**Материал и методы.** Наблюдались 70 (42 мужчин и 28 женщин) пациентов в возрасте от 17 до 78 лет. Лица в возрасте менее 35-и лет составили 26 (37,14%), в возрасте 35-45 лет – 16 (22,85%), старше 45-и лет – 28 (40%). Распределение пациентов по нозологическим формам заболевания представлено в таблице 1. Клиническое состояние пародонта опорных зубов, входящих в протезное поле, определяли по следующим методикам [1,2,9,10].

Таблица 1. Распределение больных по степени выраженности заболевания

Нозологическая форма непереносимости протезов	Число пациентов	
	Группы	%
легкая степень	10	14,28
обострение легкой степени	10	14,28
средняя степень	10	14,28
обострение средней степени	10	14,28
тяжелая степень	20	28,56
практически здоровые	10	14,28
Всего	70	100

Забор цельной смешанной нестимулированной слюны проводили непосредственно перед исследованием. Изучаемые образцы биологической мишени (слюны) в объеме 2 мл, облучали интегральным светом ртутно-кварцевой лампы “Medicor” ( $\lambda > 239$  нм). Облучение проводили при комнатной температуре, перемешивая биоматериал, на расстоянии 10 см от источника света, с экспозицией 60 сек. Облучение видимым светом проводили лампой накаливания, мощностью 200 Вт при аналогичных условиях. Оценка интенсивности процесса перекисного окисления

липидов проводили высокочувствительным информативным методом хемилюминесцентного анализа, основанном на регистрации выделяемых квантов света.

Образующиеся в реакции инициирования процесса радикалы кислорода (OH, RO, O<sub>2</sub>), инициируют образование пероксидных радикалов RO<sub>2</sub> липидов биологического субстрата, рекомбинация которых приводит к возникновению неустойчивого тетроксидов, распадающегося с выделением квантов света. Это свечение регистрируется как

усиленный ток фотоэлектронного умножителя на системах регистрации – самописцах, цифровых осциллографах, а также как интенсивность импульсов хемилюминесценции (ХЛ) за 10 секунд – с применением компьютерного программного обеспечения систем регистрации [5]. Протекающий свободнорадикальный процесс регистрировали в течение 90 сек, т.е. времени, соответствующего наибольшей информативности по значению максимального сигнала  $I_{\max}$  в имп/сек.

Исследование выполнялось на хемилюминометре. Полученные результаты статистически обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента-Фишера.

**Результаты и их обсуждение.** Как следует из представленных в таблице 2 данных, показатель перекисного окисления в цельной смешанной нестимулированной слюне ( $I_{\max}$ ) больных с поражениями тканей протезного поля в 1,16-1,75 раза больше, чем в слюне практически здоровых лиц.

Таблица 2. Интенсивность спонтанной фото-ХЛ и УФ-ХЛ (имп/10 сек) слюны больных с непереносимостью акриловых протезов – по степени выраженности воспаления тканей протезного поля

ХЛ Имп/10сек	практически здоровые лица	Хроническое воспаление тканей протезного поля			Обострение процесса	
		легкая степень	средняя степень	тяжелая степень	легкая степень	средняя степень
спонтанная ХЛ	300±20	348,8±23	433±31	525,13±43	39±25	457±36
индуцированная видимым светом ХЛ	381,15±25	391,38±26	462,43±35	517±47	475±38	484,6±39
индуцированная УФ ХЛ	457±36	427,7±35	500±42	628±52	537±43	548±44

Данные таблицы показывают увеличение значений интенсивности ХЛ слюны больных с непереносимостью акриловых базисных материалов в зависимости от степени выраженности воспаления тканей протезного поля.

статус опорных зубов протезного поля, была выявлена положительная корреляция между ХЛ и значениями клинических и математических индексов (таблица 3).

Аналогичная зависимость выражается при обострении заболевания, однако, с более высокими значениями интенсивности хемилюминесценции. Результаты исследования указывают на интенсивное образование свободных радикалов и перекиси в пораженных тканях протезного поля. Вероятно, основной причиной усиления свободнорадикального окисления является высвобождение пероксидазы из разрушающихся очагов воспаления, фагоцитов (в основном, нейтрофилов) [4,12]. Процессу пероксидации способствует также увеличение кровоснабжения воспаленных тканей, приводящее к локальному их обогащению кислородом, а также токсическое влияние акриловых базисов частичных и полных съемных зубных протезов на ткани протезного поля.

Так, при ухудшении индексных значений PI, РМА, СРITN и др., в образцах слюны интенсивность спонтанной, фото-ХЛ и УФ-индуцированной ХЛ возрастает. Это свидетельствует о том, что используемый нами диагностический метод ХЛ дает качественную, неинвазивную, адекватную и быструю информацию о состоянии тканей протезного поля – наравне с методами клинических и параклинических индексных оценок, принятых в функциональной диагностике.

В результате проведенного ХЛ-анализа, параллельно с определением клинических математических индексов, характеризующих пародонтальный

Далее сравнивалась интенсивность спонтанной, индуцированной видимым светом и УФ-ХЛ в слюне пациентов с поражениями пародонтальных тканей различной степени тяжести до и после традиционного лечения (контрольная группа – 79 больных), а также у пациентов, прошедших комплексное лечение с включением адаптогенов-антиоксидантов (основная группа – 70 больных) (таблица 4).

Таблица 3. Значения спонтанной и индуцированной ХЛ и некоторых математических индексов при хроническом генерализованном пародонтите (ХГП) до лечения

Ноология	Индекс	КПУ	PI	PMA	SRITN	G- VDI-S	G- VCI-S	Подв. зубов	Глуб. ПДК с ЭДГ	Инд. Фукаса	Глубина ПДК с десн. края	Спонт. ХЛ	Индук. видимым светом ХЛ	Индук. УФ ХЛ
ХГП легкой степени		14	1,2	32,6	1,0	0,5	0,35	0,03	2,06	0,991	2,0	348±23	391±26	427±35
Обострение ХГП легкой степени		22	1,38	50,7	1,66	1,42	1,09	0,33	2,19	0,94	1,28	391±25	475±38	484±39
ХГП средней степени тяжести		8	2,0	60,2	2,0	1,0	0,53	0,06	3,79	0,98	2,0	443±31	462±35	500±42
Обострение ХГП средней степени тяжести		16	2,71	71,2	2,66	2,0	2,0	0,34	3,03	0,97	2,91	457±36	484±39	548±44
ХГП тяжелой степени		19	5,27	88,2	3,0	2,27	2,18	1,0	5,5	0,87	3,3	525±43	571±47	628±52

Таблица 4. Динамика изменения ХЛ (спонтанной, индуцированной видимым светом и УФ-) и мм/10 сек слюны пациентов контрольной и основной групп

ХЛ	Группы наблюдения														
	Контрольная группа							Основная группа							
	легкая степень		средней тяжести		тяжелой степени		легкая степень		средней тяжести		тяжелой степени		тяжелой степени		
сроки	спонт. ХЛ	+ вид. свет	спонт. ХЛ	+ вид. свет	спонт. ХЛ	+ УФ	спонт. ХЛ	+ вид. свет	+ УФ	спонт. ХЛ	+ вид. свет	спонт. ХЛ	+ вид. свет	спонт. ХЛ	+ вид. свет
До лечения	348 ± 21	391 ± 23	443 ± 31	462 ± 34	500 ± 37	628 ± 50	348 ± 21	391 ± 23	427 ± 24	443 ± 31	462 ± 34	500 ± 43	525 ± 48	571 ± 45	628 ± 48
Через 2 недели после лечения	310 ± 16	320 ± 18	368 ± 24	381 ± 26	426 ± 27	556 ± 47	308 ± 16	314 ± 16	319 ± 18	332 ± 23	373 ± 27	436 ± 34	442 ± 34	485 ± 37	543 ± 42
Через 3 месяца	320 ± 19	350 ± 21	377 ± 25	407 ± 29	453 ± 35	570 ± 47,5	308 ± 17	320 ± 18	336 ± 24	346 ± 25	385 ± 26	440 ± 35	468 ± 38	498 ± 40	556 ± 43
Через 6 месяцев	326 ± 18	360 ± 23	436 ± 29	413 ± 25	471 ± 35	587 ± 47	310 ± 17	336 ± 23	354 ± 23	414 ± 27	420 ± 26	445 ± 34	470 ± 36	520 ± 41	557 ± 43
Через 1 год	335 ± 19	370 ± 23	445 ± 34	458 ± 35	488 ± 37	614 ± 48	315 ± 18	351 ± 24	380 ± 24	422 ± 33	431 ± 34	446 ± 35	485 ± 37	544 ± 43	562 ± 44

У пациентов контрольной группы, в динамике до 1 года после лечения, происходит постепенное увеличение интенсивности процесса перекисного окисления липидов, почти до значений интенсивности ХЛ слюны лиц, не принимавших лечения. Следует отметить выявленную общую закономерность наибольшего снижения интенсивности ХЛ спустя 2 недели после традиционного лечения и тенденцию к ее увеличению в последующие динамические сроки наблюдения у лиц контрольной группы. В основной группе, при включении в комплексное лечение адаптогенов-антиоксидантов, наблюдается стойкая ремиссия процесса; интенсивность ХЛ почти во всех образцах биоматериала ниже, чем у лиц контрольной группы, т.е. наблюдается ингибирование свободно-радикальных реакций и улучшение общего состояния.

Таким образом, проведенные исследования по определению состояния слюны методом ХЛ до лечения и в динамике после лечения пародонтитов опорных зубов тканей протезного поля, в контрольной и основной группах выявили следующие закономерности: приближение всех показателей к нормальным значениям у больных основной группы, что соответствовало клиническим динамическим индексным параметрам состояния тканей пародонта опорных зубов протезного поля; аналогичную основную группу положительную динамику значений интенсивности ХЛ-показателей в контрольной группе в ранние сроки (до 3-х месяцев) наблюдения, со значительным ухудшением тех же показателей в более поздние динамические сроки наблюдения (1 год).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алимский А.В., Прохончуков А.А. Мониторинг эпидемиологии стоматологических заболеваний. В кн. Медицинская информатика накануне 21 века. Ст-Петербург: 1997; 54-56.
2. Андриясян Л.Г., Аветисян А.З., Азатян Н.Г. Индексная оценка лечения пародонтитов. Сб. научных трудов Ер ГМУ им. М. Гераци. Ереван: 1997; т.1: 233-235.
3. Владимиров Ю.А. Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: "Наука"; 1972: 252.
4. Владимиров Ю.А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран. В кн.: Биофизика. М.: 1987; 830-1440.

5. Закарян А.Е., Элбакян В.Л., Айвазян Н.М., Погосян Г.А., Закарян Н.А., Трчунян А.А. Основы метода хемилуминесцентного анализа и программное обеспечение LabVIEW для автоматической регистрации и математической обработки данных. Международная научно-практическая конференция: "Образовательные, научные и инженерные приложения в среде LabVIEW и технологии "National instruments" 17-18 ноября 2006 г. М.: 2006; 429-432.

6. Тунян М.Ю., Закарян А.Е., Погосян Г.А., Закарян З.А., Мурадян Л.К., Лалаян К.В. Исследование перекисидации при пародонтитах. Ж. Мед. наука Армении. Ереван: 2005; т. XLV. N2: 89-91.

7. Engebretson S.P., Lamster I.B. et al. Radiographic measures of chronic periodontitis and carotid artery plaque. Stroke 2005; 36(3): 561-6.

8. Jon E. Dahl, Mary J. Frango-Polyzois, Gregory L. Polyzois In vitro biocompatibility of denture relining materials, Gerontology 2006; 23: 17-22.

9. Katsunagi H., Ohtake M., Kurosava I., Saito K. Odontology 2003; 91(2): 13-18.

10. Nagler R.M., Reznich A.Z. Antioxidant profile of human saliva and its biological significance. Harefuah 2005; 140(10):12-15, 87.

11. Shackelford R.E., Kaufmann W.K., Paules R.S. Free radicals. Biology and Medicine 2005; 28: 1387-1404.

12. Tang P.B. et al. Med. Hypotheses 2006; 67(3): 462-6.

#### SUMMARY

#### CHEMILUMINESCENCE OF WHOLE SALIVA IN ANTIOXIDANT TREATMENT OF PROSTHETIC BED TISSUES

**Tunyan M., Lalayan B., Zakaryan A., Grigoryan K., Pogosyan G., Yeghiazaryan H.**

*National Institute of Health, Ministry of Health RA; Yerevan State University*

Inflammatory reaction is always accompanied by increased intensity of free-radical oxidation, especially when the phenomena of hypoxia and microcirculatory disorders that occur during the development of side-effects of acrylic removable dentures.

This study determined the effectiveness of adaptogens, antioxidants in the complex treatment of diseases of tis-

sues prosthetic field and their influence on the processes of LPO in whole mixed unstimulated saliva.

Formed in the reaction to initiate the process of oxygen radicals (OH, RO, O<sub>2</sub>), initiate the formation of lipid peroxide radicals RO<sub>2</sub> biological substrate, the recombination of which leads to the emergence of unsustainable tetroxids, which decays with the release of light quanta. This luminescence is recorded as an amplified current of the photomultiplier, the registration systems.

The results suggest the intensive formation of free radicals and peroxides in diseased tissue prosthetic field. Probably the main reason for increasing free-radical oxidation is the release of peroxidase from the crumbling inflammation, phagocytes (mainly neutrophils). The process of peroxidation contributes to an increase in blood supply to inflamed tissues, leading to local enrichment of oxygen, as well as toxic effects of acrylic bases of partial and complete removable dentures in the prosthetic field of tissue.

Effect of antioxidants in combination with traditional treatment in 70 patients with periodontal disease and prosthetic bed was assessed by chemiluminescence analysis of whole mixed unstimulated saliva. The level of lipid peroxidation and chemiluminescence activity exceeded the normal values in the 1,5-2 - twice before the treatment. After treatment with antioxidants, these parameters decreased and increased during remission.

Thus, studies to determine the status of saliva chemiluminescence method to treat and monitor the dynamics after treatment of periodontitis tissues supporting teeth prosthetic field in the control group and the main observation, revealed the following pattern: the approach of all the indices to normal in patients with a core group, which corresponded to the clinical dynamic index parameters of periodontal tissues supporting teeth prosthetic field, and a similar core group of the positive dynamics of the intensity values of chemiluminescence-indicators in the control group up to 3 months of observation, with a significant deterioration of the same indicators at a later time dynamic monitoring.

**Key words:** prosthetic bed tissues, periodontal diseases, treatment.

## РЕЗЮМЕ

### ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ЦЕЛЬНОЙ СЛЮНЫ ПРИ АНТИОКСИДАНТНОМ ЛЕЧЕНИИ ТКАНЕЙ ПРОТЕЗНОГО ПОЛЯ

Тунян М.Ю., Лалаян Б.К., Закарян А.Е., Григорян К.Л., Погосян Г.А., Егизарян А.В.

*Национальный институт здравоохранения Министрства здравоохранения РА; Ереванский государственный университет*

Воспалительные реакции всегда сопровождаются повышением интенсивности процессов свободно-радикального окисления, особенно при явлениях гипоксии и нарушениях микроциркуляции, имеющих место при развитии побочного действия акриловых пластиночных съемных зубных протезов.

Целью исследования явилось определить эффективность применения адаптогенов-антиоксидантов в комплексном лечении заболеваний тканей протезного поля и их влияние на процессы перекисного окисления липидов в цельной смешанной нестимулированной слюне.

Образующиеся в реакции инициирования процесса радикалы кислорода (OH, RO, O<sub>2</sub>), инициируют образование пероксидных радикалов RO<sub>2</sub> липидов биологического субстрата, рекомбинация которых приводит к возникновению неустойчивого тетроксидов, распадающегося с выделением квантов света. Это свечение регистрируется как усиленный ток фотоэлектронного умножителя, на системах регистрации.

Результаты исследования указывают на интенсивное образование свободных радикалов и перекисей в пораженных тканях протезного поля. Основной причиной усиления свободно-радикального окисления, по всей вероятности, является высвобождение пероксидазы из разрушающихся очагов воспаления, фагоцитов (в основном, нейтрофилов). Процессу пероксидации способствует также увеличение кровоснабжения воспаленных тканей, приводящее к локальному обогащению их кислородом, а также токсическое влияние акриловых базисов частичных и полных съемных зубных протезов на ткани протезного поля.

Влияние антиоксидантов в сочетании с традиционным лечением у 70-и пациентов с заболеваниями пародонта и протезного ложа была оценена методом хемилюминесцентного анализа цельной смешанной нестимулированной слюны. Показатели уровня перекисного окисления липидов и активности хемилюминесценции превышали нормальные значения в 1,5-2 раза. После терапии антиоксидантами эти параметры уменьшились, а период ремиссии увеличился.

Таким образом, проведенные исследования по определению состояния слюны методом ХЛ до лечения и в динамике наблюдения после лечения пародонтитов опорных зубов тканей протезного поля, в контрольной и основной группах наблюдения, выявили следующие закономерности: приближение всех показателей к нормальным значениям у больных основной группы, что соответствовало клиническим динамическим индексным параметрам состояния тканей пародонта опорных зубов протезного поля и аналогичную основную группу положительную динамику значений интенсивности ХЛ показателей в контрольной группе на ранних сроках наблюдения, со значительным ухудшением тех же показателей в более поздние динамические сроки наблюдения.

რეზიუმე

მთლიანი ნერწყვის ჰემილიუმინესცენცია საპროტეზო ველის ქსოვილის ანტიოქსიდანტური მკურნალობისას

მ. თუნიანი, ბ. ლალაიანი, ა. ზაქარიანი, კ. გრიგორიანი, გ. პოლსიანი, ა. ელიაზარიანი

სასომხეთის რესპუბლიკის ჯანდაცვის სამინისტროს ჯანმრთელობის დაცვის ეროვნული ინსტიტუტი; ერევნის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

კვლევის მიზანს შეადგენდა ტრადიციულ მკურნალობასთან შეთავსებით ანტიოქსიდანტების გამოყენების ეფექტურობის შესწავლა პაროდონტისა და საპროტეზო ველის დავადებათა მქონე პაციენტებში. გამოყენებულ იქნა მთლიანი შერეული არასტიმულირებული ნერწყვის ჰემილიუმინესცენტური ანალიზის მეთოდი. გამოვლინდა, რომ ლიპიდების ზეჯანგური დაჯანგვისა და ჰემილიუმინესცენციის აქტიურობის დონემ 1,5-2-ჯერ გადააჭარბა ნორმალურ მნიშვნელობას მკურნალობამდე. ანტიოქსიდანტებით თერაპიის შემდეგ ეს პარამეტრები შემცირდა, რემისიის პერიოდი კი - გაიზარდა.

---

## ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ ТАБАЧНОГО ДЫМА НА УРОВЕНЬ ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЯХ

Зурабашвили Д.З., Чантурия И.Р., Кикалишвили Б.Ю., Данелия Г.Г.

*НИИ психиатрии им. М. Асатиани, Тбилиси*

Исследование особенностей липидного обмена, физиологических потребностей целостного организма в экзогенных жирных кислотах, их метаболизм при различных патологических состояниях является значимой проблемой медицины и биологии [5,11].

Высшие жирные кислоты (ВЖК) участвуют в построении большинства клеточных структур, входят в состав мембран, обуславливают степень

их проницаемости, определяют рост и развитие органов и тканей, характер течения клеточного метаболизма, а также являются одним из основных источников энергии [3]. В связи с этим, потребность проведения систематического анализа липидов и жирных кислот все время растет [8]. Однако, по сей день эти исследования малочисленны [10]. В определенной степени это связано с химической неоднородностью и относительной сложностью структуры липидов, что создает значительные

технические трудности [4]. Подавляющее большинство методик, применяемых в настоящее время для выделения и идентификации липидов и жирных кислот сложны и ненадежны [6]. Высокой разрешающей способностью, большой точностью получения количественных результатов обладают хроматографические методы анализа.

Целью исследования явилось изучение влияния токсических компонентов табачного дыма на содержание отдельных высших жирных кислот в пульпе зубов заядлых курильщиков.

**Материал и методы.** Проведен хроматографический анализ линоленовой, линолевой и арахидоновой кислот в ампутированном сегменте коронковой части и полностью экстирпированной пульпах моляр, премоляр и резцов

у 80-и курильщиков с остро протекающим серозным пульпитом (мужчины 30-40-а лет, стаж курения от 10 до 15 лет). Полученные данные сравниваются с результатами анализа того же биологического материала 60-и некурящих с тем же диагнозом.

В таблице приведены усредненные величины содержания ВЖК в представленном объеме биологической ткани. Ацилированные ВЖК идентифицированы по исправленному времени удерживания на хроматографе с пламенно-ионизационным детектором [9]. Критические пары дополнительно обработаны метанолом, содержащим перманганат калия и ацетилхлорид [1]. Отсутствие пика при вторичном хроматографировании указывает на ненасыщенный характер углеводной части ВЖК [7].

Таблица. Уровень жирных кислот в пульпе передних и задних зубов курящих и некурящих при остро протекающем серозном пульпите (мг%)

Субстрат	Кислота	Некурящие		Курящие	
		пульпа		пульпа	
		Коронковая часть	Полностью экстирпированная	Коронковая часть	Полностью экстирпированная
Моляры	Линолевая	15,4±0,9	22,4±3,8	2,0±0,1	2,2±0,2
	Линоленовая	9,2±0,8	12,4±1,2	Следы	Следы
	Арахидоновая	2,8±0,4	2,4±0,6	Следы	Следы
Премоляры	Линолевая	14,8±1,0	20,4±2,4	2,8±0,1	3,0±0,9
	Линоленовая	9,1±0,7	18,6±1,9	Следы	Следы
	Арахидоновая	2,7±0,5	3,9±0,9	Следы	Следы
Резцы	Линолевая	12,6±1,0	16,0±1,2	0,8±0,8	0,6±0,04
	Линоленовая	8,8±0,9	19,6±1,4	Следы	Следы
	Арахидоновая	4,4±0,9	4,5±0,9	Следы	Следы

Внутренняя нормализация осуществлена на основе поправочного коэффициента, который определен по формуле:

$$K_i = \frac{m_i \cdot F_{BC}}{m_{BC} \cdot F_i}$$

где:  $K_i$  – поправочный коэффициент,  $m_{BC}$  и  $m_i$  = массы веществ сравнения (мг),  $F_{BC}$  и  $F_i$  = площадь пиков (см<sup>2</sup>).

Статистическая обработка данных производилась с использованием компьютерной программы SPSS [2].

**Результаты и их обсуждение.** Согласно таблице, коронковая часть и полностью экстирпированная пульпа моляр, премоляр и резцов некурящих пациентов содержат линоленовую, линолевую и арахидоновые кислоты. В полностью экстирпированной пульпе их уровень намного выше, чем в коронковой. Обращает на себя внимание определенное сходство содержания линолевой кислоты в ампутированном сегменте коронковой части пульпы моляр и премоляр. В биологическом материале моляр уровень линолевой кислоты не превышает 15,4±0,9 мг%, в то время как в ампутированной части пульпы премоляр этот показатель равен 14,8±1,0 мг%.

Вариационно-статистический анализ подтверждает достоверность сходства ( $p > 0,5$ ).

В отличие от моляр и премоляр уровень линолевой кислоты в ампутированном сегменте пульпы резцов намного ниже ( $12,6 \pm 1,0$  мг%). Вариационно-статистический анализ подтверждает достоверность различия ( $p < 0,01$ ). В полностью экстирпированной пульпе динамика уровня линолевой кислоты принципиально не отличается от динамики в коронковой части. В молярах и премолярах наблюдается вариационно-статистически подтвержденное сходство ( $22,4 \pm 3,8$  мг% и  $20,4 \pm 2,4$  мг%,  $p > 0,5$ ) уровня линолевой кислоты, в то время как в резцах этот показатель намного ниже ( $16,0 \pm 1,2$  мг%,  $p < 0,001$ ).

Таким образом, в группе некурящих пациентов, наиболее низкий уровень линолевой кислоты находится в пульпе резцов (коронковая и полностью экстирпированная пульпы), в то время как в сходном биологическом материале премоляр и моляр он практически одинаков и намного выше такого резцов.

Согласно приведенной таблице, характер динамики линоленовой и арахидоновой кислот значительно отличается от вышеописанной динамики линолевой кислоты. В коронковой части пульпы моляр, премоляр и резцов уровень линоленовой кислоты соответственно равен  $9,2 \pm 0,8$  мг%,  $9,1 \pm 0,7$  мг%,  $8,8 \pm 0,9$  мг%. Вариационно-статистический анализ подтверждает достоверность сходства ( $p > 0,5$ ). В отличие от линоленовой кислоты, уровень арахидоновой кислоты в коронковой части пульпы передних и задних зубов неодинаков. В молярах и премолярах этот показатель достоверно схож ( $2,8 \pm 0,4$  мг%,  $2,7 \pm 0,5$  мг%,  $p > 0,5$ ). Однако, в коронковой части пульпы резцов он намного больше и достигает  $4,4 \pm 0,9$  мг%. Различие достоверно ( $p < 0,01$ ).

Уровень линолевой, линоленовой и арахидоновой кислот в пульпе передних и задних зубов курящей группы наблюдений значительно ниже, чем у некурящей группы.

Согласно хроматографическому анализу, линоленовая и арахидоновая кислоты количественно не определены в коронковой части и экстирпированной пульпах курящей группы наблюдений. Они

идентифицированы только на уровне следов. В пульпах передних и задних зубов курящей группы наблюдений количественно идентифицирована линолевая кислота. Заслуживает внимания то обстоятельство, что в коронковой части и полностью экстирпированной пульпах моляр и премоляр ее уровень почти одинаков ( $p > 0,5$ ), в то время как в резцах еще более снижен ( $p < 0,01$ ).

Дефицит линолевой кислоты и отсутствие линоленовой и арахидоновой кислот в коронковой части и полностью экстирпированной пульпах курильщиков происходит в результате их функционального замещения или нарушения характера утилизации, вызванных непосредственным действием токсических компонентов табачного дыма, которые в большом количестве аккумулированы в слюне курильщиков.

Функциональные характеристики клеточных мембран во многом связаны с составом жирных кислот. Динамическое равновесие между свободными и депонированными жирными кислотами необходимо для поддержания их текучести, гибкости и селективной проницаемости. Токсические компоненты табачного дыма вызывают определенные метаболические и структурные изменения на клеточном уровне.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бергельсон Л.Д., Дятловицкая Э.В. Молотковский Ю.Г., Батраков С.Г. Препаративная биохимия липидов. М.: Наука; 1981: 256.
2. Брейтман А.Я., Голубев А.А. Рекомендации по статистической обработке результатов исследования. М.: Наука; 1999: 146.
3. Варфоломеев С.Д. Простагландины - новый тип биологических регуляторов. Сорковский образовательный журнал 1996; 1: 40-47.
4. Верещагин А.Г. Биохимия триглицеридов. М.: Наука; 1972: 92.
5. Верещагин А.Г., Скворцов С.В., Исханов Н.М. М.: Биохимия; 1963: 818.
6. Грин Р., Стаут У., Тейлор Д. Биология (под редакцией Р. Сапера) М.: Мир; 1990: 840.
7. Дея Л., Деккер М. Липопротеиды высокой плотности. М.: Медицина; 1981: 240.
8. Дятловская Э.В., Безуглов В.В. Липиды как биоэффекторы. М.: Биохимия; 1998: 67, вып. 6: 86-92.

9. Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир; 1975: 320.
10. Кочетков Н.К. Общая органическая химия, липиды, углеводы, биосинтез. 1986; 340.
11. Кучеренко Н.Е., Васильев А.Н. Липиды. Киев: Высшая школа; 1975: 240.

## SUMMARY

### THE EFFECT OF TOXIC COMPONENTS IN TOBACCO SMOKE ON THE FATTY ACID PROFILE OF DENTAL PULP

Zurabashvili D., Chanturia I., Kikalishvili B., Danelia G.

*M. Asatiani Institute of Psychiatry, Tbilisi, Georgia*

The aim of the present study was to characterize fatty acid profile of dental pulp in non-smokers' and tobacco-smokers' with acute serous pulpitis. The fatty acid composition in the pulp of molars, pre-molars and chisel tooth in 80 tobacco-smokers and 60 non-smokers were analyzed by Gas-Chromatography with glass capillary columns. Linolic acid was revealed in both - tobacco-smokers and non-smokers; the concentration of linolic acid in tooth pulp of non-smokers was significantly higher. Non-smokers' tooth pulp contained linolic, linolenic and arachidonic acids; tobacco-smokers' – only linolic acid. The linolenic and arachidonic acids in pulp of tobacco-smokers were not discovered.

**Key words:** tobacco-smokers, fatty acid profile, acute serous pulpitis, dental pulp.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ ТАБАЧНОГО ДЫМА НА УРОВЕНЬ ПОЛИНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЯХ

Зурабашвили Д.З., Чантурия И.Р., Кикалишвили Б.Ю., Дanelia Г.Г.

*НИИ психиатрии им. М. Асатиани, Тбилиси*

Методами капиллярной газовой хроматографии проведен сравнительный анализ содержания линолевой, линоленовой и арахидоновой высших жирных кислот в ампутированной коронковой

части и полностью экстирпированной пульпе моляр, премоляр и резцов 80-и курильщиков и 60-и некурящих пациентов (острый серозный пульпит, диффузная и очаговая формы). Исследование выявило наличие линолевой кислоты в пульпе моляр, премоляр и резцов, как у курильщиков, так и у некурящих лиц. При этом, у некурящих показатель содержания линолевой кислоты в биологической ткани был значительно выше. Линоленовая и арахидоновая кислоты количественно идентифицированы только в некурящей группе наблюдений. В ампутированной коронковой части и полностью экстирпированных пульпах моляр, премоляр и резцов курильщиков уровни линоленовой и арахидоновой кислот не превышали следовых величин. Исследование выявило, что дефицит линолевой кислоты и практически полное отсутствие линоленовой и арахидоновой высших жирных кислот в ампутированной коронковой части и полностью экстирпированных пульпах моляр, премоляр и резцов у курильщиков связан с непосредственным действием токсических компонентов табачного дыма, которые в большом количестве аккумулированы в слюне курильщиков.

## რეზიუმე

ბიოლოგიურ ქსოვილებში თამბაქოს ბოლის ტოქსიკური კომპონენტების გავლენა უჯერი ცხიმოვანი მუკების დონეზე

დ. ზურაბაშვილი, ი. ჭანტურია, ბ. კიკალიშვილი, გ. დანელია

მ. ასათიანის სახელობის ფსიქიატრიის ს/კ ინსტიტუტი

თამბაქოს ბოლის ტოქსიკური კომპონენტების გავლენის შესწავლა კვლავ რჩება სერიოზულ პრობლემად ბიოლოგიასა და მედიცინაში. რისკ-ფაქტორის განსაზღვრის მიზნით მწვავე პულპიტის დროს შესწავლილია უჯერი ცხიმოვანი მუკების დონე აქტიურ მწვეველთა (30-45 წლის 80 მამაკაცი) და არამწვეველთა (იმავე ასაკის 60 მამაკაცი) წინა და უკანა კბილებიდან ექსტირპირებულ პულპაში. ქრომატოგრაფიული მეთოდების გამოყენებით საკვლევი ბიოლოგიურ მასალაში იდენტიფიცირებულია ლინოლის, ლინოლენისა და არაქიდონის მუკები. ნაჩვენებია, რომ საჭრელი კბილის პულპაში (არამწვეველთა ჯგუფი) ცხიმოვანი

მკვლელების დონე უკანა კბილებთან შედარებით ბევრად დაბალია. აქტიურ მწვეველთა ჯგუფში შესწავლილი ცხიმოვანი მკვლელებიდან აღინიშ-

ნება მხოლოდ ლინოლის მჟავა. მონაცემები დამუშავებულია კომპიუტერული პროგრამა SPSS-ის საშუალებით.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ АТОРВАСТАТИНА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ ФОРМОЙ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ НА ФОНЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Дундуа Г.И., Абуладзе Г.В., Джинджолия Н.Р., Небиеридзе М.И.

*НИИ кардиологии Грузии, I клиническая больница «ООО кардиологическая клиника», Тбилиси*

Тактика современных подходов изучения статинов по снижению частоты сердечно-сосудистых осложнений по сей день остается актуальной [1-5]. Клинические эффекты статинов обусловлены не только их липидснижающим, но и многими плейотропными (нелипидными) свойствами [6-9], оказывающими позитивное влияние на различные патогенетические звенья атеросклероза и ишемической болезни сердца (ИБС).

Среди изученных плейотропных свойств статинов следует отметить улучшение эндотелиальной функции сосудистой стенки, снижение активности тромбоцитов, стабилизацию атеросклеротической бляшки, противовоспалительные, иммуномодулирующие, антиаритмические эффекты. Результаты современных клинических исследований свидетельствуют о том, что статины уменьшают ремоделирующее воздействие фибрилляции предсердий (ФП) на миокард [1]. В то же время имеются сведения о наличии воспалительных изменений [8,10,11] в биоптатах предсердий больных ФП [12,13]. Эти данные подтверждают мнение о том, что ФП может быть связана с воспалением, ишемией левого предсердия вследствие клинических проявлений ИБС, что, в свою очередь, по всей вероятности, вызывает пароксизмальные атаки ФП или ее персистенцию. Следует предположить, что включение статинов в комплексное лечение больных ИБС обеспечит предотвращение приступов ФП.

В литературе нами не обнаружено данных о клиническом значении нелипидных свойств ста-

тинов, в том числе их роли в профилактической эффективности рецидивов пароксизмальной формы ФП. Механизм действия плейотропных эффектов сложен и не до конца изучен. В связи с этим актуален поиск новых схем лечения для сохранения синусового ритма при пароксизмах ФП после успешной кардиоверсии.

Весьма важным следует считать результаты исследований, доказывающие преимущества аторвастатина перед другими представителями этого класса [11,16] по воздействию на частоту развития сердечно-сосудистых осложнений [14,15]. Эффекты лечения аторвастатином обусловлены более выраженными нелипидными свойствами [16,17].

Целью настоящего исследования явилась оценка эффективности аторвастатина в комбинации с антиаритмическими препаратами и другими традиционными средствами в лечении больных пароксизмами фибрилляции предсердий на фоне ишемической болезни сердца.

**Материал и методы.** В течение 2-х лет наблюдались 65 больных (40 мужчин и 25 женщин) в возрасте от 37 до 72 лет. Признаки сердечной недостаточности II-III функционального класса по классификации NYHA имели все пациенты. Аритмический анализ у больных составил, в среднем,  $3,1 \pm 0,2$  пароксизма в месяц. Больные были разделены на две группы. После успешной кардиоверсии (электрической или фармакологической) больные I группы (28 больных) получали

поддерживающую антиаритмическую терапию на фоне стандартного лечения. Во II группе (37 больных) – проводилось комбинированное лечение с применением аторвастатина.

Регистрировалась запись ЭКГ и 24-часовое холтеровское ЭКГ мониторингирование до назначения терапии и после нее через каждые 6 месяцев до конца исследования. Параметры гемодинамики оценивали с помощью эходоплерографического исследования: диаметры левого предсердия, конечно-диастолические и конечно-систолические размеры левого желудочка, фракция выброса левого желудочка. Определялись также липиды крови. Пациенты принимали антикоагулянтную терапию варфарином до достижения МНО (международное нормализованное отношение) 2-3 в течение 4-х недель до кардиоверсии и 3-х месяцев после кардиоверсии. Больные II группы получали аторвастатин первые 6 нед. 10 мг/сут. и в дальнейшем – 20 мг/сут. до конца исследования. Основным эффектом терапии следует считать полное исчезновение приступов ФП, уменьшение частоты рецидивов пароксизмальных атак и снижение их суммарной продолжительности.

Таблица. Динамика эхокардиографических показателей в I и II группах

Показатели	I группа		II группа	
	исходная	24 мес.	исходная	24 мес.
ЛП, мм	44,2±3,8	41,7±1,2	43,8±3,7	40,8±1,5
ЛЖКДР, мм	63,2±5,8	59,3±3,9	62,1±4,1	60,2±3,7
ФВ, %	39,3±4,7	43,4±3,8	39,8±4,2	41,9±4,1

Полученные в ходе исследования результаты указывают, что применение аторвастатина уменьшает эпизоды пароксизмов ФП у больных хронической ИБС. Действие терапии статином не было связано с уровнем липидов в крови как в начале, так и к концу исследования.

Преимущество комбинированного лечения аторвастатином опосредовано выраженной плеiotропной активностью. Возможно, что возникновение рецидивов ФП вызвано гипоксией, нарушением электрофизиологического статуса левого предсердия в результате приступов ФП и субклинического течения ИБС.

Кроме непрямого антиаритмического действия комбинированное лечение аторвастатином, вероятно, имеет прямые антиаритмические эффекты в результате воздействия на электрическое ремоделирование

**Результаты и их обсуждение.** В результате 2-летнего наблюдения больных II группы, которым проводилось комбинированное лечение аторвастатином, у больных ИБС выявлено уменьшение количества повторных приступов ФП по сравнению с I группой больных, не принимавших аторвастатин. Пароксизмы ФП в I группе к 6-му месяцу регистрировались в 25% случаев, а к концу наблюдения - в 32% случаев. Во II группе больных к концу исследования повторные атаки ФП наблюдались в 14% случаев.

Анализ динамики уровня липидов в крови на фоне лечения не входил в задачи данного исследования. Следует отметить, что в исследуемых группах уровень холестерина липопротеинов низкой плотности значимых изменений по сравнению с исходным не претерпевал.

Эхологические показатели также существенно не изменялись на протяжении исследования (незначительно отклонялись от нормы). Проанализировано был ли исходный уровень холестерина (низкой и высокой плотности) различным в группах и влиял ли на возникновение ФП. Подобной взаимосвязи не обнаружено.

предсердий, изменяя структурно-функциональные параметры миокарда и физико-химические данные клеточных мембран с повреждением трансмембранных свойств ионных каналов.

Механизмы, посредством которых статины способствуют предотвращению пароксизмальных атак ФП, недостаточно изучены. Следует отметить, что результаты настоящего исследования основаны на немногочисленном материале. Тем не менее, можно констатировать, что нелипидные эффекты препаратов этой группы весьма значимы.

Вышеизложенное свидетельствует, что использование аторвастатина в комбинированной терапии способствует как профилактике развития риска повторных приступов ФП, так и их предотвращению с целью сохранения синусового ритма после успешной кардиоверсии.

Тактика комбинированного лечения антиаритмических агентов аторвастатином существенно уменьшает частоту пароксизмов у больных ИБС по сравнению с терапией без применения статина. Это указывает на эффективность применения аторвастатина, что дает нам право рекомендовать его более широкое применение в клинической практике для лечения больных фибрилляцией предсердий.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Агеев Ф.Т., Даниелян М.О., Мареев В.Ю. и др. Больные с хронической сердечной недостаточностью в российской амбулаторной практике. Сердечная недостаточность. 2004, 5(1), 4-7.
2. Беленков Ю.Н., мареев В.Ю. Принципы рационального лечения сердечной недостаточности. М.: «Медиа Медика»; 2000: 266.
3. Даниелян М.О. Прогноз и лечение хронической сердечной недостаточности. Автореф. дисс... канд. мед. наук. М.: 2001.
4. Рекомендации Американского Кардиологического Колледжа, Американской Ассоциации Сердца (ААС) и Европейского общества Кардиологов по лечению пациентов с фибрилляцией предсердий. 2004: 134.
5. Advanced cardiovascular life support: introduction to ACLS 2000: overview of recommended changes in ACLS from the Guidelines 2000 Conference (abstr.). Circulation 2000: 102; 186-9.
6. Baine WB, Yu W, Weis KA. Trends and outcomes in the hospitalization of older Americans for Cardiac conduction disorders or arrhythmias, 1991-1998. J. Am. Geriatr Soc. 2001; 49: 763-70.
7. Booc CS, Callsson S, More RS. Rate or rhythm control in persistent atrial fibrillation? QSM 2003; 96(12): 881-892.
8. GiSSL-HF investigators. Effect of rosuvastatin in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF). A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 2008; 372: 1231-1239.
9. Granada J., Uribe W., Chyou PH, et al. Incidence and predictors of atrial flutter in the general population. J. Am Coll Cardiol. 2000; 36: 2242-6.
10. Kjekshus J., Dunselman P., Blideskog M et al. On behalf of the CORONA Study Group. A statin in the treatment of heart failure? Controlled rosuvastatin multinational study in heart failure (CORONA): study design and baseline characteristics. Europ. J. Heart. Failure 2005; 7: 1059-1069.
11. Kjekshus J., Apetrei E., Barrios V. et al. On behalf of the CORONA Group. Rosuvastatin in older patients with systolic heart failure. New Engl. J. Med. 2007; 357 (22): 2248-2261.
12. Lopez-Zendin J. et al. Expert consensus document of  $\beta$ -adrenergic receptor blockers. Eur. Heart J. 2004; 25(15): 1341-62.
13. Seidl K., Rameken M., Breunung S. et al. Diagnostic assessment of recurrent unexplained syncope with a new subcutaneously implantable loop recorder. Reveal-Investigators. Europace 2000; 2: 256-62.
14. Vartin M.J. et al. Serum cholesterol, blood pressure and mortality: Implications from a cohort of 361662 men. Lancet 1986; 2: 933-936.
15. Weber M.F. The role of the new beta blockers in treating cardiovascular disease. AJH 2005; 18: 169S-176S.
16. Wu EB, Chia HM, Gill JS. Resversible cardiomyopathy after radiofrequency ablation of lateral free-wall pathway-mediated incessant supraventricular tachycardia. Pacing Clin Electrophysiol 2000; 23: 1308-10.
17. Yusuf S., Hawken S., Ounpuu S., on behalf of the INTERHEART study investigators. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. Lancet 2004; 364:937-952.

## SUMMARY

### THE EFFICACY OF ATORVASTATIN IN THE CASE OF PAROXISMAL ATRIAL FIBRILLATION IN PATIENTS WITH ISHEMIC HEART DISEASE

**Dundua G., Abuladze G., Jinjolia N., Nebieridze M.**

*Institute of Cardiology, I Clinical Hospital "LTD Clinical of Cardiology", Tbilisi*

The purpose of the study was to estimate efficiency of atorvastatin in complex treatment with antiarrhythmic drugs on the background of ischemic heart disease in patients with paroxysmal atrial fibrillation (AF). The investigation was conducted on 65 patients (37-72 years old) during 2 years. Two groups were composed. The first group included 28 patients who underwent antiarrhythmic treatment on the background of standard therapy. The second group was composed of 37 patients who underwent combined treatment with therapy by atorvastatin 10-20mg daily dose.

During period of investigation AF was observed in 32% of patients in the I group and in 14% of patients in II group. It was revealed that the complex therapy with atorvastatin minimizes the episodes of AF.

**Key words:** Ischemic heart disease, paroxysmal fibrillation, treatment, atorvastatin.

## РЕЗЮМЕ

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ АТОРВАСТАТИНА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ПАРОКСИЗМАЛЬНОЙ ФОРМОЙ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ НА ФОНЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Дундуа Г.И., Абуладзе Г.В., Джинджолия Н.Р., Небиеридзе М.И.

*НИИ кардиологии Грузии, I клиническая больница «ООО кардиологическая клиника», Тбилиси*

Клинические эффекты статинов в лечении больных пароксизмами фибрилляции предсердий обусловлены не только их липидснижающим действием, но и более выраженными нелипидными (плейотропными) эффектами. Механизм действия плейотропных эффектов сложен и не до конца изучен.

В связи с этим актуален поиск новых схем лечения для сохранения синусового ритма при пароксизмах фибрилляции предсердий (ФП) после успешной кардиоверсии.

Целью исследования явилась оценка эффективности аторвастатина в комбинированном лечении пароксизмов фибрилляции предсердий на фоне ишемической болезни сердца.

Представлены результаты двухлетнего наблюдения за 65-ю больными в возрасте от 37 до 72 лет. В соответствии с методикой лечения были составлены две группы. Больные I группы (28 больных) получали поддерживающую антиаритмическую терапию на фоне стандартного лечения. Больным II группы (37 больных) проводилось комбинированное лечение с применением аторвастатина (10-20 мг/сут).

Результаты исследования показали, что пароксизмы ФП в I группе больных наблюдались в 32%

случаев, во II группе больных – в 14% случаев.

Выявлено, что комбинированное лечение аторвастатином способствует как профилактике развития риска приступов ФП, так и их предотвращению, сохраняя синусовый ритм после успешной кардиоверсии.

## რეზიუმე

ატორვასტატინის ეფექტურობა წინაგულთა ფიბრილაციის პაროქსიზმული ფორმის შემთხვევაში გულის იშემიური დაავადების მქონე პაციენტებში

გ. დუნდუა, გ. აბულაძე, ნ. ჯინჯოლია, მ. ნებიერიძე

კარდიოლოგიის ინსტიტუტი, I კლინიკური საავადმყოფო შპს “კარდიოლოგიური კლინიკა”, თბილისი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ატორვასტატინის მოქმედების ეფექტურობის შეფასება ანტიარითმიულ პრეპარატებთან კომბინაციაში წინაგულთა ფიბრილაციის (წფ) პაროქსიზმული ფორმის მქონე პაციენტებში გულის იშემიური დაავადების ფონზე.

გამოკვლეული იყო 65 პაციენტი 37-დან 72 წლამდე ასაკში 2 წლიანი დაკვირვების პირობებში. I ჯგუფის პაციენტები (28 პაციენტი) იღებდნენ შემანარჩუნებელ ანტიარითმიულ მკურნალობას სტანდარტული თერაპიის ფონზე. II ჯგუფის პაციენტებს (37 პაციენტი) უტარდებოდათ კომბინირებული მკურნალობა ატორვასტატინის (10-20 მგ/დღ) გამოყენებით.

მიღებული კვლევის შედეგები მიუთითებენ, რომ I ჯგუფის პაციენტებში წინაგულთა ფიბრილაციის პაროქსიზმები აღინიშნა 32%-ში, II ჯგუფის პაციენტებში - 14%-ში.

კომბინირებული მკურნალობა ატორვასტატინით ხელს უწყობს წფ-ის შეტევათა ეპიზოდების განვითარების რისკის პროფილაქტიკასა და მათ თავიდან აცილებას სინუსის რითმის შენარჩუნების მიზნით წარმატებული კარდიოვერსიის შემდეგ.

## ДВИГАТЕЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НЕРВНО-МЫШЕЧНОГО АППАРАТА И МАКСИМАЛЬНАЯ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ СПОРТСМЕНОВ

Сулаберидзе<sup>1</sup> Г.Д., Фероян<sup>2</sup> Э.В., Кокаиа<sup>3</sup> Л.Э.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный медицинский университет,  
департамент функциональной морфологии; <sup>2</sup>Медицинский центр «Биомед»;  
<sup>3</sup>Институт медицины св. Царицы Тамары Патриархии Грузии

Спорт высших достижений требует от спортсменов максимального проявления различных двигательных качеств: скорости, силы и скоростно-силовой выносливости, обеспечивающих высокий соревновательный результат. Как известно, предельные нагрузки часто сопряжены с наличием избыточных реакций физиологических систем, участвующих в энергообеспечении организма на всех функциональных уровнях [1,3,8-10], что затрудняет адаптацию организма к максимальным нагрузкам и не дает возможности улучшить спортивные показатели, а в ряде случаев и снижают их, ухудшая состояние здоровья спортсменов.

Направленность развития двигательных качеств определяется в большей мере генетическими индивидуальными особенностями нервно-мышечного аппарата организма [4,6,7]. Однако еще неизвестно, какие функциональные перестройки претерпевает нервно-мышечный аппарат (НМА) спортсмена, обеспечивающий максимальное проявление скорости, силы, силовой и скоростно-силовой выносливости.

Целью исследования явилось изучение функциональной перестройки двигательных единиц мотонейронного пула в процессе тренировок.

**Материал и методы.** В исследованиях принимали участие представители скоростных, скоростно-силовых, силовых видов спорта, а также спортсмены, развивающие выносливость. Всего обследованы 164 спортсмена (120 мужчин и 44 женщин), которые в момент врачебного контроля были практически здоровы и никаких жалоб не предъявляли. Их функциональное состояние было оценено как удовлетворительное и хорошее по общепринятым критериям, предусмотренным стандартными методами (медицинский и спортивный анамнез, измерение роста и веса, определение частоты сердечных сокращений, измерение артериального давления, определение частоты

дыхания и жизненной емкости легких, динамометрия, координационные пробы Ромберга, проба Штанге с задержкой дыхания, комбинированная проба Летунова, проба с натуживанием Флэка и Бюргера, модифицированная ортостатическая проба Стойда, индекс Руфье, электрокардиография, клиничко-биохимические методы) [1,6].

Основная масса спортсменов была в возрасте 17-25 лет (94,5%), остальные возрастные группы (до 15 и более 25 лет) относительно малочисленны (соответственно, 3,1% и 2,4%).

В исследовании участвовали спортсмены сборных команд Грузии. Стаж занятий спортом у обследованных составлял, в среднем, 9,5±4,8 лет.

Обследованные спортсмены представляли следующие виды спорта: развивающие выносливость – велоспорт-шоссе (17,7%), плавание (35,4%). Скоростные виды спорта представлены легкоатлетическим (21,3%) и велосипедным спринтом (13,4%). Скоростно-силовые виды представлены метанием (4,9%) – легкая атлетика. Силовые виды представлены тяжелой атлетикой (7,3%).

Исследования спортсменов проводились в подготовительном и соревновательном периодах подготовки в течение годового цикла (подготовительный период - октябрь-март, соревновательный - апрель-июль).

Функциональное состояние периферического звена нервно-мышечного аппарата (НМА) спортсменов определялось методом электростимуляционной электромиографии, при которой оценивается нервно-мышечная передача, зависящая от пресинаптических и синаптических звеньев моторной единицы [2,6,11-14].

С помощью стимуляционной электромиографии (ЭМГ) [2,14] аппаратно-программным комплек-

сом Keypoint System (Medtronic, США-Дания), раздражался большеберцовый нерв (n.tibialis) в области подколенной ямки. Биопотенциалы снимались с помощью многоцветных в виде прямоугольных оловянных пластинок-электродов размером 6x12 мм, фиксируемых с помощью лейкопластыря при межэлектродном расстоянии в 20 мм.

Фиксировали биоэлектрический М-ответ (строго дозированное, градуированное по частоте электрическое раздражение двигательных волокон нерва). М-ответ возникал при раздражении периферического нерва и рассматривался как результат сложения потенциалов действия двигательных единиц (ДЕ), возбуждающихся почти одновременно. Для выявления функциональной возбудимости быстрых и медленных ДЕ, лабильность НМА определялась в двух режимах раздражающего тока: максимальном, превышающем в 3 раза реобазу, и супрамаксимальном – на 30-50% выше максимального. По величине рефрактерных периодов дифференцировались быстрые и медленные двигательные единицы, составляющие М-ответ. Применение различных раздражающих сил разделяет низко- и высокопороговые ДЕ по степени их возбудимости.

Длительность раздражающего импульса равнялась 1 мс. Частота раздражения варьировала от 1 до 150 имп/с последовательно, через каждые 10 имп/с. Интенсивность импульса изменялась от 0 до 250 в. В каждой серии раздражение проводилось в течение 1 с. Интервал между сериями составлял 10-15 с. Изменения амплитуды М-ответа фиксировались в 6-8-и последовательных пробах.

Максимальная физическая работоспособность определялась с помощью ступенчато-нарастающей нагрузки до отказа на велоэргометре «Monark» [10,1,6,9] в режиме поддержания скорости 60-100 оборотов в минуту, начиная с нагрузки 1,5 кг на колесо в течение 2-х минут, повышая каждые следующие 2 минуты нагрузку на 0,25 кг.

Статистическая обработка полученных данных проведена в электронных таблицах Excel с помощью комплекта прикладных программ [5].

**Результаты и их обсуждение.** Критерии оценок надежности функционирования нервно-мышечной

передачи в зависимости от максимального проявления различных двигательных качеств выявили следующее:

*высокая надежность* функционирования НМА при тестировании скоростных и скоростно-силовых двигательных качеств характеризуется стабильностью амплитуды М-ответов в серии при частоте раздражения нерва от 100 до 140 имп/с. При изучении силовых двигательных качеств, связанных с выносливостью, она может колебаться от 80 до 100 имп/с;

*средняя надежность* двигательных качеств, связанных со скоростью - частота раздражающих импульсов составляет 80-100, при тестировании силовых качеств – 60-80 имп/с;

*низкая надежность* скоростных двигательных качеств колеблется от 50 до 80 имп/с, при тестировании силовых качеств – от 40 до 60 имп/с.

Перекрестная иннервация ДЕ мотонейронного пула допускает направленную перестройку ДЕ под влиянием специфической физической тренировки.

Если скорости соответствует высокая частотная характеристика М-ответа низко- и высоковольтных ДЕ в сочетании с короткой продолжительностью их рефрактерных периодов, то силе адекватна высокая частотная характеристика М-ответа, особенно высоковольтных ДЕ в сочетании с удлинением рефрактерных периодов низко- и высокопороговых ДЕ (таблица 1).

В видах спорта, в которых развивается силовая выносливость, повышается лабильность низко- и высокопороговых быстрых и особенно медленных ДЕ, хотя высокая работоспособность может обеспечиваться и средним уровнем функциональной подвижности НМА.

Развитие скоростно-силовой выносливости сочетается с повышением уровня лабильности, особенно медленных ДЕ НМА, способных к достаточно быстрым и сильным внешним скоростно-силовым проявлениям.

В различных видах спорта специфический тренировочный процесс направленно и дифференцированно перестраивает структуру ДЕ мотонейронного пула, обуславливая характерные особенности функционального состояния НМА.

Таблица 1. Средние данные функционального состояния нервно-мышечного аппарата спортсменов, развивающих различные двигательные качества ( $M \pm \sigma$ )

Вид спорта	n	Частота М-ответа, имп/с		Продолжительность рефракторного периода, мс	
		Максимальный режим	Супрамаксимальный режим	Максимальный режим	Супрамаксимальный режим
Велоспорт - шоссе - спринт	29	88,6±18,6	85,6±16,2	22,4±2,03	24,0±1,70
	22	90,2±9,4	91,5±10,8	19,4±1,23	19,9±1,40
Плавание	58	86,9±8,4	83,3±10,8	21,7±1,10	22,5±1,50
Л/ атлетика - спринт - метание	35	92,9±9,3	91,7±11,1	18,3±0,95	20,1±1,02
	8	92,9±16,8	90,2±18,3	20,9±1,48	23,4±1,47
Тяжелая атлетика	12	83,4±15,3	80,8±11,0	21,5±2,01	25,3±1,65

Сравнение показателей максимальной работоспособности и функционального состояния НМА в подготовительном и соревновательном периодах

в ряде случаев выявило снижение предельной работоспособности в соревновательном периоде (таблица 2).

Таблица 2. Соотношение показателей максимальной работоспособности спортсменов и показателей, характеризующих деятельность НМА ( $M \pm \sigma$ )

Вид спорта	Период	Максимальная работоспособность (Ватт)		Частота М-ответа, имп/с				Продолжительность рефракторного периода, мс			
				Максимальный режим		Супрамаксимальный режим		Максимальный режим		Супрамаксимальный режим	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Велоспорт -шоссе	a	360,0±18,97 (n=29)		86,4±14,6		84,1±16,9		22,0±2,3		24,0±2,2	
	b	384,6* ±13,36 (n=16)	322,9* ±23,07 (n=13)	99,1* ±19,1	80,3* ±22,2	105,4* ±15,2	79,4* 16,4	24,4* ±2,0	20,7* ±1,8	27,3* ±1,7	20,8* ±1,2
-спринт	a	245,1±16,14 (n=22)		92,2±10,3		90,3±12,7		17,8±1,3		17,4±1,2	
	b	278,9* ±14,40 (n=9)	212,5* ±19,22 (n=13)	100,8* ±7,3	77,3* ±10,7	98,4 ±10,5	85,8 ±9,3	20,4* ±1,2	20,1* ±1,2	21,5* ±1,8	18,2 ±1,2
Плавание	a	241,3±37,85 (n=58)		88,7±8,9		82,9±12,4		21,3±1,3		21,9±1,6	
	b	255,5* ±20,03 (n=32)	228,9* ±29,06 (n=26)	98,8* ±7,5	73,3* ±8,7	96,6* ±10,3	70,3* ±9,8	23,6* ±1,2	20,1* ±0,8	26,2* ±1,8	20,1* ±1,1
Л/атлетика спринт	a	252,9±15,09 (n=35)		89,3±10,7		91,0±11,6		18,1±1,2		18,4±1,3	
	b	276,4* ±5,65 (n=17)	225,6* ±10,69 (n=18)	99,7* ±9,4	81,1* ±7,7	103,2* ±10,4	79,4* ±11,3	17,4* ±0,6	19,5* ±1,2	17,3* ±1,2	19,9* ±1,0

примечание: первые две строки – данные в подготовительном (a) и соревновательном (b) периодах подготовки. В графе 1 помещены данные спортсменов, повысивших максимальную работоспособность в соревновательном периоде подготовки, в графе 2 – снизивших ее в этот же период. Звездочкой отмечены статистически достоверные различия между показателями подготовительного и соревновательного периодов ( $p < 0,05$ )

Снижение максимальной работоспособности у всех спортсменов было сопряжено с уменьшением частотной характеристики М-ответа низко- и высоковольтных ДЕ у всех спортсменов. У спринтеров, велосипедистов и легкоатлетов возрастала продолжительность рефрактерных фаз, в то время как у других она уменьшалась.

Рост максимальной работоспособности чаще всего связан с повышением лабильности частотной характеристики М-ответа в двух режимах раздражающего тока. Однако у спринтеров, легкоатлетов рефрактерные периоды низко- и высоковольтных ДЕ укорачивались, что, по-видимому, связано с участием в биоэлектрическом ответе преимущественно быстрых ДЕ. У представителей других видов спорта эти периоды увеличивались, что свидетельствует о включении в М-ответ, преимущественно медленных высоколабильных ДЕ, обладающих достаточной силой.

Таким образом, определенная направленность тренировочного процесса формирует соответствующий функциональный стержень ДЕ, способный обеспечить конкретный вид максимальной работоспособности.

Снижение максимальной работоспособности, по-видимому, связано с разнонаправленностью тренировочного процесса на заключительном этапе, что реинтегрирует адекватный функциональный стержень ДЕ, необходимый для наивысшей работоспособности.

Непосредственный пробный экспериментальный перевод максимальной силовой выносливости (формируемый в подготовительном периоде спортивной подготовки) в максимальную скоростно-силовую выносливость (определяющую предельную специальную работоспособность в соревновательном периоде) у 26-и пловцов выявил снижение суммарной мощности работы на 5,1%. В переводе на дистанцию 200 м спортсмены проигрывали себе 0,6-1,7 сек. При этом обращает на себя внимание то обстоятельство, что спортсмены имели средний уровень лабильности ДЕ НМА, который, очевидно, был более адекватен силовому характеру работы.

Фактором, лимитирующим физическую работоспособность спортсмена, как показали исследования электростимуляционной электромиографии,

может быть низкая степень надежности функционирования НМА (устойчивость амплитуды М-ответа снижалась на 10-15 имп/с).

К ранним симптомам дезадаптации НМА следует также отнести резкое повышение тонуса мышц, ухудшение их упруго-вязких свойств.

Таким образом, при обследовании спортсменов на всех этапах тренировочного процесса особое значение следует придавать соответствию активной структуры определенных ДЕ мотонейронного пула характеру тренировочных нагрузок.

Необходимо также дифференцированно оценивать функциональное состояние НМА в соответствии с количественными и качественными особенностями тестирующих предельных нагрузок, которые должны быть адекватны различным периодам спортивной подготовки. Не следует применять упражнений, двигательная направленность которых не адекватна характеру развиваемого на данном этапе спортивной подготовки качества. Подобные упражнения приводят к функциональному нарушению двигательной структуры НМА, что отрицательно отразится на максимальном проявлении конкретного вида предельной работоспособности.

Под влиянием направленного тренировочного процесса происходит дифференцированная комбинационная перегруппировка двигательных единиц НМА, что в значительной степени обеспечивает максимальное развитие того или иного двигательного качества.

При развитии предельных скоростных нагрузок рекрутируются преимущественно низкопороговые быстрые ДЕ, обладающие высокой функциональной активностью, которые в конечном итоге обеспечивают развитие максимальных скоростных качеств.

Развитие максимальной силы связано с преобладающим объединением низко- и высокопороговых медленных ДЕ, которым свойственен как высокий, так и средний уровень лабильности.

Успешное воспитание максимальной силовой выносливости более всего зависит от высокой лабильности низко- и высоковольтных быстрых и медленных ДЕ.

Развитие максимальной скоростно-силовой выносливости сопряжено с интеграцией быстрых и медленных, низко- и высоковольтных ДЕ, обладающих высокой лабильностью.

Максимальная силовая выносливость может быть обеспечена, также, и средним уровнем лабильности ДЕ НМА.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аухадеев Э.И., Якупов Р.А., Романов К.П., Хасаншин И.Я. Комплексное исследование функционального состояния спортсменов. Педагогико-психологические и медико-биологические проблемы физической культуры и спорта 2009; 10 (1): 95-98.
2. Городничев Р.М., Фомин Р.Н., Андриянова Е.Ю. Электронейромиографические показатели физической работоспособности человека. Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Медико-физиологические проблемы экологии человека». Ульяновск: УлГУ; 2007: 64.
3. Иорданская Ф.А., Юдинцева М.С. Мониторинг здоровья и функциональной подготовленности высококвалифицированных спортсменов в процессе учебно-тренировочной работы и соревновательной деятельности. М.: Советский спорт; 2006: 183.
4. Коряк Ю.А. Функциональные свойства нервно-мышечного аппарата человека при повышенной и пониженной нагрузке. Автореф. дисс... д-ра биол. наук. М.: 2006; 15.
5. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: Морион; 2000: 320.
6. Макарова Г.А. Спортивная медицина. М.: 2004; 261-278.
7. Нетреба А.И. Специфические изменения скоростно-силовых возможностей скелетных мышц под влиянием тренировки в изотоническом и изокинетическом режимах мышечного сокращения и при гипокинезии. Автореф. дисс... канд. биол. наук. М.: 2007; 14.
8. Ростовцев В.Л., Квашук П.В. Динамическая электростимуляция - экспериментальный метод построения модельных характеристик высококвалифицированных спортсменов. Вестник спортивной науки. М.: 2006; 1: 13-18.
9. Сонькин В.Д. Физическая работоспособность и энергообеспечение мышечной функции в постнатальном онтогенезе человека. Физиология человека 2007; 33(3): 81.
10. Astrand P.O. Textbook of work physiology. 2nd.

ed. New York: 1977; 681.

11. Courtine G., Harkema S., Dy C., Gerasimenko Y., Dyhre-Poulsen P. Modulation of multisegmental monosynaptic responses in a variety of leg muscles during walking and running in humans. J. Physiol. 2007; 582 (Pt. 3): 1125-39.
12. Gorodnichev R., Petrov D., Fomin R. Parameters of motor-evoked potential under magnetic stimulation in athletes of various qualification. European College of Sport Science: Book of Abstracts of the 12-th Annual Congress of the European College of Sport Science. 11-14 July, 2007; Jyväskylä, Finland: 529.
13. Payton C.J., Bartlett R.M. Biomechanical evaluation of movement in sport and exercise. The British Association of Sport and Exercise Sciences Guide. Routledge 2007; 218.
14. Pease W.S., Lew H.L., Johnson E.W. Practical electromyography. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins: 2006; 512.

## SUMMARY

### THE MOTORIC FEATURES OF NEURO-MUSCULAR APPARATUS AND THE MAXIMUM WORKING CAPACITY OF THE ATHLETES

Sulaberidze<sup>1</sup> G., Feroyan<sup>2</sup> E., Kokaia<sup>3</sup> L.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Department of Functional Morphology; <sup>2</sup>Medical Centre «Biomed»; <sup>3</sup>Patriarchate of Georgia St. King Tamar Institute of Medicine

The purpose of the research is to study the functional reconstruction of the motoric units of the motoneuronic pool in the process of trainings of athletes. 164 athletes have been participated in the studies: the representatives of the high-speed, high-speed-power, power forms of sport and also the athletes, who develop the endurance. With the aid of stimulation of electromyography bioelectric M-reply/answer has been fixed that appears to the strictly dosed, graduated in the frequency electrical irritation of the motoric fibers of nerve. Under the effect of the directed training process occurs the differentiated combinational regrouping of the motoric units of neuron-muscular apparatus, which to a considerable degree increases the maximum development of one or another motoric quality.

**Key words:** athletes, electromyography, neuromuscular apparatus, motoric qualities.

## РЕЗЮМЕ

### ДВИГАТЕЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НЕРВНО-МЫШЕЧНОГО АППАРАТА И МАКСИМАЛЬНАЯ РАБОТОСПОСОБНОСТЬ СПОРТСМЕНОВ

Сулаберидзе<sup>1</sup> Г.Д., Фероян<sup>2</sup> Э.В., Кокаи<sup>3</sup> Л.Э.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, департамент функциональной морфологии; <sup>2</sup>Медицинский центр «Биомед»; <sup>3</sup>Институт медицины св. Царицы Тамары Патриархии Грузии

Целью исследования явилось изучение функциональной перестройки двигательных единиц мотонейронного пула в процессе тренировок спортсменов. В исследованиях принимали участие 164 спортсмена – представители скоростных, скоростно-силовых, силовых видов спорта, а также спортсмены, развивающие выносливость. С помощью стимуляционной электромиографии фиксировали биоэлектрический М-ответ, возникающий на строго дозированное, градуированное по частоте электрическое раздражение двигательных волокон нерва. Установлено, что под влиянием направленного тренировочного процесса происходит дифференцированная комбинационная перегруппировка двигательных единиц нервно-мышечного аппарата, что в значительной степени обеспечивает максимальное развитие двигательного качества.

## რეზიუმე

სპორტსმენტა ნერვ-კუნთოვანი აპარატის მოტორული თავისებურებანი და მაქსიმალური შრომისუნარიანობა

გ. სულაბერიძე<sup>1</sup>, ე. ფეროიანი<sup>2</sup>, ლ. კოკაია<sup>3</sup>

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ფუნქციური მორფოლოგიის დეპარტამენტი; <sup>2</sup>სამედიცინო ცენტრი “ბიომედი”; <sup>3</sup>საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა თამარ მეფის სახელობის მედიცინის ინსტიტუტი

გამოკვლევის მიზანს წარმოადგენდა სპორტსმენტა წვრთნის პროცესში მოტონეირონული კომპლექსის სამოდროლო ერთეულების ფუნქციური გარდაქმნების შესწავლა. გამოკვლევებში მონაწილეობდა: ჩქაროსნული, ჩქაროსნულ-ძალისმიერი, ძალისმიერი სპორტის სახეობების 164 სპორტსმენი და, აგრეთვე, სპორტსმენები, რომლებიც ვარჯიშობენ გამძლეობაზე. მასტიმულირებელი ელექტრომიოგრაფიის საშუალებით ფიქსირდებოდა ბიოელექტრული M-პასუხი, რომელიც წარმოიქმნებოდა ნერვის მამოდრავებელი ღეროების მკაცრად დოზირებულ, სისშირის მიხედვით გრადუირებულ ელექტრულ გაღიზიანებაზე. გამოვლინდა, რომ მიმართული საწვრთნო პროცესის გავლენით ხდება ნერვ-კუნთოვანი აპარატის სამოდროლო ერთეულების დიფერენცირებული კომბინაციური გადაჯგუფება, რაც მნიშვნელოვანწილად უზრუნველყოფს ამა თუ იმ მამოდრავებელი თვისების მაქსიმალურ განვითარებას.

## ILLCIT DRUGS USE IN GEORGIAN STUDENTS; PILOT STUDY RIGOROUSLY FOLLOWING CRITERIA OF EUROPEAN SCHOOL PROJECT ON ALCOHOL AND OTHER DRUG

Gamkrelidze A., Baramidze L., Sturua L., Galdava G.

*National Center for Disease Control and Public Health (NCDC&PH)*

Health effects of tobacco, alcohol and other drug consumption are evident on the individual as well as the societal level. The prevalence rates of alcohol, tobacco and other drugs use are matters of concern to public policy in most countries, since they are important factors related to the health and welfare of the population.

The wellbeing of young people is of special concern in all societies and ongoing efforts should be made to reduce all types of dangerous behavior. These include many aspects of the consumption of tobacco, alcohol and illegal drugs.

ESPAD surveys focus on risk behaviors spread among young people. These behaviors give information about lifestyles, which could occur again in following growth stages. Gathering better knowledge has important implications in terms of public health.

ESPAD data has become an increasingly important component in reporting of the European drug situation and is part of the EMCDDA key indicator “drug prevalence in the general population and youth”. Future full participation in the ESPAD would make a useful contribution to the overall understanding of drug use in Georgia.

The main purpose of this pilot study done by the National Center for Disease Control and Public Health (NCDC&PH) under the South Caucasus Anti Drug (SCAD) Programme (UNDP) was to adjust the internationally standardized tools to national environment, and, subsequently, to pilot-test the ESPAD methodology in Tbilisi, Georgia in order to make the necessary step aiming to involvement of the whole country into next wave of nationally representative ESPAD surveys; to obtain a high-quality Georgian questionnaire and sampling procedure, and study protocol that would achieve the ESPAD scientific criteria while reflecting the cultural and linguistic specificity, and to increase national research capacity in this area.

**Material and methods.** The survey was conducted according to a standardized methodology and with a standardized questionnaire. The standardization regards the target population, data collection instrument, field procedures, timing and the data processing [5].

For questionnaire testing standard focus groups with target population were conducted. Pretesting of a questionnaire is central to planning a good survey. Much of the accuracy and interpretability of the survey results hinges on the pretesting step. Focus groups gathered information about a topic: to learn how students structure their thoughts about a topic, their understanding of general concepts or specific terminology, and their opinions about the sensitivity or difficulty of the questions. Focus groups also helped identifying variations in language, terminology, or interpretation of questions and response options. The questionnaire was adjusted according to the results of focus groups discussions.

The final version of the questionnaire was translated into Georgian and then translated back again into English by another interpreter for discovering the discrepancies from the original.

*Sampling procedure.* The goal of the sampling process is to obtain a national and gender wise representative data set.

It is recommended that each country, with some minor exceptions, should draw a sample of about 2,800 students as a minimum, regardless of the size of the country. This was calculated to give about 2400 answered questionnaires, which would allow for analysis by sex plus another variable [2].

A two step random sampling was done. A first step was to randomly sample schools and the second to randomly sample a class within the selected schools. Each step was done randomly, we choose 20 schools

from the all schools, both public and private having 10-th grade. One 10-th grade class (with 16<sup>th</sup> years old students in almost all cases) from each selected schools was chosen randomly in each sampled school. This procedure is more economical than sampling individual students and also has some desirable methodological properties, e.g. sampling entire classes can be expected to increase student perceptions of anonymity [2].

All students (who are present in class the day of the data collection) in selected classes participated in the survey. Schools were selected from the schools list for each district using random numbers.

Sampling frame: 20 schools - 6 schools (5 public and 1 private) in Gldani-Nadzaladevi; 6 schools (4 public and 2 private) in Vake-Saburtalo; 4 schools (all public) in Samgori, 2 schools (all public) in Didube-Chughureti and 2 schools (all public) in Mtatsminda-Krtsanisi districts).

No school or class refused to participate in the survey. When the students had filled out the questionnaire they put it in a separate envelope, which was collected and sent to NCDC&PH together with the classroom report.

Data was collected in February, 2009. Data were collected by group-administered questionnaires. The students answered the questionnaires anonymously. 475 students were tested (469 completed valid questionnaires). The mean age is 16.1±0.5 years.

*Field procedure.* In line with what was decided about the sampling and the data collection instrument, also the field procedures had to be standardized as much as possible [4].

The directors of the participating schools were contacted in 1-2 weeks advance by the survey team and informed regarding the planned study. He/she was asked to inform the teachers of the chosen classes, but not to inform the students in order to avoid discussions among them that could lead to biased data. A written instruction for the survey leader describing how to perform the completion of the questionnaire in the classroom was created by the survey team.

Data was collected by group-administered questionnaires,

under the supervision of a researcher. The questionnaires have been answered anonymously (they did not contain any identification number and the students did not write their names on the questionnaires).

The researcher completed a classroom report while the students answer the questionnaires. Classroom reports were analyzed regarding students attendance and reasons of absence, if there were any disturbances during the survey, if students were interested in participating in the survey, if they worked seriously and if any of them refused to participate.

Every class in the sample was given a unique identification number. When the questionnaires, the envelopes as well as researcher instructions and classroom reports were packed in order to be transported, each pack was marked with this class number.

*Questionnaire and data processing.* After completion the questionnaire was checked for completeness and if age or gender was missing it was compared with the information from the classroom reports and imputed. If the missing information was impossible to re-establish the questionnaire was excluded.

Statisticians were instructed about checking individual questionnaires for completeness and validity. The data file was checked for data quality. The proportion of excluded questionnaires was small (6 questionnaires out of 475; 1.3%).

*School and student co-operation.* All schools and students were willing to participate in the study. In majority of the classes the students were interested and worked seriously. The average time to fill out the questionnaire was 45 minutes. 83% of students were present at schools on the survey day, none of them refused to participate in. The response rate was 83%.

Absent students can be expected to be somewhat more prone to be involved in the use of various substances than is the case with students who are consistently in school [1,3].

In our study the students were absent mainly because of illness (71% in public and 67% in private schools),

the second frequent reason (15% in public and 14% in public schools) was sports games.

**Results and their discussion.** The following text simply aims to give a descriptive picture of prevalence estimates in Tbilisi, and, to present results in regard to gender distributions. This article deals with the results regarding drugs.

*Perceived availability of various substances.* The students were asked: “How difficult do you think it would be for you to get each of the following?” and presented with a list of five substances (cannabis, amphetamines, ecstasy, tranquillizers/sedatives and inhalants). For each of the listed substances, the response categories were: “impossible”, “very difficult”, “fairly difficult”, “fairly easy”, “very easy” and “don’t know”. The proportions of students who answered “very easy” or “fairly easy” to this question are presented in this section. 22% perceived cannabis to be easily obtained. Boys consider cannabis to be slightly more available than girls do (31% versus 13%). The observed difference might be related to a higher level of use among boys. Availability questions for two more illicit substances, amphetamines and ecstasy, were also included in the questionnaire. On average, amphetamines said to be fairly or very easily available by around 5% (i.e. one fourth the cannabis proportion) and ecstasy by

12% (half the cannabis proportion) of students.

Gender differences are visible for the perceived availability of amphetamines (7% boys versus 3% girls) and ecstasy (25% boys versus 5% girls). Almost no gender differences exist, however, for the perceived availability of tranquillizers/sedatives and inhalants. The questionnaire does not distinguish between the prescription and non-prescription availability of these medical drugs. Finally, the availability of inhalants was also checked. According to the instructions provided, the definition given of “inhalants” in the questionnaires was to include, in addition to “glue”, other relevant Georgian examples such as acetone, petrol. 26.5% of the students considered inhalants to be easily available.

*Lifetime use of any illicit drug.* The concept of “any illicit drug” includes marijuana, hashish, amphetamines, cocaine, crack, ecstasy, LSD or other hallucinogens, and heroin. 20% of the surveyed students report having used any of the drugs included in the index at least once.

Many of the students have tried an illicit drug only once or twice, while others have used such drugs more often. On average, 33% of the boys and 8% of the girls have tried illicit drugs at least once during their lifetime.

Table 1. Frequency of lifetime use of any illicit drug. Percentages among boys, girls and all Students

	0	1-2	3-5	6-9	10-19	20-39	≥40	No answer	Total
Male	74	76	29	8	8	9	10	14	228
%	32,5	33,3	12,7	3,5	3,5	3,9	4,4	6,1	100
Female	218	20	6	3	6	2	2	4	241
%	90,5	8,3	2,5	1,2	2,5	0,8	0,8	1,7	100
Total	368	96	35	11	14	11	12	18	469
%	78,5	20,5	7,5	2,3	3,0	2,3	2,6	3,8	100

*Cannabis. Lifetime and last 12 months use of cannabis.* The vast majority of the students who have tried any illicit drug have used marijuana or hashish (cannabis). The proportion of students reporting ex-

perience of cannabis is thus close to the total prevalence for illicit drugs. Lifetime use of cannabis was reported by 17% of the surveyed students (31% boys versus 4% girls).

Table 2. Frequency of lifetime use of marijuana. Percentages among boys, girls and all students

	Number of occasions used in lifetime								Total
	0	1-2	3-5	6-9	10-19	20-39	40 or more	No answer	
Male	156	33	13	3	6	7	8	2	228
%	68,4	14,5	5,7	1,3	2,6	3,1	3,5	0,9	100,0
Female	231	4	3	0	1	1	0	1	241
%	95,9	1,7	1,2	0	0,4	0,4	0	0,4	100,0
Total	387	37	16	3	7	8	8	3	469
%	82,5	7,9	3,4	0,6	1,5	1,7	1,7	0,6	100,0

Use of cannabis in the past 12 months was reported by 17% of the boys and 3% of the girls (10% of all students). More than half of the students who have

ever used cannabis had apparently done so during the past 12 months.

*Table 3. Frequency of use of marijuana or hashish during the last 12 months. Percentages among boys, girls and all students*

	Number of occasions								Total
	0	1-2	3-5	6-9	10-19	20-39	40 or more	No answer	
Male	166	18	9	3	4	2	2	24	228
%	72,8	7,9	3,9	1,3	1,8	0,9	0,9	10,5	100,0
Female	215	3	1	2	1	0	0	19	241
%	89,2	1,2	0,4	0,8	0,4	0	0	7,9	100,0
Total	381	21	10	5	5	2	2	43	469
%	81,2	4,5	2,1	1,1	1,1	0,4	0,4	9,2	100,0

*Last 30 days use of cannabis.* More than 3% of all questioned students (6.5% of the boys and 0.8% of the girls) stated that they had used marijuana or hashish during the last 30 days. This corresponds to roughly one-fifth of

the group stating lifetime use. About 1% of all students had used cannabis at an average frequency roughly corresponding to at least once a week during the period in question (3–5 times or more last 30 days).

*Table 4. Frequency of use of marijuana during the last 30 days. Percentages among boys, girls and all students*

	During the last 30 days							Total
	0	1-2	3-5	6-9	10-19	40 or more	No answer	
Male	188	12	1	0	1	1	25	228
%	82,5	5,3	0,4	0	0,4	0,4	11,0	100,0
Female	218	1	1	0	0	0	21	241
%	90,5	0,4	0,4	0	0	0	8,7	100,0
Total	406	13	2	0	1	1	46	469
%	86,6	2,8	0,4	0	0,2	0,2	9,8	100,0

*Opportunities to try cannabis.* All students were asked: “Have you ever had the possibility to try marihuana or hashish (cannabis) without trying it”? About 36% of the students have had the opportunity to try, without taking it.

reported that they do not know of any such Place; Overall, the gender pattern reveals that predominantly boys are indicating “park, street”, and “house of a dealer” as a place where they would find it easy to buy cannabis. More girls indicated “disco, bar, etc.” and “coffee shop” than boys.

*Places to buy cannabis.* The students were asked: “In which of the following places do you think you could easily buy marijuana or hashish if you wanted to?” It is obvious that many students, which have not used cannabis themselves, have an opinion about where to find it.

*Lifetime use of illicit drugs other than cannabis.* As established above, the most important and prevalent drug is cannabis. Nevertheless, some students have also used other substances; in some cases they have done so without any experience of cannabis at all. The previously used index “any illicit drug” is here used again, but without counting cannabis. The drugs included are thus ecstasy, amphetamines, LSD or other hallucinogens, crack, cocaine and heroin. Students with cannabis experience may of course be included in this index, but then not because of their cannabis use.

On average “disco, bar etc.” (10.4%) and “street, park etc” (9.2%) scored highest. 7.1% of students indicated “house of a dealer”, other different alternatives are found in less than 5%.

There are more girls (72.4%) than boys (59.6%) who

Overall, an average of 15% report use of the illicit drugs included in the index. More boys than girls have done so. After cannabis, ecstasy is the second-most frequently tested illicit drug. On average, 7.5% of the students have tried ecstasy at least once. 4.5% reported ecstasy use during the past 12 months and 1.4% reported use during the past 30 days. Lifetime cocaine and heroine experiences were reported by 0.6% of the students on average, and the figure for amphetamines is about 2%. Lifetime prevalence of

LSD (1.7%) and crack was lower (1.1%) and that of GHB even more so (0.4%). Lifetime prevalence of Relevin and "vint"/"jeff" is 0.04% each. Magic mushrooms were not reported at all. The average for injection use of drugs is 0.2%, meaning that this behavior is practically non-existent among the Tbilisi students. Even though the examples given refer to illicit drugs, the students may also have reported injection use of other substances, such as pharmaceutical drugs or doping agents.

Table 5. Frequency of lifetime use of any illicit drug other than marijuana.  
Percentages among boys, girls and all students

	0	1-2	3-5	6-9	10-19	20-39	≥40	No answer	Total
Boys	174	33	9	1	1	1	1	8	228
%	76,3	14,5	3,9	0,4	0,4	0,4	0,4	3,7	100
Girls	215	14	2	3	2	1	2	2	241
%	89,2	5,8	0,8	1,2	0,8	0,4	0,8	0,8	100
All	389	47	11	4	3	2	3	10	469
%	82,9	10,0	2,3	0,9	0,6	0,4	0,6	2,1	100

Table 6. Lifetime experience of different illicit drugs.  
Percentages among boys, girls and all Students

	Amphetamine	LSD or other	Crack	Cocaine	Heroin	Ecstasy	Magic Mushrooms	GHB	injection
Girls	5	6	4	3	2	28	0	2	1
%	2,20	2,60	1,80	1,30	0,80	12,28	0	0,90	0,40
Boys	4	2	1	0	1	7	0	0	0
%	1,70	0,80	0,40	0,00	0,40	2,90	0	0,00	0,00
All	9	8	5	3	3	35	0	2	1
%	1,90	1,70	1,10	0,60	0,60	7,46	0	0,40	0,20

**Conclusions.** Using drugs is less problematic in Tbilisi adolescents but still needs urgent public health interventions.

22% of the surveyed students perceive cannabis to be easily available, and boys consider cannabis slightly more accessible than girls do, the gender difference is rather big (31% vs.13%). Amphetamines and ecstasy are not perceived to be as easily available as cannabis. On average, 33% of the boys and 8% of the girls have tried illicit drugs at least once during their lifetime (20% for all students). After cannabis, ecstasy is in second position, being mentioned by 7.5% of the students and the figure for amphetamines is about 2%. Lifetime use of crack was reported by fewer students (1.1%) and the rate for heroin was even lower (1%). Lifetime

cocaine and heroine experiences were reported by 0.6% of the students on average. Just as few reported experience of GHB and anabolic steroids or drug use by intravenous administration. Since cannabis is the most frequently used illicit drug, it could be worthwhile to have a closer look at this substance. Use of cannabis in the past 12 months was reported by 17% of the boys and 3% of the girls (10% for all students) while use in the past 30 days was stated by 6.5% of the boys and 0.8% of the girls (3% mean).

## REFERENCES

1. Andersson B, Hibell B Skolelevers drogvanor 1994 (Student drug use, 1994). Rapportserie nr 44. Stockholm, Sweden: The Swedish Council for Information

- on Alcohol and Other Drugs. 1995.
2. Bjarnason T., Morgan M. Guidelines for Sampling Procedures in School Surveys on Alcohol and Other Drugs (stencil) The ESPAD project, The Swedish Council for Information on Alcohol and Other Drugs, Stockholm, Sweden: 2002.
  3. Grube J, Morgan M, Kearney K. Using self-generated identification codes to match questionnaires in panel studies of adolescent substance use; *Addictive Behaviors* 1989; 14: 159-171.
  4. Hibell B, Andersson B. Project Plan (stencil); The ESPAD project, The Swedish Council for Information on Alcohol and Other Drugs, Stockholm, Sweden: 2002.
  5. Hibell B, Andersson B, Bjarnason T, Ahlström S, Balakireva O, Kokkevi A, Morgan M. The ESPAD Report 2003. Alcohol and Other Drug Use Among Students in 35 European Countries. The Swedish Council for Information on Alcohol and Other Drugs, Stockholm, Sweden: 2004.

## SUMMARY

### ILLCIT DRUGS USE IN GEORGIAN STUDENTS; PILOT STUDY RIGOROUSLY FOLLOWING CRITERIA OF EUROPEAN SCHOOL PROJECT ON ALCOHOL AND OTHER DRUG

**Gamkrelidze A., Baramidze L., Sturua L., Gal-dava G.**

*National Center for Disease Control and Public Health (NCDC&PH)*

The main purpose of the European School Survey Project on Alcohol and Other Drugs (ESPAD) is to collect comparable data on substance use among 15–16 year-old European students in order to monitor trends within as well as between countries.

This summary presents key results from the Alcohol Use in Georgian Students, pilot study rigorously following Criteria of European School Project on Alcohol and Other Drug (ESPAD).

The survey was conducted according to a standardized methodology and with a standardized questionnaire. Data were collected during February 2009 and the target population was Tbilisi students in the 10-th grade (93% born in 1992), with a mean age of 16.1

years at the time of data collection. Data were collected by group-administered questionnaires. The students answered the questionnaires anonymously in the classroom with researchers.

22% of the surveyed students perceive cannabis to be easily available, and boys consider cannabis slightly more accessible than girls do, the gender difference is rather big (31% vs. 13%). Amphetamines and ecstasy are not perceived to be as easily available as cannabis. On average, 33% of the boys and 8% of the girls have tried illicit drugs at least once during their lifetime (20% for all students). After cannabis, ecstasy is in second position, being mentioned by 7.5% of the students and the figure for amphetamines is about 2%. Lifetime use of crack was reported by fewer students (1.1%) and the rate for heroin was even lower (1%). Lifetime cocaine and heroine experiences were reported by 0.6% of the students on average. Just as few reported experience of GHB and anabolic steroids or drug use by intravenous administration. Since cannabis is the most frequently used illicit drug, it could be worthwhile to have a closer look at this substance. Use of cannabis in the past 12 months was reported by 17% of the boys and 3% of the girls (10% for all students) while use in the past 30 days was stated by 6.5% of the boys and 0.8% of the girls (3% mean).

Using drugs is less problematic in Tbilisi adolescents but still needs urgent public health interventions.

The consumption level among adults and their attitudes towards the substance in question can be one factor that affects use among teenagers. So may the magnitude of information and preventive efforts. Availability, not only in physical terms but also in financial terms, is another factor. Other, less substance-related, factors include the general level of health awareness in a population and the social and economic structures and conditions of individual communities.

The study results show the importance of knowledge on these issues and therefore including the healthy lifestyle subject in school curricula.

The need to repeat this exercise at regular intervals is important in order to be aware of newer trends and to serve as a basis for policy direction and change.

**Key words:** ESPAD, random sampling, drug use.

## РЕЗЮМЕ

### УПОТРЕБЛЕНИЕ НЕЛЕГАЛЬНЫХ НАРКОТИКОВ СРЕДИ ШКОЛЬНИКОВ ГРУЗИИ; ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЕВРОПЕЙСКОГО ШКОЛЬНОГО ПРОЕКТА

Гамкрелидзе А.Ш., Барамидзе Л.Г., Стура Л.З., Галдава Г.Г.

*Национальный центр контроля заболеваний и здравоохранения*

В статье проанализированы результаты пилотного исследования распространения потребления нелегальных наркотиков среди 16-летних школьников г. Тбилиси.

Исследование проводилось в феврале 2009 года в случайно выбранных, десятых классах двадцати школ г. Тбилиси (по одному классу в каждой школе) по стандартной методологии и стандартным вопросником Европейского школьного проекта (European School Project on Alcohol and Other Drug - ESPAD). Заполнили вопросники 475 школьников, из них шесть были признаны недействительными. Возраст опрошенных - 16,1 лет. Опрос проходил в классных комнатах в присутствии исследователей с сохранением анонимности и конфиденциальности. На вопрос о доступности конопли, 22% школьников (31% мальчиков и 13% девочек) ответили, что конопля («план») легко доступна. В течение последнего года 10% опрошенных школьников (17% мальчиков и 3% девочек), а 3% из опрошенных школьников (6,5% мальчиков и 0,8% девочек) в течение последнего месяца употребляли коноплю

(«план»). Школьники отметили, что амфетамины и экстази труднодоступные лекарства. Пробовали экстази 7,5%, а амфетамины – 2% из опрошенных школьников. На вопрос о том, пробовали ли школьники нелегальные наркотики, хотя бы раз в жизни, положительно ответили 20% опрошенных (33% мальчиков и 8% девочек). «Крек» употребляли 1.1% школьников; 1% - героин. Несколько школьников указали, что они принимают гамагидроксибутират и анаболичные стероиды интравенно. Выявлено, что уровень потребления нелегальных наркотиков взрослыми и их отношение к этой проблеме – один из факторов, влияющих на распространение этого недуга среди подростков. Широкое употребление нелегальных наркотиков взрослым населением влияет на поступки их детей. Отмечен малый объём информации о превентивных мерах. Возможность приобретения нелегальных наркотиков, как с физической, так и с финансовой сторон ещё один сопутствующий фактор. Результаты исследования показали, что необходимо повысить уровень информирования об этой проблеме и ввести предмет о здоровом образе жизни в школьные программы.

#### რეზიუმე

აკრძალული ნარკოტიკული საშუალებების მოხმარება ქართველ მოსწავლეებში; ევროპის ალკოჰოლისა და სხვა ნარკოტიკების სასკოლო პროექტის პილოტური კვლევა

ა. გამყრელიძე, ლ. ბარამიძე, ლ. სტურუა, გ. გალდავა

დაავადებათა კონტროლის ნაციონალური ცენტრი

ალკოჰოლის, თამბაქოსა და სხვა ნარკოტიკების მოხმარების შემსწავლელი კვლევის (European School Project on Alcohol and Other Drug - ESPAD) მიზანია 15-16 წლის ევროპულ მოსწავლეთა შორის ალკოჰოლის, თამბაქოსა და სხვა ნარკოტიკების მოხმარების გავრცელების დადგენა, მოსწავლეთა მიერ ნარკო-

ტიკების მოხმარებასთან დაკავშირებული განწყობა-დამოკიდებულების განსაზღვრა, რათა მოხდეს ქვეყნებში და ქვეყანათა შორის ტენდენციების მონიტორინგი.

საქართველოში პირველად 2009 წელს პილოტურად ჩატარდა ალკოჰოლის, თამბაქოსა

და სხვა ნარკოტიკების მოხმარების შემსწავლელი კვლევა.

წინამდებარე კვლევის მიზანია 16 წლის ქართველ მოსწავლეთა შორის აკრძალულ ნარკოტიკულ საშუალებათა გავრცელების შესწავლა; ამ საკითხთან დაკავშირებით მოსწავლეთა განწყობა-დამოკიდებულების განსაზღვრა 2009 წელს საქართველოში ჩატარებული პილოტური კვლევის შედეგების საფუძველზე.

კვლევა ჩატარდა 2009 წლის თებერვალში ევროპის ალკოჰოლისა და სხვა ნარკოტიკების სასკოლო პროექტის (European School Project on Alcohol and Other Drug - ESPAD) სტანდარტული მეთოდოლოგიითა და სტანდარტული კითხვარით. კვლევა ჩატარდა ქ. თბილისის შემთხვევით შერჩეული 20 სკოლის ასევე შემთხვევით შერჩეულ მე-10 კლასში. გამოკვლეულთა საშუალო ასაკი 16.1 წელია. კვლევა მიმდინარეობდა საკლასო ოთახებში მკვლევართა თანდასწრებით. კვლევის მონაცემთა ანონიმურობა და კონფიდენციალობა დაცული იყო.

გამოვლინდა, რომ კანაფი (“პლანი”) ადვილად ხელმისაწვდომია გამოკვლეული კონტინგენტის 22%-სათვის; გენდერული განსხვავება საკმაოდ თვალნათელია (31% ბიჭებისა და 13% გოგონების). ამფეტამინი და ექსტაზი ნაკლებად ხელმისაწვდომია. საშუალოდ, ბიჭების 33% და გოგონების 8%-ს ცხოვრებაში ერთხელ მაინც გაუსინჯავს აკრძალული ნარკოტიკი (გამოკითხულ მოსწავლეთა 20%). უკანასკნელი 1 წლის განმავლობაში კანაფს მოიხმარდა ბიჭების 17% და გოგონების 3% (გამოკითხულთა 10%); უკანასკნელი თვის განმავლობა-

ში - ბიჭების 6.5% და გოგონების 0.8% (გამოკითხულთა 3%). ექსტაზი გაუსინჯავს გამოკითხულთა 7.5%, ხოლო ამფეტამინები - 2%-ს. კრეკის მოხმარება ცხოვრების მანძილზე აღნიშნა რესპოდენტთა 1.1%-მა, ხოლო ჰეროინის - 1%-მა. მხოლოდ ერთეულ შემთხვევაში დაფიქსირდა GHB-ისა (გამაჰიდროქსიბუტირატი) და ანაბოლური სტეროიდების ხმარება, აგრეთვე ნარკოტიკების ინექციური მოხმარება.

აკრძალული ნარკოტიკების მოხმარება თბილისელ მოსწავლეებში ნაკლებად პრობლემური საკითხია, თუმცა საჭიროებს საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის გადაუდებელ ინტერვენციებს.

მოზრდილთა მიერ აკრძალული ნარკოტიკების მოხმარების დონე და ამ პრობლემის მიმართ მათი განწყობა ერთ-ერთი ფაქტორია, რომელიც მოზარდთა მიერ მოხმარებას განაპირობებს. იგივე შეიძლება ითქვას ინფორმაციის მიწოდებისა და პრევენციული ღონისძიებების დაბალი მოცულობის შესახებ. სიგარეტის ხელმისაწვდომობა, არა მხოლოდ ფიზიკურ, არამედ ფინანსურ მიმართებაშიც, კიდევ ერთი ხელშემწყობი ფაქტორია.

ნარკოტიკებთან კავშირში არმყოფი სხვა ფაქტორებიდან უნდა აღინიშნოს პოპულაციის დაბალი სამედიცინო გათვითცნობიერება და მოსახლეობის სოციალურ-ეკონომიური მდგომარეობა.

კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ აუცილებელია ამ პრობლემის შესახებ ინფორმირებულობის გაზრდა და სკოლის სასწავლო პროგრამებში ჯანსაღი ცხოვრების წესის შესახებ საგნის არსებობის უზრუნველყოფა.

## TOLERANCE INDUCED BY NON-OPIOID ANALGESIC MICROINJECTIONS INTO RAT'S PERIAQUEDUCTAL GRAY AND NUCLEUS RAPHE

Tsiklauri<sup>1</sup> N., Nozadze<sup>1</sup> I., Gurtskaia<sup>1</sup> G., Berishvili<sup>2</sup> V., Abzianidze<sup>2</sup> E., Tsagareli<sup>1</sup> M.

<sup>1</sup>*Dept of Neurophysiology, Beritashvili Institute of Physiology, Tbilisi, Georgia;*

<sup>2</sup>*Tbilisi State Medical University, Tbilisi, Georgia*

It has been established that pain modulation system includes the midbrain periaqueductal gray matter (PAG) and rostral ventro-medial medulla (RVM). The RVM involves the midline nucleus raphe magnus (NRM) and adjacent reticular formation. The PAG is part of CNS circuit that controls nociceptive transmission at the level of spinal cord mainly through the RVM. The PAG-RVM system is central substrate for the actions of opioid analgesic drugs. Endogenous opioid peptides are present in neural somata and/or terminal fields in several components of this network. In animals, PAG electrical stimulation inhibits simple noxious-stimulus reflexes, such as the tail-flick (TF) and/or hot plate (HP) paw withdrawal tests. Furthermore, this circuit contributes to opiate analgesia and opioid dependence [1-3,5,13].

Several lines of investigations have shown that in some brain areas, particularly, in PAG and RVM, the microinjection of non-opioid analgesics, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) induces antinociception with some effects of tolerance [7,12,14,15,17]. Particularly, one of studies has shown that microinjections of dipyrrone (metamizol) into the medullary NRM of lightly pentobarbital-anesthetized rats dose-dependently inhibited the nociceptive TF reflex [7]. Moreover, repeated microinjections of dipyrrone and lysine-acetylsalicylate (LASA) into the PAG have produced opioid like tolerance in rats, together with withdrawal syndrome [12,14,17]. Our recent findings also have shown the same effects of tolerance in intraperitoneal (i.p.) injections of analgin (metamizol), ketorolac, and xefocam [18,20,21,24,25]. Taken together these studies support the notion that contribution of the downstream pain-control system to the tolerance effects of above-mentioned NSAIDs involves endogenous opioidergic mechanisms [3,6]. Just recently, we have shown that microinjection of three NSAIDs analgin, ketorolac and xefocam into the central nucleus of amygdala (CeA) produced tolerance to these drugs and cross-tolerance to morphine [19,22,23].

In the present study, we have examined whether together with analgin, microinjection of another type

of NSAIDs clodifen, ketorolac and xefocam into the PAG and NRM leads to the development of tolerance in male rats.

**Material and methods.** The experiments were carried out on male albino rats, 200-250g in body weight, bred at the Beritashvili Institute of Physiology. Guidelines of the International Association for the Study of Pain regarding animal experimentation were followed throughout [28]. Under anesthesia with thiopental (55 mg/kg, i.p. "Kievmed" Ukraine) 12mm-long stainless steel guide cannula (Small Parts, Inc., USA) was stereotaxically implanted into the PAG and NRM by the atlas of Paxinos & Watson [11], and anchored to the cranium by dental cement. The guide cannula was plugged with a stainless steel stylet. Thereafter, the rats were handled every day for 15 min to get familiar with the testing protocol and experimental environment during three days. During this time, the stylet was removed and the injection cannula was inserted into the guide cannula, but no drug was injected. This helped to habituate the rats to the injection procedure and to reduce artifacts arising from mechanical manipulation during the test days. Five days after surgery 10 mm length tubing was attached to a 5 µl Hamilton syringe (Hamilton, Inc., USA) and was then joined to the guide cannula, and the drug was introduced through it while the rat was gently restrained. Analgin 150 µg/1µl, (metamizol sodium, "Sanitas", Ltd, Lithuania), clodifen (diclofenac sodium, 75µg/1µl, "E.I.P.I." Comp., Egypt), ketorolac (ketorolac tromethamine, 90µg/3µl, "Zee Drugs", India), xefocam (lornoxicam, 12 µg/1µl, "Nycomed", GmbH, Austria) or saline (1µl) ("Galich-Pharm" Ltd. Ukraine) were then injected through the microinjection cannula; then the guide cannula was plugged with stainless steel stylet. Twenty minutes post microinjection, i.e. 10- min before the peak of the drugs' effect is normally reached, animals were tested with TF or HP. For the TF test, the distal part of the tail was stimulated with a light beam (IITC #33, IITC Life science, Inc., Woodland Hills, CA, USA) and the latency measured until the tail was reflexively flicked away from the beam. For the HP test, the rat

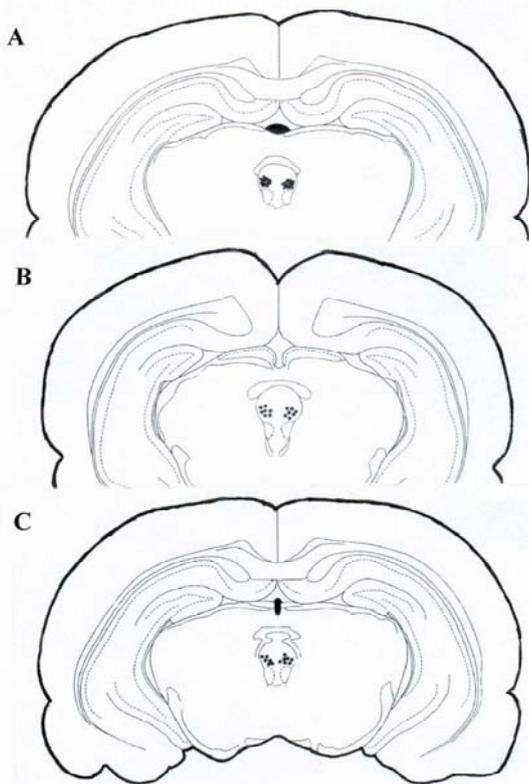
was placed on a 55°C hot plate (IITC #39) and the latency to the first hindpaw licking or jumping was measured. The cut-off time was 20 s for both TF and HP latencies. Each rat was tested with both tail flick (TF) and hot plate (HP) latencies in the same session. A similar procedure was followed for the repeated microinjection of analgin, clodifen, ketorolac, xefocam or saline for five consecutive days.

For the PAG microinjection study, on the last (fifth) day of the experiments, one hour after of NSAIDs testing, all animals received systemic, i.p. injection of naloxone (1 mg/kg, "GalichFarm", Ukraine) and TF and HP latencies were measured 20 min thereafter. At the end of each experiment, after fifth day the microinjection site was marked with, 2  $\mu$ l, of a saturated solution of Pontamine Sky Blue (Sigma Chemical, Co.), and the animal was killed with ester. After fixation by immersion in 10% formalin the brain was

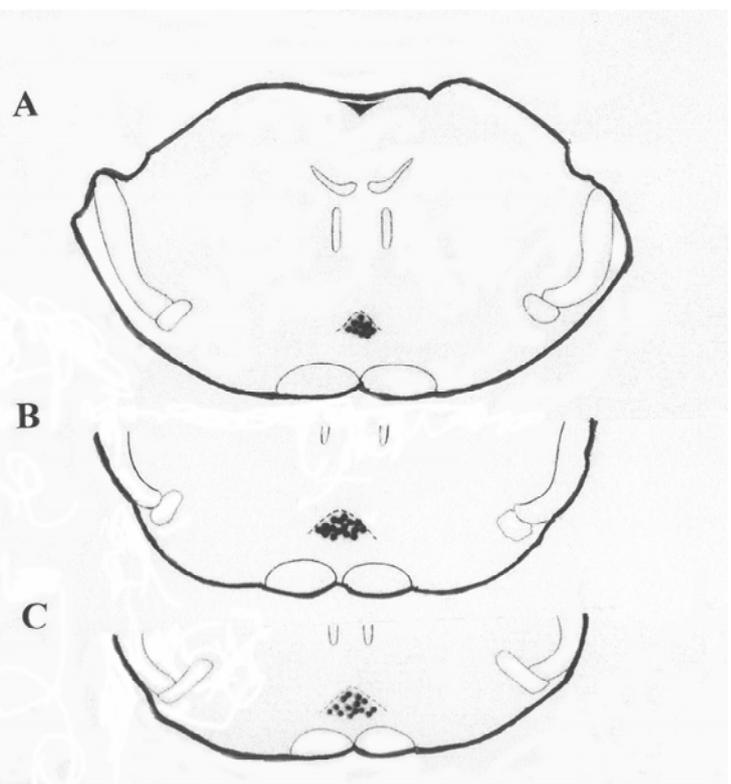
sectioned and the microinjection site was identified with the aid of Paxinos & Watson's stereotaxic atlas coordinates [11].

All data are presented as mean $\pm$ S.E.M. Analysis of variance (ANOVA) with post-hoc Dunnet Multiple Comparison Test were used for statistical evaluations. The Kolmogorov-Smirnov test was applied to verify normality. The statistical software utilized was InStat 3.05 (GraphPad Software, Inc, USA). Statistical significance was acknowledged if  $P < 0.05$ .

**Results and their discussion.** Only rats with microinjections into PAG and NRM were included for data analysis. Histological location of microinjection sites is shown in simplified drawing section from the Paxinos and Watson atlas [11]. All microinjections NSAIDs or saline were histologically located mostly at the ventro-lateral PAG (Fig. 1) and NRM (Fig. 2).



*Fig. 1. Histologically verified microinjection sites for analgin, clodifen, ketorolac, xefocam or saline in the PAG, in transverse sections simplified from Paxinos & Watson's atlas [11]. Rats were microinjected with NSAIDs or saline for 5 days to induce tolerance. The distance from the bregma is -4.8 mm (A), -5.2 (B) and -5.6 (C), respectively*



*Fig. 2. Histologically verified microinjection sites for analgin, clodifen, ketorolac, xefocam or saline in the NRM, in transverse sections simplified from Paxinos & Watson's atlas [11]. Rats were microinjected with NSAIDs or saline for 5 days to induce tolerance. The distance from the bregma is -9.2 mm (A), -9.5 (B) and -5.8 (C), respectively*

Our investigation showed that microinjection of NSAIDs into the PAG produced antinociception as revealed by a latency increase in TF and HP compared to the baseline control with saline microinjected into the same nucleus. In particular, the TF latency significantly increased for analgin [ANOVA:F(6,33)=28.487, (P<0.0001)], in the first and second experimental days (P<0.01) (Fig. 3A). The HP latency also significantly increased for analgin [ANOVA: F(6,33)=31.377, (P<0.0001)], in the first and second experimental days (P<0.01) (Fig. 3B). For other NSAIDs the TF

and HP latencies increased for three days (P<0,01). Statistical data indicate significant changes of the TF latency for clodifen [ANOVA:F(6,33)=27.446, (P<0.0001)], ketorolac [ANOVA:F(6,33)=34.198, (P<0.0001)], and xefocam [ANOVA:F(6,33)=46.26 (P<0.0001)], respectively (Fig. 3A). The HP latencies are changed in the same manner for clodifen [ANOVA: F(6,33)=29.462, (P<0.0001)], ketorolac [ANOVA: F(6,33)=44.71, (P<0.0001)], and xefocam [ANOVA:F(6,33)=60.351, (P<0.0001)], respectively (Fig. 3B).

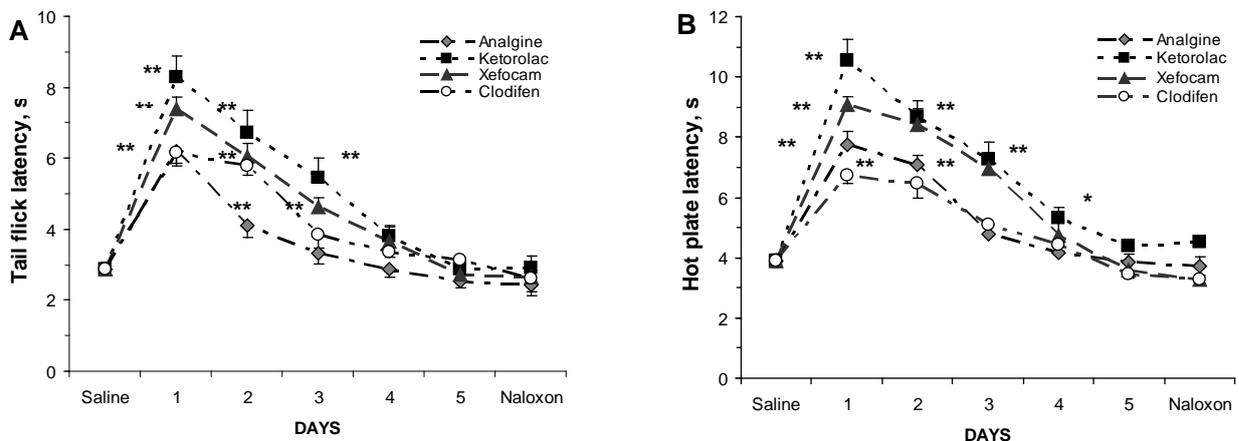


Fig. 3. Microinjections of NSAIDs into the PAG for 5 consecutive days result in progressively decrease in TF (A) and HP (B) latencies as compared to averaged saline baseline. I.p. injections of  $\mu$ -opioid antagonist naloxone do not change the TP and HP latencies in non-opioid tolerant rats as well as in control animals (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, values averaged over post-injection time period compared with baseline, Dunnet's t-test for correlated means)

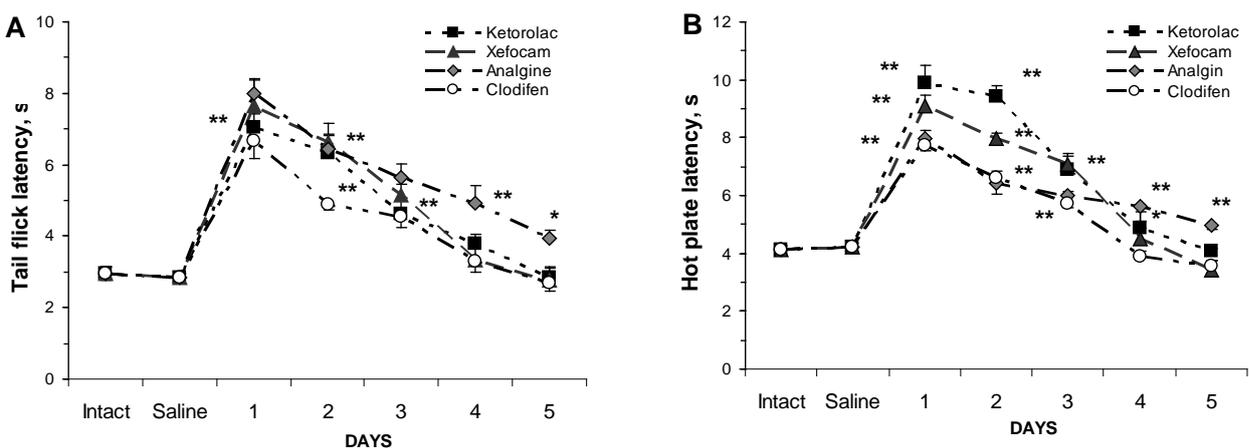


Fig. 4. Microinjections of NSAIDs into the NRM for 5 consecutive days result in progressively decrease in TF (A) and HP (B) latencies as compared to averaged saline baseline (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, values averaged over post-injection time period compared with baseline, Dunnet's t-test for correlated means)

However, when these drugs microinjection subsequent testing also took place in the following days the antinociceptive effects progressively diminished so that on the 4th and especially the 5th experimental days the TF and HP latencies were similar to the averaged control baseline for rats that received repeated (5 days) injections of only saline. This was akin to the development of tolerance to morphine administration to PAG in similar preparations [9,15], and we will therefore refer to it as “non-opioid tolerance”. On the 5th day, one hour after of NSAIDs testing, experimental groups of rats received naloxone ( $\mu$ -opioid antagonist) i.p. injections and were tested again. There were no significant alterations in TP and HP latencies in non-opioid tolerant rats as well as in control animals (Figs. 3A,B).

The second part of this research has shown that microinjection of NSAIDs into the NRM also produced

antinociception as revealed by a latency increase in TF and HP compared to the baseline control of as intact rats so saline microinjected ones into the same nucleus. The TF latency significantly increased for analgin [ANOVA:F(5,44)=53.797, (P<0.0001)], clodifen [ANOVA:F(5,39)=43.233, (P<0.0001)], ketorolac [ANOVA:F(5,44)=39.952, (P<0.0001)], and xefocam [ANOVA:F(5,39)=41.904, (P<0.0001)] (Fig. 4A). We revealed similar significant differences in the HP latencies for analgin [ANOVA:F(5,44)=79.984, (P<0.0001)], clodifen [ANOVA:F(5,39)=33.024, (P<0.0001)], ketorolac [ANOVA:F(5,44)=68.839, (P<0.0001)], and xefocam [ANOVA:F(5,39)=67.945, (P<0.0001)] respectively (Fig. 4B). Subsequent NSAIDs microinjections caused progressively less antinociception, so by day 4 there was no effect, similar to saline microinjections (baseline control) for both the TF (Fig. 4A) and the HP (Fig. 4B) tests, except analgin. The latter did not show complete tolerance even at the 5th experimental day (Figs. 4).

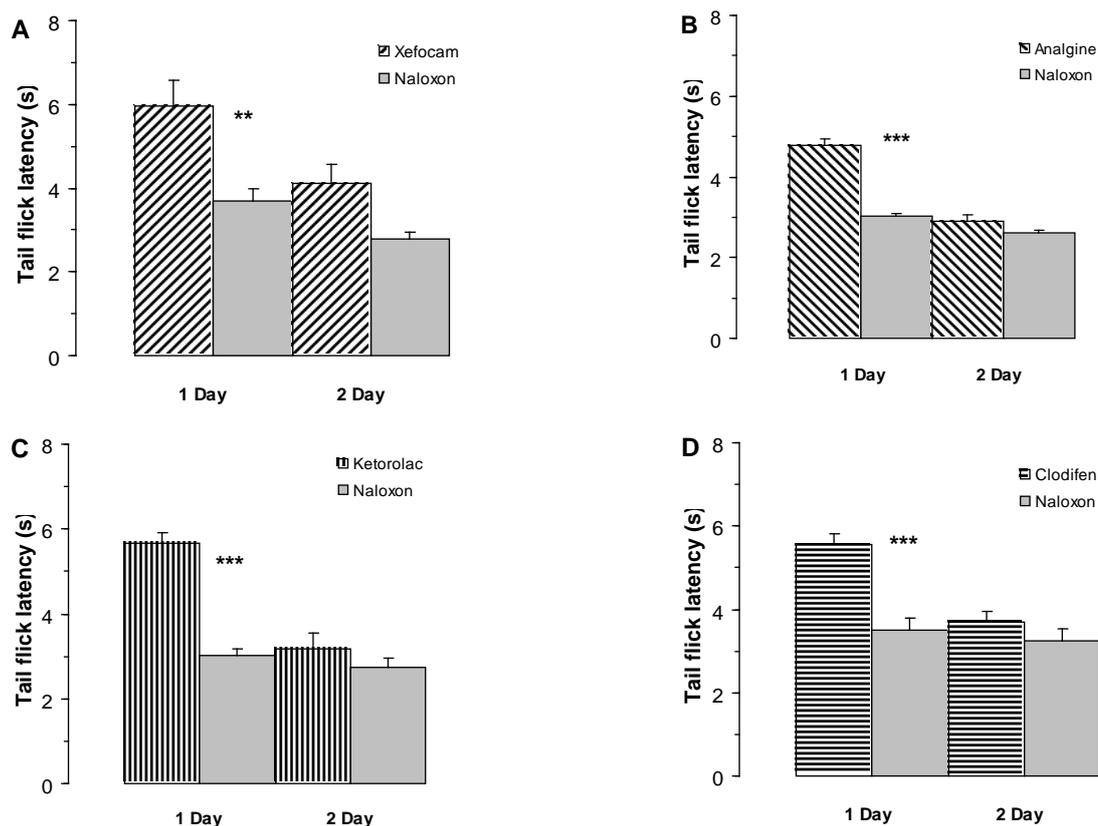


Fig. 5. Post-treatment with naloxone after microinjections of NSAIDs into the RVM results in significantly decrease in the TF latency for the first day. At the second day, naloxone has trend effects for all four non-opioid analgesics

In a separate set of control experiments, we tested on whether post-treatment with  $\mu$ -opioid antagonist

naloxone in RVM diminishes NSAID-induced antinociception on the first and second experimental

days and impedes the development of tolerance to the antinociceptive effect of NSAIDs. One hour after NSAIDs testing, microinjection of naloxone in RVM significantly decreased antinociceptive effects of NSAIDs at the first day in the TF (Fig. 5) and the HP

(Fig. 6) tests. At the second day, naloxone had generally trend effects except xefocam and analgine in the HP tests (Fig. 6A,B). These results strongly confirm suggestion on endogenous opioid involvement in NSAIDs antinociception and tolerance [6,15,25].

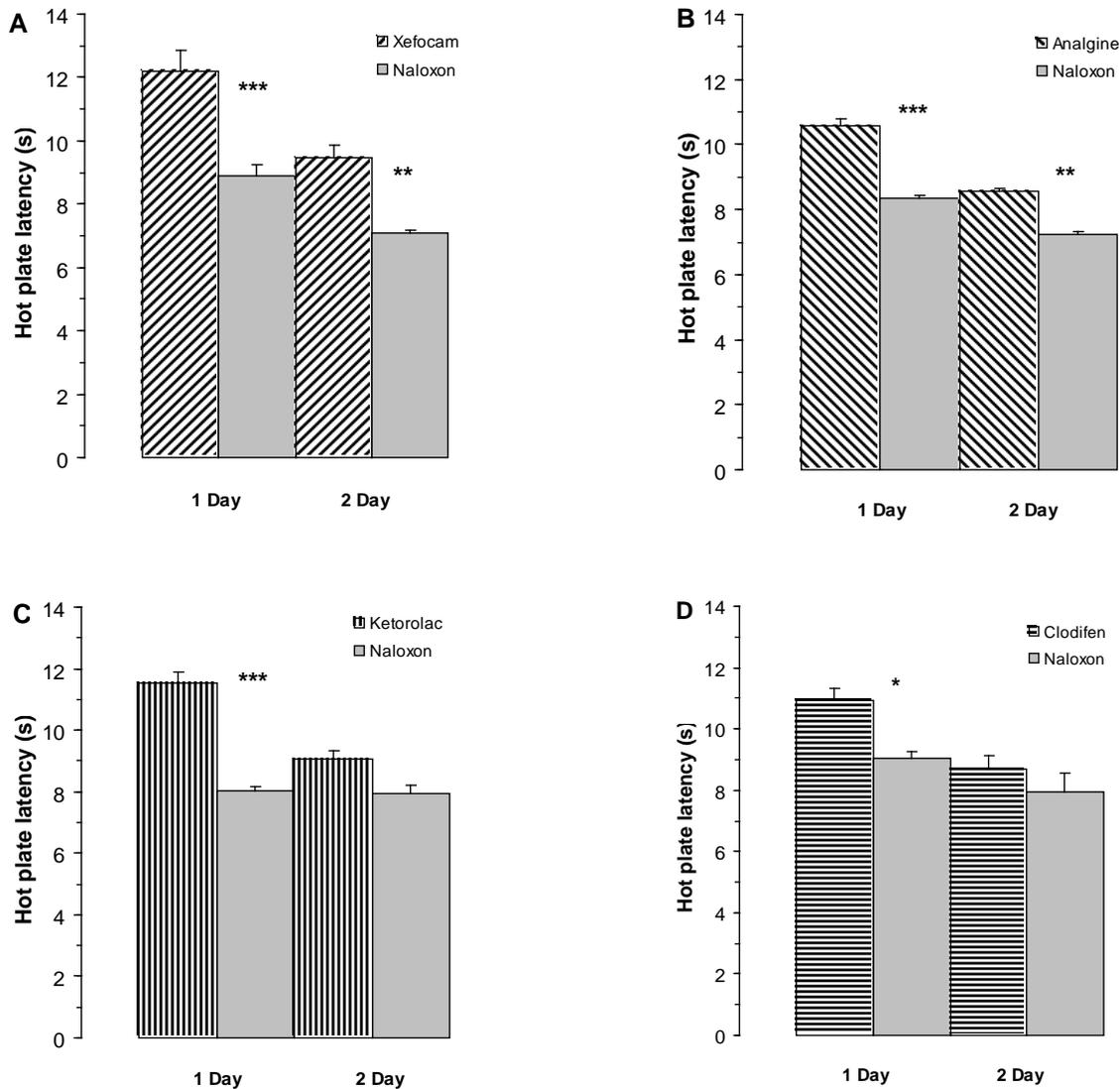


Fig. 6. Post-treatment with naloxone after microinjections of NSAIDs into the RVM results in significant decrease in the HP latency for the first day. At the second day, naloxone decreases the latency for xefocam (A) and analgin (B), and has trend effects for ketorolac (C) and clodifen

The obtained data add evidence to the hypothesis that, like opioids, non-opioid analgesics, particularly NSAIDs analgin, clodifen, ketorolac and xefocam induce tolerance, and also by mechanisms strongly concern to the PAG [14,15,17]. It has been shown that other non-opioid analgesic LASA also induces tolerance after repeated microinjections into the PAG [12,26]. The PAG and its descending projections to the NRM and RVM are principal components of

the descending antinociceptive pain-control system [2,3,5,13]. In naive rats, microinjection of morphine and dipyron into the PAG decrease the activity of pain-facilitating “on-cells” and increase the activity of pain inhibiting “off-cells” thus giving rise to antinociception [1,14].

Although similar effects of antinociception can be produced by direct action of morphine upon the NRM

[7] and RVM [4], tolerance to morphine was not remarkably obtained by repeated microinjection into the RVM [9]. Furthermore, inactivation of the RVM did not prevent the development of tolerance to repeated morphine microinjections into the PAG, and tolerance to systemic morphine did not develop if opioid receptors were blocked in the PAG even if the RVM remained intact [8]. The PAG is thus crucial for tolerance to morphine as well as non-opioid NSAIDs such as metamizol, clodifen, ketorolac, LASA and xefocam [herein, 14,15,26]. On the other hand, however, in this study we revealed for the first time tolerance induction to NSAIDs microinjected into NRM. Moreover, we showed that naloxone microinjections into RVM significantly blocked antinociceptive actions of analgesic, clodifen, ketorolac and xefocam. These findings confirm the results of other investigators that microinjection of dipyron and LASA, and systemically dipyron are abolished by systemically injections and/or microinjections of selective  $\mu$ -opioid antagonists, naloxone and CTOP (D-phe-Cys-Tyr-D-trp-Orn-thr-Pen-thr-NH<sub>2</sub>) [6,12,14]. The latter is a cyclic analog of the neuropeptide somatostatin and is known to block the analgesic effect of morphine [14].

The mechanisms whereby NSAIDs, in general, engage endogenous opioids in the PAG are not completely known.  $\gamma$ -Amino-butyric acid (GABA) contained synapses are one plausible site where NSAIDs could converge with endogenous opioids. The PAG output neurons that drive antinociception via downstream relays, like the NRM and RVM, are tonically inhibited by local GABA-ergic synapses [3]. Endogenous opioids reduce presynaptic release of GABA in the PAG. Actually, activation of  $\mu$ -opioid receptors in the PAG brings about an elevation of the intracellular concentration of arachidonic acid metabolites. One of the pathways leads to the formation of hepoxolins, which increase potassium conductance. This in turn hyperpolarizes the presynaptic GABA-ergic terminals and decreases GABA release [27]. Disinhibition of PAG output neurons would thus increase and drive antinociception in the downstream loop of PAG-RVM-spinal dorsal horn [10,28]. For this pathway to function, however, an activation of  $\mu$ -opioid receptors seems to be necessary, because naloxone or CTOP block the effect of PAG-microinjected metamizol or LASA [12, 14].

**Conclusions.** Taken together the results presented and other author's findings underscore the strong conver-

gence of antinociceptive mechanisms of opioids and non-opioids, particularly NSAIDs in the PAG-RVM downstream circuit in the acute effect of and the development of tolerance to both types of analgesics. On the other hand, our data confirm the results of other authors that NSAIDs are in close relation with endogenous opioids and the tolerance to these non-opioid drugs probably depends on opioid tolerance.

**Acknowledgement.** This research was supported by the grant from Georgian National Science Foundation (GNSF/ST07/6-234).

## REFERENCES

1. Fields H.L. State-dependent opioid control of pain. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2004; 5(7): 565-575.
2. Fields H.L., Basbaum A.I., Heinricher M.M. Central nervous system mechanisms of pain modulation. In: Wall and Mellzack's Textbook of Pain, Eds. McMahon S.B., Koltzenburg M., 5th ed., London: Elsevier; 2006: 125-143.
3. Heinricher M.M., Ingram S.L. The brainstem and nociceptive modulation. In: Science of Pain, Eds. Basbaum A.I., Bushnell M.C. San Diego: Elsevier; 2009: 593-626.
4. Heinricher M.M., Morgan M.M., Fields H.L. Direct and indirect actions of morphine on medullary neurons that modulate nociception. *Neuroscience* 1992; 48(3): 533-543.
5. Heinricher M.M., Travares I., Leith J.L., Lumb B.M. Descending control of nociception: Specificity, recruitment and plasticity. *Brain Res. Rev.* 2009; 60(1): 214-225.
6. Hernández-Delgado, G.P., Cruz, S.L. Endogenous opioids are involved in morphine and dipyron analgesic potentiation in the tail flick test in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2006; 546(1-3): 54-59.
7. Jones S.L. Dipyron into the nucleus raphe magnus inhibits the rat nociceptive tail flick reflex. *Eur. J. Pharmacol.* 1996; 318(1): 37-40.
8. Lane D.A., Patel P.A., Morgan M.M. Evidence for an intrinsic mechanism of antinociceptive tolerance within the ventrolateral periaqueductal gray of rats. *Neuroscience* 2005; 135(1): 227-234.
9. Morgan M.M., Clayton C.C., Boyer-Quick J.S. Differential susceptibility of the PAG and RVM to tolerance to the antinociceptive effect of morphine in the rat. *Pain* 2005; 113(1): 91-98.
10. Morgan M.M., Whittier K.L., Hegarty D.M., Aicher S.A. Periaqueductal gray neurons project to

spinally projecting GABAergic neurons in the rostral ventromedial medulla. *Pain* 2008; 140(2): 376-386.

11. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego: Academic Press; 1997.

12. Pernia-Andrade A.J., Tortorici V., Venegas H. Induction of opioid tolerance by lysine-acetylsalicylate in rats. *Pain* 2004; 111(1/2): 191-200.

13. Ren K., Dubner R. Descending control mechanisms. In: *Science of Pain*, Eds. Basbaum A.I., Bushnell M.C. San Diego: Elsevier; 2009: 723-762.

14. Tortorici V., Aponte Y., Acevedo H., Nogueira L., Vanegas H. Tolerance to non-opioid analgesics in PAG involves unresponsiveness of medullary pain-modulating neurons in male rats. *Eur. J. Neurosci.* 2009; 29(6): 1188-1196.

15. Tortorici V., Nogueira L., Aponte Y., Vanegas H. Involvement of cholecystokinin in the opioid tolerance induced by dipyron (metamizol) microinjections into the periaqueductal gray matter of rats. *Pain* 2004; 112(1/2): 113-120.

16. Tortorici V., Nogueira L., Salas R., Venegas H. Involvement of local cholecystokinin in the tolerance induced by morphine microinjections into the periaqueductal gray of rats. *Pain* 2003; 102(1): 9-16.

17. Tortorici V., Vanegas H. Opioid tolerance induced by metamizol (dipyron) microinjections into the periaqueductal gray of rats. *Eur. J. Neurosci.* 2000; 12(11): 4074-4080.

18. Tsagareli M.G., Tsiklauri N., Lagidze T., Gurtskaia G., Berishvili V., Abzianidze E. Tolerance induction by non-opioid analgesics in rats. *Proc. Georgian Acad. Sci., Biol. Series A* 2005; 31(6): 903-909.

19. Tsagareli M.G., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Nozadze I., Kandelaki R., Abzianidze E. The central nucleus of amygdala is involved in tolerance to the antinociceptive effect of NSAIDs. *Health* 2010; 2(1): 64-68.

20. Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. Is endogenous opioid system involved in non-opioid analgesics tolerance? *Georgian Med. News* 2006; 8(137): 121-125.

21. Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. Study of non-opioid analgesics tolerance in young and adult rats. *Georgian Med News* 2008; 5(158): 40-44.

22. Tsiklauri N., Nozadze I., Gurtskaia G., Abzianidze E., Tsagareli M.G. Tolerance induced by non-opioid analgesic microinjections into the central nucleus of amygdala of rats. *Bull. Georgian National Acad. Sci., New Series*, 2008; 2(3): 129-133.

23. Tsiklauri N., Nozadze I., Gurtskaia G., Kandelaki R., Abzianidze E., Tsagareli M.G. Evidence for tolerance effects induced by non-opioid analgesics micro-

injected into the central nucleus of amygdala in the rat hot plate test. *Bull. Georgian National Acad. Sci., New Series*, 2009; 3(2): 141-146.

24. Tsiklauri N., Tsagareli M.G. Non-opioid-induced tolerance in rats. *Neurophysiol.* 2006; 38(4): 370-373.

25. Tsiklauri N., Viatchenko-Karpinski V., Voitenko N., Tsagareli M.G. Non-opioid tolerance in juvenile and adult rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2010; 629(1-3): 68-72.

26. Vanegas H., Tortorici V. Opioidergic effects of non-opioid analgesics on the central nervous system. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2002; 22(5-6): 655-661.

27. Vaughan C.W. Enhancement of opioid inhibition of GABAergic synaptic transmission by cyclo-oxygenase inhibitors in rat periaqueductal gray neurons. *Br. J. Pharmacol.* 1998; 123(8): 1479-1481.

28. Wessendorf M.W., Vaughan, C.W., Vanegas H. Rethinking the PAG and RVM: supraspinal modulation of nociception by opioids and non-opioids. In: *Proc. 11th World Congress Pain*, IASP Press. Seattle: 2006; 311-320.

29. Zimmermann, M., Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983; 16(2): 109-110.

## SUMMARY

### **TOLERANCE INDUCED BY NON-OPIOID ANALGESIC MICROINJECTIONS INTO RAT'S PERIAQUEDUCTAL GRAY AND NUCLEUS RAPHE**

**Tsiklauri<sup>1</sup> N., Nozadze<sup>1</sup> I., Gurtskaia<sup>1</sup> G., Berishvili<sup>2</sup> V., Abzianidze<sup>2</sup> E., Tsagareli<sup>1</sup> M.**

*<sup>1</sup>Department of Neurophysiology, Beritashvili Institute of Physiology, Tbilisi, Georgia; <sup>2</sup>Tbilisi State Medical University, Tbilisi, Georgia*

Several lines of investigations have shown that the microinjection of non-opioid analgesics, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in the midbrain periaqueductal gray matter (PAG) induces antinociception with some effects of tolerance. Our recent findings also have shown the same effects of tolerance in intraperitoneal (i.p.) injections of analgin (metamizol), ketorolac, and xefocam. Moreover, just recently, we have shown that microinjection of three NSAIDs analgin, ketorolac and xefocam into the central nucleus of amygdala produces tolerance to these drugs and cross-tolerance to morphine. The present study was designed to examine whether together with analgin,

microinjection of another type of NSAIDs clodifen, ketorolac and xefocam into the PAG and the nucleus raphe magnus (NRM) leads to the development of tolerance in male rats.

The experiments were carried out on experimental and control (with saline) white male rats by the models of tail-flick (TF, to the stimulation of focusing light beam) and hot plate (HP, paw withdrawal) tests. For microinjections of NSAIDs stainless steel guide cannula was implanted into the PAG and NRM by the stereotaxic atlas. Latency increase of these reflexes indicated the degree of antinociception. Analysis of variance with post-hoc Dunnet Multiple Comparison Test were used for statistical evaluations.

Our study showed that microinjection of NSAIDs into the PAG produced antinociception as revealed by a latency increase in TF and HP compared to the baseline control with saline microinjected into the same nucleus. However, when these drugs microinjection subsequent testing also took place in the following days the antinociceptive effects progressively diminished so that on the 4th and especially the 5th experimental days the TF and HP latencies were similar to the averaged control baseline for rats that received repeated (5 days) injections of only saline. On the 5th day, one hour after of NSAIDs testing, experimental groups of rats received i.p. injections of  $\mu$ -opioid antagonist naloxone and we did not reveal significant alterations in TP and HP latencies in non-opioid tolerant rats as well as in control animals.

Microinjections of NSAIDs into the NRM also produced antinociception as revealed by a latency increase in TF and HP compared to the baseline control of as in intact rats so with saline microinjected ones into the same nucleus. Subsequent NSAIDs microinjections caused progressively less antinociception, so by day 4 there was no effect, similar to saline microinjections (baseline control) for both the TF and the HP tests, except analgin. The later did not show complete tolerance even on the 5th experimental day. Special control experiments showed that post-treatment with naloxone in RVM diminished NSAID-induced antinociception on the first and second experimental days and impeded the development of tolerance to the antinociceptive effect of NSAIDs.

Obtained results underscore the strong convergence of antinociceptive mechanisms of opioids and non-

opioids, particularly NSAIDs in the PAG-RVM downstream circuit in the acute effect of and the development of tolerance to both types of analgesics. On the other hand, our data confirm the results of other authors that NSAIDs are in close relation with endogenous opioids and the tolerance to these non-opioid drugs probably depends on opioid tolerance.

**Key words:** antinociception, hot plate test, non-opioid tolerance, non-steroidal anti-inflammatory drugs, tail-flick reflex.

## РЕЗЮМЕ

### ТОЛЕРАНТНОСТЬ, ИНДУЦИРОВАННАЯ НЕОПИОИДНЫМИ АНАЛГЕТИКАМИ, МИКРОИНЪЕКЦИРУЕМЫМИ В ОКОЛОВОДОПРОВОДНОЕ СЕРОЕ ВЕЩЕСТВО И ЯДРО ШВА У КРЫС

Циклаური<sup>1</sup> Н.Д., Нозадзе<sup>1</sup> И.К., Гурцкая<sup>1</sup> Г.П., Бершвили<sup>2</sup> В.Г., Абзианидзе<sup>2</sup> Е.В., Цагарели<sup>1</sup> М.Г.

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.С. Бериташвили, отдел нейрофизиологии; <sup>2</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, Тбилиси, Грузия

Наши предыдущие исследования выявили эффект толерантности при интра-перитонеальной (и.п.) инъекции нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), анальгина (метамизола), кеторолака и ксефокама. Кроме того, нами установлено, что микроинъекции трех НПВП-ов – анальгина, кеторолака и ксефокама в центральное ядро миндалины приводит к устойчивой толерантности к этим препаратам и кросс-толерантности к морфину.

Целью настоящего исследования явилось определение влияния микроинъекций НПВП-ов анальгина, клодифена, кеторолака и ксефокама в околоводопроводное серое вещество (ОВС) и большое ядро шва (БЯШ) на развитие толерантности у крыс. Опыты проводились на экспериментальных и контрольных белых крысах-самцах с помощью моделей поднятия хвоста (ПХ) на стимуляцию фокусированного светового луча и горячей пластины (ГП, поднятие лапы). Для микроинъекции НПВП канюли из нержавеющей стали были имплантированы в ОВС и БЯШ по координантам стереотаксического атласа.

Было установлено, что микроинъекции НПВП в ОВС и БЯШ приводят к антиноцицепции вследствие увеличения латентности ПХ и ГП по сравнению с контрольным уровнем физраствора, инъецированного в то же самое ядро. Однако, при продолжении микроинъекций препаратов в последующие дни, наблюдался антиноцицептивный эффект постепенного уменьшения (на 4-й, и особенно на 5-й экспериментальный день, скрытые периоды ПХ и ГП были сходны с усредненными контрольными значениями для крыс, которые получали в течение 5 дней только инъекции физраствора). Микроинъекции НПВП в БЯШ также вызывали антиноцицепцию по показателям увеличения скрытого периода ПХ и ГП, по сравнению с усредненными контрольными значениями.

Последующие микроинъекции НПВП вызывали постепенное уменьшение антиноцицепции таким образом, что на 4-й день не было эффекта для обоих ПХ и ГП тестов, кроме анальгина.

Полученные результаты строго подчеркивают, что механизмы опиоидной и неопиоидной, в частности, НПВП антиноцицепции сходны, по эффектам действия по нисходящей цепи ОВС-РВМ, и развитию толерантности к обоим видам анальгетиков. С другой стороны, наши данные подтверждают результаты других авторов, что НПВП находятся в тесной связи с эндогенными опиоидами и толерантность к этим неопиоидным препаратам, вероятно, зависит от опиоидной толерантности.

### რეზიუმე

ვირთავების წყალსაცავის მიმდებარე რუს ნივთიერებასა და ნაკერის ბირთვში არაოპიოიდური ანალგეტიკების მიკროინექციებით გამოწვეული ტოლერანტობა

ნ. წიკლაური<sup>1</sup>, ი. ნოზაძე<sup>1</sup>, გ. ღურწყაია<sup>1</sup>, ვ. ბერიშვილი<sup>2</sup>, ე. აბზიანიძე<sup>2</sup>, მ. ცაგარელი<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ივ. ბერიტაშვილის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი;  
<sup>2</sup>თბილისის სახ. სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი

წარმოდგენილი შრომის მიზანია გარკვევა საკითხისა, ვირთავების თავის ტვინის წყალსაცავის მიმდებარე რუს ნივთიერებასა (წრნ) და ნაკერის დიდ ბირთვში (ნდბ) არაოპიოიდური, არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო წამლების (ასასწ) მიკროინექციები იწვევენ თუ არა მათ მიმართ ტოლერანტობას და რამდენად არის ეს ეფექტები დაკავშირებული ტკივილის დადმაველ მოდულატორულ სისტემასთან.

ცდები ტარდებოდა 200-250 გრ. წონის მქონე თეთრ ვირთავებზე, რომელთაც სტერეოტაქსულად ჩაენერგებოდათ 12 მმ სიგრძის კანულები. ვსაზღვრავდით კუდის მოქნევისა და თათის მოცილების რეფლექსების ფარულ პერიოდებს.

მიღებულმა შედეგებმა გამოავლინეს, რომ როგორც წრნ-ში, ისე ნდბ-ში ასასწ-ის (ანალგინი, კეტოროლაკი, კლოდიფენი და ქსეფოკამი)

მიკროინექცია იწვევს მკვეთრად გამოხატულ ანტინოციცეფციას, საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით. ამასთან, შემდგომი ოთხი დღის განმავლობაში აღნიშნული წამლების განმეორებითი მიკროინექციებისას აღინიშნება მათი მოქმედების სარწმუნო დაქვეითება, ანუ ტოლერანტობა.

მიღებულმა შედეგებმა დაადასტურეს, რომ ასასწ-ები ანალგეზიურ მოქმედებას ახორციელებენ ტკივილის საწინააღმდეგო დადმაველი სისტემის (შუა ტვინის რუსი ნივთიერება-მოგრძო ტვინის როსტრალური ვენტრო-მედიალური უბანი) საშუალებით. საფიქრებელია, რომ ასასწ-ით გამოწვეული ტოლერანტობა მიუთითებს გარკვეულ კავშირზე არაოპიოიდურ და ოპიოიდურ წამლებს შორის. კერძოდ, ასასწ თავის მოქმედებას უნდა ახორციელებდნენ ენდოგენური ოპიატების შუამავლობით.

## КОРРЕКЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСРЕДСТВОМ ВИТАМИНОВ Е И С

Давиташвили Д.Т., Мусеридзе Д.П., Сванидзе И.К., Павлиашвили Н.С., Саникидзе Т.В.

*Тбилисский государственный медицинский университет,  
Институт физиологии им. И.С. Бериташвили*

Исследования последних лет [5,7,14,16] показали, что причиной развития различных нейродегенеративных заболеваний, наряду с другими факторами, является окислительный стресс. Высокое содержание жирных кислот в мембранах нервных клеток определяет уязвимость структур центральной нервной системы (ЦНС) свободными радикалами кислорода. Продукция токсичных соединений кислорода приводит к физиологической дисфункции и гибели клеток, способствуя в дальнейшем развитию нейродегенеративных изменений, в том числе болезни Альцгеймера, Паркинсона, амиотрофического склероза и др. [3,6,13,14,18]. Культивирование клеток коры головного мозга способствует снижению их жизнеспособности, увеличивает интенсивность апоптоза [7,12,16].

Исходя из вышесказанного, особое значение приобретает изучение ряда факторов, предотвращающих повреждающее воздействие свободных радикалов на клетку. Имеются данные, подтверждающие эффективность антиоксидантной терапии ряда неврологических заболеваний [7,9,14,16], в том числе и витаминов Е и С. Обнаружено, что витамин Е снижает степень повреждения ДНК, *in vitro* защищает нейроны от окислительного стресса, вызванного А-beta 2-протеином [9,14]. Обработка витамином С трансплантатов нервной ткани предотвращает гибель дофаминовых нейронов, ингибируя генерацию реактивных форм кислорода и, следовательно, формирование окислительного стресса [4].

Особый интерес представляют данные о влиянии ряда растительных и синтетических антиоксидантных препаратов, предотвращающих окислительное повреждение нервных и глиальных клеток [5,6,17,20,21]. При использовании каталпола с целью предотвращения повреждения астроцитов после воздействия  $H_2O_2$  наблюдалось значительное увеличение числа жизнеспособных клеток. Снижение интенсивности формирования реактивных оксигенов каталполом осуществлялось благодаря превенции снижения активности

эндогенных антиоксидантных ферментов, таких как глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза, выражающееся в сохранении баланса метаболизма глутатиона [7]. Следует отметить также полученные нами ранее данные, касающиеся коррекции вызванных этанолом нарушений роста аксонов и миграции глиальных клеток под воздействием антиоксиданта долифина и плаферона ЛБ *in vitro* [1,2].

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования явилось изучение возможности коррекции оксидативного стресса в культуре клеток коры головного мозга крыс посредством антиоксидантов - витаминов Е и С.

**Материал и методы.** Объектом исследования служили эксплантаты коры головного мозга 32-х новорожденных белых крыс Vistar на ранних этапах культивирования (48 часов, 3 и 5 суток). Эксплантаты культивировали в камерах Максимова, методом висячей капли при 37°C на коллагеновом субстрате. Были исследованы 4 серии культур по 100-120 эксплантатов в каждой серии: 1. Контрольная серия - питательная среда, содержащая 80% DME F-12 HAM (Sigma) и 20% бычьей сыворотки (Fetal Bovine Serum – F 1051). 2. В питательную среду, с целью моделирования оксидативного воздействия, добавляли 3%  $H_2O_2$  (100µM). 3. С целью превенции оксидативного воздействия в питательную среду, одновременно с  $H_2O_2$ , вводили витамин Е (50 µM). 4. В питательную среду, с той же целью одновременно с  $H_2O_2$ , добавляли витамин С (50 µM).

Об интенсивности окислительного стресса в эксплантатах коры головного мозга крыс судили по интенсивности сигналов электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) спинмеченных супероксид-, липопероксирадикалов и свободного оксида азота (NO) методом ЭПР.

Регистрация спектров ЭПР в эксплантатах коры

головного мозга крыс производилась на радиоспектрометре РЭ-1307 (СВЧ 9,77 GHz, частота модуляции 50 kHz). С целью регистрации ЭПР сигналов свободного оксида азота использовали спин-метку DETC (Sigma) (в дозе 10 мг в 0,5 мл эксплантатов в инкубационной среде) и Fe<sup>2+</sup>-цитрат (0,5 мг FeSO<sub>4</sub> + 6H<sub>2</sub>O + 2,5 мг цитрат натрия в 0,5 мл эксплантатов в инкубационной среде) [8]. ЭПР спектры комплексов NO-Fe<sup>2+</sup>-(DTC)<sub>2</sub> регистрировались в условиях микроволновой мощности 20 mVt при температуре жидкого азота (-196°C) [11,15].

Для определения содержания пероксидрадикалов (LOO·) использовали спин-ловушку PBN (Sigma), в дозе 50 mM в 0,5 мл эксплантатов в инкубационной среде [19]. ЭПР спектры регистрировались при комнатной температуре в условиях микроволновой мощности 20 mVt.

Для определения содержания супероксидрадикалов использовали спин-ловушку DMPO (Sigma) в дозе 50 mM в 0,5 мл эксплантатов в инкубационной среде [18]. ЭПР спектры регистрировали при комнатной температуре в усло-

виях микроволновой мощности 20 mVt.

Статистическая обработка данных исследования производилась посредством программного пакета SPSS v10.0. Статистическая достоверность изменения параметров оценивалась с применением t-критерия Стьюдента

**Результаты и их обсуждение.** В таблице представлены данные об изменении содержания свободнорадикальных соединений азота и кислорода в культуре эксплантатов коры головного мозга 32-х новорожденных крыс. В спектре ЭПР интактных нейронов регистрируется сигнал спинмеченного оксида азота (NO). В спектре ЭПР нейронов, инкубируемых в условиях окислительного стресса, интенсивность сигнала спин-меченного оксида азота (NO) уменьшается; в спектре ЭПР эксплантатов регистрируется сигнал спинмеченных супероксидрадикалов (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) и липопероксидрадикалов (LOO·). Эти данные свидетельствуют об интенсификации окислительного стресса в культуре нейронов и пероксидационном повреждении фосфолипидов клеточных мембран.

*Таблица. Показатели содержания реактивных свободных радикалов кислорода, азота и липидов в эксплантатах коры головного мозга новорожденных белых крыс, культивируемых в условиях окислительного стресса в присутствии витаминов С и Е и без них*

	NO	LOO	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
интактные	3,0±0,4	-	-
Окислительный стресс	0,9±0,2*	3,0±0,5	2,1±0,2
Окислительный стресс + витамин С	2,2±0,6**	2,0±0,4**	1,6±0,3**
Окислительный стресс + витамин Е	1,9±0,3**	2,1±0,4**	1,8±0,6**

*примечание: \* - обозначены статистически достоверные изменения параметров по сравнению с контрольными значениями (p<0,01); \*\* - обозначены статистически достоверные изменения параметров под действием препаратов (p<0,01)*

Как известно, супероксидрадикалы образуются вследствие нормального метаболизма клеток (в основном в митохондриях). Поддержание стабильности их физиологических концентраций обеспечивается посредством антиоксидантной системы организма, в частности различных изоформ фермента супероксиддисмутазы (СОД). В условиях окислительного стресса эндогенная антиоксидантная система клетки неспособна обеспечить нейтрализацию избыточного количества реактивных соединений кислорода. В силу своей высокой реакционной способности супер-

оксидрадикалы взаимодействуют с различными биомолекулами (в том числе с NO), способствуя изменению их физиологической активности, влияя на метаболизм целостной клетки.

Данные литературы [8,12] свидетельствуют о значительном увеличении токсичности супероксидрадикалов в присутствии оксида азота. Эти два радикала, взаимодействуя, образуют цитотоксический пероксинитрит (ONOO·), что проявляется в снижении свободного NO в клетках и уменьшении интенсивности сигнала ЭПР, его спин-меченного

комплекса ONOO<sup>-</sup>, способствует дальнейшей деградации клеточных структур.

Снижение содержания свободного NO в нейронах сопровождается снижением его физиологической активности. В то же время, данные литературы [8] свидетельствуют об участии NO-мессенджерной системы в патогенезе различных неврологических заболеваний и токсичности пероксинитрита в нейронах.

Оксид азота (NO) – значимый физиологический медиатор клеток. В нормальных условиях NO участвует в функционировании ЦНС, осуществлении межнейронной связи, установлении межнейронных синаптических контактов, регуляции метаболизма нервных клеток. Посредством цГМФ NO способен влиять на проводимость ионных каналов (не через плазмалеммальные рецепторы, подобно обычным нейромедиаторам, а изнутри, со стороны цитоплазмы) и, таким образом, изменять электрогенез нейронов. Предполагается, что синтезируемый астроцитами NO участвует в модуляции функций нейронов [12].

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлено уменьшение интенсивности сигнала свободного NO и увеличение интенсивности ЭПР сигналов спинмеченных супероксид- ( $O_2^{\cdot-}$ ) и LOO<sup>-</sup> в эксплантатах коры головного мозга новорожденных крыс, культивируемых в условиях окислительного стресса, что может оказывать значительное влияние на функционирование нейронов.

В том случае, когда с целью превенции индуцированного  $H_2O_2$  окислительного стресса, в питательную среду одновременно с  $H_2O_2$ , вводили витамин E и C, наблюдалось уменьшение интенсивности ЭПР сигналов спинмеченных супероксид- $O_2^{\cdot-}$  и LOO<sup>-</sup>, в то время как интенсивность ЭПР сигналов спин-меченного NO увеличивалась по сравнению с контрольными значениями, составляя 73% - в случае витамина C и 63% - в случае витамина E.

Таким образом, можно предположить, что витамины E и C, в силу своих антиоксидантных свойств, способствуют снижению интенсивности окислительного стресса в эксплантатах коры головного мозга новорожденных крыс, что, в свою очередь, предупреждает окислительную деградацию NO в пероксинитрит, способствуя сохранению физио-

логических концентраций оксида азота в клетках и восстановлению его биологической активности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мусеридзе Д.П. Влияние этанола на рост и дифференцировку мотонейронов спинного мозга и возможность коррекции этого влияния в условиях *in vitro*. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2005; 139 (5): 597.
2. Мусеридзе Д.П., Сванидзе И.К., Бахуташвили В.И. Изучение влияния этанола на рост аксонов *in vitro* и коррекция этого влияния плафероном ЛБ. Изв. АН Грузии, серия биол. А; 2004; 30: 4.
3. Aksenova MV, Aksenov MY, Mactutus ChF, Booze RM. Cell culture models of oxidative stress and injury in the central nervous system. *Current Neurovascular Research*. 2005; 2: 73-89.
4. Bagga V, Dunnett SB, Fricker-Gates RA. Ascorbic acid increases the number of dopamine neurons *in vitro* and in transplants to the 6-OHDA-lesioned rat brain. *Cell Transplant*. 2008; 17(7): 763-73.
5. Baydas G, Ozre M, Yasar A, Koz ST, Tuzcu M. Melatonin prevents oxidative stress and inhibits reactive gliosis induced by hyperhomocysteinemia in rats. *Biochemistry* 2006; 71 (1): 91-95.
6. Beltrán B, Orsi A, Clementi E, Moncada S. Oxidative stress and S-nitrosylation of proteins in cells. *Br J Pharmacol*. 2000; 129(5): 953-60.
7. Bi J, Jiang B, Liu JH, Lei C, Zhang XL, An LJ. Protective effects of catalpol against  $H_2O_2$ -induced oxidative stress in astrocytes primary cultures. *Neurosci Lett*. 2008; 442(3): 224-7.
8. Brennan ML, Wu W, Fu X, Shen Z, Song W, Frost H, Vadseth C, Narine L, Lenkiewicz E, Borchers MT, Lysis AJ, Lee JJ, Lee NA, Abu-Soud HM, Ischiropoulos H, Hazen SL. A tale of two controversies: defining both the role of peroxidases in nitrotyrosine formation *in vivo* using eosinophil peroxidase and myeloperoxidase-deficient mice, and the nature of peroxidase-generated reactive nitrogen species. *J Biol Chem*. 2002; 277(20):17415-27.
9. Flanary BE, Streit WJ. Alpha-tocopherol (vitamin E) induces rapid, nonsustained proliferation in cultured rat microglia. *Glia* 2006; 53(6): 669-74.
10. Hu ZX, Geng JM, Liang DM, Zhou YP, Luo M. Protection of hepatocyte growth factor against hydrogen peroxide-induced mitochondria-mediated apoptosis in rat cortical neurons. *Sheng Li Xue Bao*. 2009; 61(3):247-254.

11. Galagan ME, Kiladze SV, Vanin AF Dinitrosyl iron complexes reacts with diethyldithiocarbamate in the blood of anesthetized rats: specific physicochemical and physiological characteristics of the products. *Biofizika* 1997; 42(3):687-93.
12. Iwase K, Miyataka K, Shimizu A, Nagasaki A, Gotoh T, Mori M, Takiguchi M. Induction of endothelial nitric-oxide synthase in rat brain astrocytes by systemic lipopolysaccharide treatment. *J Biol Chem*. 2000; 275(16):11929-33.
13. Kaminsky YG, Kosenko EA. Effects of amyloid-beta peptides on hydrogen peroxide-metabolizing enzymes in rat brain in vivo. *Free Radic. Res.* 2008; 42(6):564-73.
14. Kontush K, Schekatolina S. Vitamin E in neurodegenerative disorders: Alzheimer's disease. *Ann N.Y.Acad Sci.* 2004; 1031:249-62.
15. Meng F, Lowell CA. Lipopolysaccharide (LPS)-induced macrophage activation and signal transduction in the absence of Src-family kinases Hck, Fgr, and Lyn. *J Exp Med.* 1997; 185(9):1661-70.
16. Nguyen TT, Cho SO, Ban JV, Kim JY, Ju HS, Koh SB, Song KS, Seong YH. Neuroprotective effect of *Sanguisorbae radix* against oxidative stress-induced brain damage: in vitro and in vivo. *Biol. Pharm. Bull.* 2008; 31(11):2028-35.
17. Scapagnini G., Butterfield DA, Colombrita C, Sultana R, Pascale A, Calabrese V. Ethyl ferulate, a lipophilic polyphenol, induces HO-1 and protects rat neurons against oxidative stress. *Antioxid. Redox Signal* 2004; 6: 811-18.
18. Sweet MJ, Hume DA. Bacterial lipopolysaccharide confers resistance to G418, doxorubicin, and taxol in the murine macrophage cell line, RAW264. *J Leukoc Biol.* 1996; 59(2): 280-6.
19. Tabatabaie T, Kotake Y, Wallis G, Jacob JM, Floyd RA. Spin trapping agent phenyl N-tert-butyl-nitron protects against the onset of drug-induced insulin-dependent diabetes mellitus. *FEBS Lett.* 1997; 407(2):148-52.
20. Wei T, Sun H, Zhao X, Hou J, Hou A, Zhao Q, Xin W. Scavenging of reactive oxygen species and prevention of oxidative neuronal cell damage by a novel gallotannin pistachia A. *Life Sci* 2002; 7:1889-99.
21. Zandi PP, Anthony JC, Khachaturian AS, Stone SV, Gustafson D, Tschanz JT, Norton MC, Welsh-Bohmer KA, Breitner JC, Cache County Study Group. Reduced risk of Alzheimer disease in users of antioxidant vitamin supplements: the Cache County Study. *Arch. Neurol.* 2004; 61(1): 82-8.

## SUMMARY

### CORRECTION OF OXIDATIVE STRESS IN THE RAT BRAIN CORTICAL CELLULAR CULTURE WITH VITAMINES E AND C

**Davitashvili D., Museridze D., Svanidze I., Pavliashvili N., Sanikidze T.**

*Tbilisi State Medical University; I. Beritashvili Institute of Physiology, Tbilisi, Georgia*

The oxidative stress-induced alteration in concentration of oxygen, lipid and nitrogen free radicals in cultured brain cortex of the newborn albino rats and its correction with vitamins E and C was investigated. Modeling the oxidative stress was achieved with addition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> into the nutrient medium. In order to prevent an oxidative stress-induced cytotoxic effect, concomitantly with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, vitamins E and C were added into the nutrient medium. Oxygen, lipid and nitrogen free radicals were registered by method Electron Paramagnetic Resonance (EPR) and spin-traps.

The data, obtained in our study revealed decreasing of intensity of NO content and increasing of spin trapped superoxid- (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) and lipoperoxid-radicals (LOO) in explants of brain cortex of the newborn albino rats cultured in oxidative stress conditions. These changes were attenuated following action of vitamins E and C (decreasing of intensity of EPR signals of O<sub>2</sub><sup>-</sup> and LOO, increasing of free NO content).

**Key words:** oxidative stress, vitamin E, vitamin C, brain cortex, rats.

## РЕЗЮМЕ

### КОРРЕКЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПОСРЕДСТВОМ ВИТАМИНОВ Е И С

**Давиташвили Д.Т., Мусеридзе Д.П., Сванидзе И.К., Павлиашвили Н.С., Саникидзе Т.В.**

*Тбилисский государственный медицинский университет, Институт физиологии им. И.С. Бериташвили*

Исследовали содержание реактивных свободных радикалов кислорода, азота и липидов в эксплан-

татах коры головного мозга новорожденных белых крыс Vistar на ранних этапах культивирования в условиях окислительного стресса и возможность регуляции их содержания посредством витаминов E и C в условиях *in vitro*. Моделирование окислительного стресса осуществлялось добавлением в питательную среду  $H_2O_2$ . С целью превенции цитотоксического эффекта, вызванного окислительным стрессом, в питательную среду добавляли витамины E и C одновременно с  $H_2O_2$ . Содержание реактивных свободных радикалов кислорода, азота и липидов определяли с помощью метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и соответствующих спин-ловушек. Полученные нами данные выявили уменьшение интенсивности сигнала свободного NO и увеличение интенсивности ЭПР сигналов спинмеченных супероксид ( $O_2^-$ ) и липопероксидрадикалов (LOO $\cdot$ ) в эксплантатах коры головного мозга новорожденных

белых крыс Vistar, культивируемых в условиях окислительного стресса.

Воздействие витаминов E и C способствовало уменьшению интенсивности ЭПР сигналов спинмеченных супероксид ( $O_2^-$ ) и липопероксидрадикалов (LOO $\cdot$ ), увеличению интенсивности ЭПР сигнала спинмеченного NO.

Таким образом, следует заключить, что витамины E и C, в силу своей антиоксидантной активности, способствуют снижению интенсивности окислительного стресса в эксплантатах коры головного мозга новорожденных крыс, что, в свою очередь, предупреждает окислительную деградацию NO в пероксинитрит, способствует сохранению содержания физиологических концентраций оксида азота в клетках и восстановлению его биологической активности.

### რეზიუმე

ოქსიდაციური სტრესის კორექცია ვირთაგვას თავის ტვინის ქერქის კულტურაში E და C ვიტამინების მეშვეობით

დ. დავითაშვილი, დ. მუსერიძე, ი. სვანიძე, ნ. პავლიაშვილი, თ. სანიკიძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი;  
ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი

შესწავლილია ჟანგბადის, ლიპიდებისა და აზოტის ჟანგის თავისუფალი რადიკალების შემცველობის ცვლილებები ახალშობილი ვირთაგვების თავის ტვინის ქერქის კულტურაში ოქსიდაციური სტრესის პირობებში და მისი კორექციის შესაძლებლობა E და C ვიტამინების მეშვეობით. ოქსიდაციური სტრესის მოდელირება ხდებოდა კულტურის საკვებ არეში  $H_2O_2$ -ის დამატებით. გამოწვეული ციტოტოქსიკური ეფექტის პრევენციის მიზნით საკვებ არეში  $H_2O_2$ -თან ერთდროულად ვამატებდით E და C ვიტამინებს. ლიპიდებისა და აზოტის ჟანგის თავისუფალი რადიკალების შემცველობას ვსაზღვრავდით ელექტრონული პარამაგნიტური მეთოდისა და შესაბამისი სპინსაფანგების საშუალებით.

ოქსიდაციური სტრესის პირობებში ახალ-

შობილი ვირთაგვების თავის ტვინის ქერქის კულტურაში გამოვლინდა თავისუფალი NO-ს შემცველობის შემცირება და სპინმონიშნული სუპეროქსიდ- ( $O_2^-$ ) და ლიპოპეროქსიდრადიკალების (LOO $\cdot$ ) შემცველობის მომატება. ექსპლანტანტების კულტურაში E და C ვიტამინების დამატებისას სპინმონიშნული სუპეროქსიდ- ( $O_2^-$ ) და ლიპოპეროქსიდრადიკალების (LOO $\cdot$ ) შემცველობა მცირდებოდა, ხოლო თავისუფალი NO-სი -იზრდებოდა. მაშასადამე, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ანტიოქსიდანტური E და C ვიტამინები ხელს უწყობენ ვირთაგვების თავის ტვინის ქერქის ექსპლანტანტებში ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობის შემცირებას, რაც თავის მხრივ თავისუფალი NO-ს ფიზიოლოგიური კონცენტრაციისა და მისი ბიოლოგიური აქტივობის შენარჩუნებას უწყობს ხელს.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА СО СТАДИЙНОСТЬЮ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кебадзе<sup>1</sup> Н.В., Габуния<sup>1</sup> У.А., Какауридзе<sup>2</sup> Н.Г.

<sup>1</sup>Институт экспериментальной морфологии им. А. Натишвили;

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной терапии -  
Национальный центр терапии

Гормонально-метаболический статус больных раком молочной железы (РМЖ) имеет большое значение для индивидуализации противоопухолевого лечения и прогноза заболевания [4]. Поэтому знание особенностей липидного статуса организма пациентов, особенно на начальных стадиях, может оказать определенную помощь в выборе стратегии противоопухолевого лечения РМЖ.

В связи с вышеизложенным, целью данного исследования явилось изучение изменений липидного метаболизма у больных раком молочной железы на ранних стадиях заболевания.

**Материал и методы.** Мы обследовали 30 женщин в возрасте 38-64 лет с гистологически подтвержденным диагнозом РМЖ I-II стадий. Все женщины были оперированы в Национальном центре онкологии им. А. Гвамичава. Диагноз РМЖ был установлен на основании анамнеза, клинических данных, маммографических исследований, постоперационных гистопатологических исследований, в некоторых случаях компьютерной томографией и ядерно-магнитным резонансом.

Послеоперационную ткань фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и фиксационной смеси Карнуа. Часть ткани фиксировали в парафине, другую – в целлоидине. Для получения серийных срезов толщиной 4-5 мкм, материал, фиксированный в парафине, нарезали на ротационном микротоме; ткань, фиксированную в целлоидине, – на санеобразной микротоме толщиной в 5-6 мкм.

Срезы окрашивали гематоксилином, эозином и пикрофуксином методом Ван Гизона.

Стадийность рака определялась с учетом размера опухоли, инвазивности, вовлечения лимфатических узлов, наличия распространения опухоли за пределы молочной железы.

С целью определения липидного гомеостаза у обследуемых лиц забирали кровь после 12-часового голодания натощак. Липидный спектр определялся в плазме крови с помощью спектрофотометра JENWAY-6400 (Англия). Количество общего холестерина (ОХ) было определено энзимным методом (Cholesterol CHOD-PAP Kit, Code SFBC: E<sub>6</sub>, BIOLABO, France), триглицериды (ТГ) - энзимным методом (GPO Kit, Code SFBC: KO, BIOLABO, France), уровень липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) определяли после преципитации липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) (HDL Cholesterol (Precipitant) SFBC Code: MI, BIOLABO, France). Для вычисления ЛПНП использовалась формула Friedwald-a (1972): ЛПНП = ОХ – (ЛПВП + ЛПОНП). Для определения ЛПОНП использовали формулу: ТГ/5 (мг/дл). Индекс атерогенности (ИА) вычисляли по формуле: (ОХ – ЛПВП) / ЛПВП [1].

Результаты исследования были внесены в базу данных статистической программы Microsoft Office Excell и обработаны статистическим пакетом программы SPSS-11,5. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартного отклонения (M±SD). Коэффициент достоверности определялся как p<0,05 по критерию Стюдента t. Корреляция тестировалась методом Pearson-a.

**Результаты и их обсуждение.** Между показателями среднего возраста I (45,8±5,4 л) и II групп (47,7±8,4 л) статистически достоверных различий не оказалось (p>0,5).

Из 30-и выявленных опухолей 20 составили протоковую карциному, 3 - дольковую карциному, 3 - фиброзный рак (скирр), 3 - медуллярную карциному, 1 - болезнь Педжета.

Подбор и распределение пациентов в группы проводили на основании принятой классификации,

по размеру, инвазивности и наличию метастазов. В I группу были включены пациенты на I и II стадиях, на основании следующих морфологических

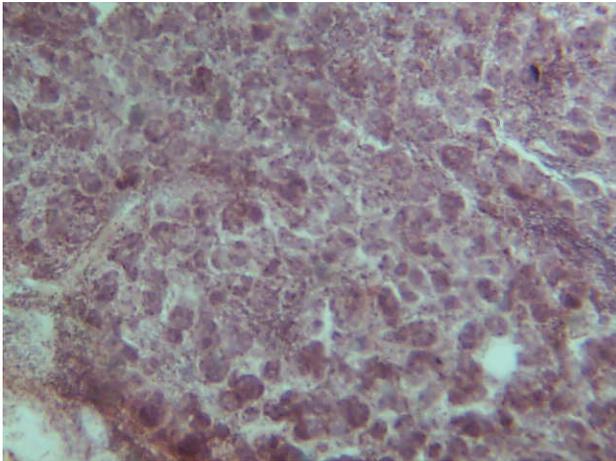


Рис. 1. Пациентка Гогичаишвили М., 40 л., эстроген-отрицательная протоковая карцинома, I стадия, ядра однородные, редкий гиперхроматоз в поле зрения, тенденция формирования трубочек четкая, окраска гематоксилином, х300

признаков: рак носил инвазивный характер, его размер варьировал в пределах от 1,8 см до 3,1 см, без метастазов в аксиллярные лимфатические узлы (рис. 1).

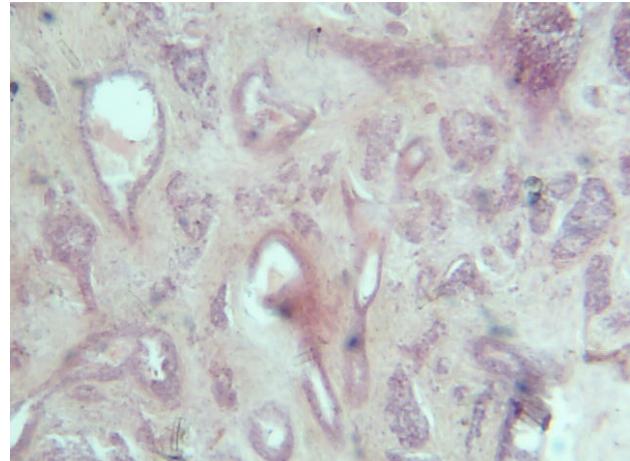


Рис. 2. Пациентка Джукия Р., 46 л., эстроген-положительная протоковая карцинома, II стадия, ядра неоднородные, 2-3 гиперхроматичных ядра в поле зрения, тенденция формирования трубочек умеренная, окраска гематоксилином, х600

Во II группу вошли пациенты на II Б стадии болезни со следующими морфологическими признаками: инвазивный рак, размер 3,3 - 4,7 см, с метастазами в аксиллярные лимфатические узлы (рис. 2).

Среди различных показателей липидного спектра были зафиксированы неоднородные результаты. В частности, выявилось статистически достоверное различие между показателями ОХ и ЛПНП (таблица).

Таблица. Показатели липидного обмена у больных РМЖ

Группа	Возраст	ОХ	ЛПВП	ЛПНП	ЛПОНП	ТГ	ИА
I	45,8±5,4	165,7±23,0	48,7±10,5	91,8±21,3	31±6,8	154,2±30,2	2,7±0,8
II	47,7±8,4	190±35,0	48,4±9,6	117±32,4	30,6±7,8	148,8±40,7	3,1±0,9
p	>0,5	<0,05	>0,7	<0,02	>0,5	>0,5	>0,5

*p* - достоверное различие

У пациентов II группы, находящихся на стадии IIБ, отмечены статистически высокие показатели ОХ и ЛПНП (190±35,0 мг/дл и 117±32,4 мг/дл соответственно) ( $p < 0,05$ ), в отличие от I группы (165,7±23,0 мг/дл и 91,8±21,3 мг/дл соответственно) ( $p < 0,02$ ). Между показателями ТГ и ЛПВП различий не оказалось.

При сравнении показателей I и II групп выявилось соответственно: ЛПОНП- 31±6,8 мг/дл и 30,6±7,8 мг/дл, ТГ- 154,2±30,2 мг/дл и 148,8±40,7 мг/дл, ИА- 2,7±0,8 мг/дл и 3,1±0,9 мг/дл ( $p > 0,5$ ). Между показателями ЛПВП, ЛПОНП, ТГ и ИА I и II групп статистически достоверных различий

не оказалось. Наши данные отличаются от данных Симонова Л. И. и соавт. [2]. Различие, вероятно, объясняется возрастом пациентов, эстрогеновым статусом и принципом перераспределения в группах. Вследствие того, что у пациентов II группы, в отличие от I группы, отмечается более развернутая форма болезни, мы полагаем, что высокие показатели атерогенности определяют степень и злокачественность роста РМЖ, так как известно, что среди макропараметров организма, прежде всего влияющих на развитие РМЖ, важное значение имеет и липидный статус, который относится к факторам, воздействующим на иммунную систему и продукцию эстрогенов.

Дисбаланс в гомеостазе последних, в свою очередь, способствует развитию РМЖ [2,6]. Влияние на повышение распространенности РМЖ оказывает также дисбаланс липидных фракций в сыворотке крови (гипер- и дислипидемией) [4]. Липиды и липопротеины крови участвуют в формировании иммунорегуляторных эффектов, модулируют рецепторное связывание эстрогенов в тканях-мишенях [3,5,7].

Увеличение показателей ОХ и ЛПНП на I-II стадиях развития РМЖ можно считать предиктором роста и распространения, а коррекцию липидного гомеостаза (диетическую и медикаментозную) - предвестником вторичной профилактики рака молочной железы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Климов А.Н., Никулчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. Питер Пресс: 1995; 6: 288-92.
2. Симонова Л.И., Гертман В.З., Пушкарь С.Н. Ли-

пидный статус у больных раком молочной железы I-II стадии. Онкология 2002; 4 (3): 236-237.

3. Цырлина Е. В., Гамаюнова В. Б., Порошина Т. Е. Гормонально-метаболический статус больных раком молочной железы, подвергшихся сохранной операции: сопоставление с известными прогностическими критериями. Вопросы онкологии 1999; 45 (3): 265-72.

4. Howson C.P., Kinne D., Wynder E. L. Body weight, serum cholesterol and stage of primary breast cancer. Cancer 1986; 58: 2372-81.

5. Lane D.M., Boatman K.K., McConathy W.J. Serum lipids and apolipoproteins in women with breast masses. Breast Cancer Research and Treatment 1995; 34: 161-9.

6. Longecker M.P., Bernstein L., Paganinihill A. et al. Risk factors of in situ breast cancer. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent. 1996; 12: 961-5.

7. Moorman P.G., Hulka B.S., Hiatt R.A. et al. Association between high-density lipoprotein cholesterol and breast cancer varies by menopausal status. Cancer Epidemiol Biomarkers and Prevention 1998; 7: 483-8.

## SUMMARY

### INTERRELATION OF LPID STATUS WITH STAGING OF BREAST CANCER

**Kebadze<sup>1</sup> N., Gabunia<sup>1</sup> U., Kakauridze<sup>2</sup> N.**

*<sup>1</sup>Tbilisi A. Natishvili Institute of Experimental Morphology; <sup>2</sup>National Center of Therapy-Clinical and Experimental Research Institute of Therapy*

The lipid status of 30 women (38-64 years) with breast cancer (stages I-II A, B) was investigated. Selection and distribution of patients in groups occurred on the basis of the accepted classification by the size, invasivity and presence of metastases. The main changes in the lipid formula of blood included increased level of total cholesterol and low density lipoproteins cholesterol. The relationship between

dislipoproteinemia and invasivity were revealed. Thus, these changes can be considered as predictor of growth and distribution, and correction of lipid homeostasis (dietary and medicamentous) as a primary factor of secondary preventive maintenance of breast cancer.

**Key words:** breast cancer, dislipoproteinemia.

## РЕЗЮМЕ

### ВЗАИМОСВЯЗЬ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА СО СТАДИЙНОСТЬЮ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**Кебадзе<sup>1</sup> Н.В., Габуня<sup>1</sup> У.А., Какауридзе<sup>2</sup> Н.Г.**

*<sup>1</sup>Институт экспериментальной морфологии им. А. Нативили; <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной терапии - Национальный центр терапии*

Был исследован липидный статус 30-и женщин в возрасте 38-64 лет больных раком молочной

железы (РМЖ) на I-II стадиях развития. Выбор и распределение пациентов в группах происходили

на основе принятой классификации с учетом размера, инвазивности и наличия метастазов. Значительные изменения липидного обмена крови включали повышенные уровни общего холестерина и липопротеидов низкой плотности в зависимости от стадии заболевания.

Таким образом, увеличение показателей общего холестерина и липопротеидов низкой плотности на I-II стадиях развития РМЖ можно считать предиктором роста и распространения, а коррекцию липидного гомеостаза (пищевую и медикаментозную) - важным фактором вторичной профилактики РМЖ.

### რეზიუმე

ლიპიდური ცვლა ძუძუს კიბოს განვითარების სხვადასხვა სტადიაზე

ნ. ქებაძე<sup>1</sup>, უ. გაბუნია<sup>1</sup>, ნ. კაკაურიძე<sup>2</sup>

<sup>1</sup>აღ. ნათიშვილის სახელობის ექსპერიმენტული მორფოლოგიის ინსტიტუტი;  
<sup>2</sup>თბილისის კლინიკური და ექსპერიმენტული თერაპიის  
სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი – თერაპიის ეროვნული ცენტრი

შევისწავლეთ 38-64 წლის 30 ქალის ლიპიდური სტატუსი, რომლებიც დაავადებული იყვნენ ძუძუს კიბოს I-II სტადიით. პაციენტების შერჩევა და განაწილება ჯგუფებში ხდებოდა მიღებული კლასიფიკაციის მიხედვით სიმსივნის ზომის, ინვაზიურობისა და მეტასტაზების არსებობის გათვალისწინებით. როგორც კვლევამ გვიჩვენა, თვალსაჩინოდ იცვლება საერთო ქოლესტერინისა და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდების ქოლესტერინის მაჩვენებლები სტადიურობასთან მიმართებაში.

აქედან გამომდინარე, საერთო ქოლესტერინისა და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდების ქოლესტერინის მაჩვენებლების მატება ძუძუს კიბოს განვითარების დროს შეიძლება ჩაითვალოს სიმსივნის ზრდისა და გავრცელების მნიშვნელოვან პრედიქტორად. შესაბამისად, დიეტითა და მედიკამენტებით ლიპიდური ცვლის კორექცია შეიძლება მივიჩნიოთ ძუძუს კიბოს მეორადი პრევენციის მნიშვნელოვან ფაქტორად.

---

## POSTTRAUMATIC STRESS DISORDER AND INSOMNIA DEVELOPMENT IN INDIVIDUALS DISPLACED FROM SHIDA KARTLI, GEORGIA

Maisuradze<sup>1,2</sup> L., Lortkipanidze<sup>1,2</sup> N., Eliozishvili<sup>2</sup> M., Gvilia<sup>1,2</sup> I., Darchia<sup>1,2</sup> N.

<sup>1</sup>I. Beritashvili Institute of Physiology, Tbilisi; <sup>2</sup>I. Chavchavadze State University, Tbilisi, Georgia

People with psychological distress associated with preceding traumatic events suffer from sleep disturbances [12,13]. These sleep disturbances may have transient character that represents a normal reaction to trauma exposure or may persist for a long time [12]. The posttraumatic stress disorder (PTSD) is a clinical

syndrome characterized by re-experiencing, avoidance, and hyperarousal reactions that persist for more than one month after exposure to a traumatic event [6]. Epidemiologic studies indicate that community prevalence estimates of PTSD range from 1 to 10% [3,8] with higher estimates in victims of interpersonal

violence (20% to 30%) [8,15] and combat veterans (15%-30%) [17]. Recent estimates suggest that 5% to 29% of military personnel who serve in current conflicts in Iraq and Afghanistan meet diagnostic criteria for PTSD [6].

Sleep disturbances are prominent features of PTSD [11,12,16]. They contribute to poor daytime functioning [6] and are considered as the diagnostic criteria for PTSD according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (*DSM-IV*) [1]. However the exact nature of the relationship between sleep disturbances and PTSD is unclear. Several aspects of the sleep contribution to the development of PTSD need to be explored [6]. Critical unanswered questions are (1) whether disturbed sleep in PTSD is an independent clinical entity or an effect of the disorder, (2) if sleep disturbances in PTSD affect daytime functioning and quality of life, (3) if sleep disturbances reinforce anxiety or depression symptoms, and independently favor for poor clinical and health outcomes? While these points require clarification, they raise the need for further studies on sleep disturbances in trauma exposed individuals to determine whether sleep disturbances are more general features in traumatized individuals or specific to PTSD.

The present study was designed to examine the prevalence rate of PTSD and sleep disturbances in internally displaced persons (IDPs) escaped from Shida Kartli, Georgia in order to survive because of the Russia - Georgia war conflict in August 2008. We also aimed to identify whether the problem of insomnia was specifically characteristic for subjects with PTSD.

**Material and methods.** Participants were 45 IDPs from Shida Kartli. Survivors of combat zone were temporarily housed in one of the kindergartens of Tbilisi, a capital city of Georgia. 28 female and 17 male subjects, aged between 18 and 63 years old, were interviewed in 2.5 months after the displacement to Tbilisi. Informed consent was obtained from all participants, and the local institutional review board approved the study.

Sleep specialists conducted sleep interviews. Subjective data on nocturnal sleep characteristics included sleep latency, bedtime, wake-up time, rise time, nocturnal awakenings (frequency and duration), the ability to fall back to sleep, frequency of nightmares, early morning awakenings, feeling of being rested upon awakening, the frequency of difficulties

in initiating and/or maintaining sleep per week. In addition, subjects were asked to self evaluate their current sleep quality on a 4 point scale: bad, fairly bad, fairly good, and good. The interview also covered socio-demographic information such as age and gender, education level and employment status before escaping from combat zone. Socio-economic status of participants was self-evaluated on a 4-point scale ranging from 1 (bad) to 4 (very good).

All participants completed the Posttraumatic Stress Diagnostic Scale (PDS) [4]. The PDS is a 49 item self-report instrument designed to diagnose PTSD. The structure and content of the PDS mirror the *DSM-IV* diagnostic criteria for PTSD. PDS was presented in Georgian language following appropriate onwads-backwards English-Georgian translation.

The criteria for defining subjects as having PTSD were based on PDS questionnaire analysis. 43 questionnaires on PTSD were completed correctly. 19 (44,18%) out of the 43 participants who escaped from combat zone, met all six *DSM-IV* criteria (A-F, the diagnostic criteria for PTSD), i.e. these individuals endorsed items in a manner that is consistent with a *DSM-IV* diagnosis of PTSD. 8 (18,61%) did not have PTSD. The results obtained from 16 (37,21%) subjects were questionable to make a definite diagnosis on having PTSD. Thus, data obtained from only 27 subjects were entered into subsequent analysis.

During the interview, subjects were asked about ongoing (if any) sleep-promoting medication intake and, if they were treated for any somatic or psychiatric disorders at the time of survey, to determine whether possible insomnia complaints are primary or secondary. Subjects were diagnosed primary insomnia based on the criteria of the *DSM IV* [1]. Subtypes of insomnia were identified based on the following symptoms: difficulty falling asleep, maintaining asleep and non-refreshing sleep.

Comparisons on the demographics and the sleep measures between subjects with and without PTSD were conducted using either one-way analyses of variance or chi-square for categorical variables. The strength of the relationship between PTSD and insomnia were analyzed using Spearman correlation. A *p* value of 0.05 was considered to be statistically significant. Results are reported as Mean±SE. All statistical analysis was done using SPSS Statistics, version 16.0.

**Results and their discussion.** The present study revealed a high prevalence rate of PTSD among the IDPs from Shida Kartli. 41 (95,3%) subjects marked as a traumatic event “Military combat or war zone” that bothered them the most. A large percentage (44,18%) of IDPs met the PTSD diagnostic criteria. 8 individuals (17,8%) were assigned to group of

subjects without PTSD. The Level of Impairment in Functioning was “Sever” in 62.1% (12 out of 19) of subjects with PTSD and 12,5% (1 out of 8) of subjects without PTSD. Table 1 compares demographic characteristics of subjects with and without PTSD and provides statistical analysis of differences between the groups.

Table 1. The demographic characteristics of subjects with and without PTSD

Variables	Subjects with PTSD (n=19)	Subjects without PTSD (n=8)	Statistics
Age (Mean±SE)	40,2±2,8	25±2,4	$F_{(1,25)}=10,6$ $p=0,003$
Gender – female, % (n)	15 (79)	5 (62,5)	$\chi^2=5,0$ $p=0,025$
Education (years)	14,68±0,42	14,00±0,73	$F_{(1,25)}=0,715$ $p=0,406$
Socio-economic level <sup>1</sup>	2,95±0,16	2,88±0,44	$F_{(1,25)}=0,04$ $p=0,85$
Marital status, % (n) single married/cohabiting	0 (0) 19 (100)	3 (37,5) 5 (62,5)	$\chi^2=8,167$ ; $p=0,004$
Employment, % (n) not working	6 (31,5)	3 (37,5)	$\chi^2=3,556$ $p=0,059$

*this ordinal variable is treated as continues variables ranging from 1 (bad) to 4 (very good)*

As shown in Table 1, groups were significantly different on age, gender and marital status. Subjects with PTSD were more aged than subjects without PTSD. Proportionally more females and more married subjects were presented in the group of PTSD individuals. There was no difference between these groups on socio-economic level and the employment status just before escaping from the war zone.

As regards to the sleep complaints, we found that more than two thirds of participants were not satisfied with their current sleep and most of them were complaining about sleep maintenance difficulties and appearing of nightmares, as disturbing factors of sleep. 85,2% (23 out of 27) of total subjects with and without PTSD

had at least one type of insomnia. Sleep complaints were presented among all PTSD individuals, also 50% of non-PTSD subjects were suffering with insomnia as well. There was statistically significant difference between groups on the incidence rate for all types of insomnia ( $p<0,05$ ). Mean sleep onset latency was high in both groups but the difference did not reach the significance ( $p=0,33$ ). We detected that subjects of both groups were struggling with problem of nightmares with higher rate in the PTSD group; however the difference again was insignificant. The groups significantly differed on total sleep time that was subjectively calculated according to self-reported measures. Mean scores for sleep variables are presented on Table 2.

Table 2. Mean scores and SE for sleep variables of subjects with and without PTSD

Variables	Subjects with PTSD (n=19)	Subjects without PTSD (n=8)	Statistic, p value
Subjects with insomnia	19 (100%)	4 (50%)	$\chi^2=9,783$ ; $p<0,01$
Sleep latency (min)	57,3±8,6	42,6±8,5	$F_{(1,25)}=0,985$ , $p=0,330$
Total sleep time (hr)	6,3±0,29	7,6±0,55	$F_{(1,25)}=4,730$ , $p=0,039$
Nightmare frequency per week	1,42±0,36	1,25±0,77	$F_{(1,25)}=0,051$ , $p=0,823$

Self-evaluation of sleep quality revealed that 62,1% (12 out of 19) of individuals with PTSD and 50,0% (4 out of 8) of subjects without PTSD slept badly. Other answer-choices made by the individuals having and not having PTSD were almost the same. The results of Spearman correlation analysis of PTSD with insomnia status was highly significant ( $r_s=0,64$ ;  $p<0,000$ ).

Forced displacement in developing countries dramatically alters individuals’ habitual activities and can influence health in several ways. The negative impact of displacement in our study population is reflected by high incidence rate of both PTSD and insomnia. We found that disturbed sleep was a common complaint among the subjects escaped from Shida Kartli.

The immediate and long-term effects of traumatic events on sleep have been discussed in a number of studies [6,12,13]. Despite variations in approach these studies report that insomnia symptoms and nightmares and/or anxiety dreams are most frequent self-reported complaints in traumatized persons with regard to both the immediate and long-term effects [3,10,11,14]. Other studies failed to find objective evidence of sleep disturbances in patients with PTSD [7,9]. Our data are consistent with studies reporting the problem of insomnia in people suffering from PTSD [3,14], but at the same time, we found that insomnia complaints were not specific to PTSD subjects and were also presented in the group of non-PTSD individuals.

Examining the differences between subjects with and without PTSD revealed that the groups did not differ on socio-economic and employment status before the stress exposure. Thus, social determinants of health vulnerability to stress in these groups were similar. As regards to gender, it is accepted that female war veterans have more severe psychopathology than males [5]. Our data just partially support this view since we do not have equal gender distribution within the sample. Increasing rate of insomnia with age is a well-established fact [2]. Although we detected significant age difference between PTSD and non-PTSD individuals, insomnia was presented in half of younger non-PTSD subjects. Thus, our results provide further support for the view that sleep mechanisms may contribute to the pathophysiology of PTSD, but sleep complaints following trauma exposure may exist even in the absence of full-blown PTSD.

The main limitation of the current study is that sleep complaints were evaluated (A) by subjective reports, and (B) in the small sample size. Because of these limitations it is difficult to determine the extent to which sleep disturbances in PTSD represents an independent clinical entity or an effect of the disorder. However, our results indicate that displacement may affect individuals' health in several ways, and highlight the importance of assessing and further studies on sleep disturbances in individuals with PTSD.

Finally, findings of this study, conducted for the first time in Georgia, signify the importance of more medical attention on PTSD and insomnia development in Georgian displaced population exposed to the war and violence.

Acknowledgement. Study supported by Georgian National Science Foundation (GNSF) Research Grant GNSF/ST07/6-237.

## REFERENCES

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed., text revision. Washington D.C., American Psychiatric Press: 2000.
2. Bliwise DL. Normal Aging. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC, eds. Principles and practice of sleep medicine. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders: 2000; 26-42.
3. Breslau N, Roth T, Burduvali E, Kapke A, Schultz L, Roehrs T. Sleep in lifetime post-traumatic stress disorder: a community based polysomnographic study. *Arch Gen Psychiatry* 2004;61:508-16.
4. Foa EB. Posttraumatic stress diagnostic scale manual. NCS Pearson, Inc.: 1995; 45.
5. Fontana A, Rosenheck R, Desai R. Female veterans of Iraq and Afghanistan seeking care from VA Specialized PTSD Programs: Comparison with Male Veterans and Female War Zone Veterans of Previous Eras. *J Womens Health* 2010.
6. Germain A, Buysse D and Nofzinger E. Sleep-specific mechanisms underlying posttraumatic stress disorder: integrative review and neurobiological hypotheses. *Sleep Med Rev* 2008; 12(3):185-95.
7. Hurwitz TD, Mahowald MW, Kuskowski M, Engdahi bE. Polysomnographic sleep is not clinically impaired in Vietnam combat veterans with chronic posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 1998; 44: 166-1073.
8. Kessler RC, Sonnega A, Bromet E, Hughes M, Nelson CB. Posttraumatic stress disorder in the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry* 1995; 52(12):1048-1060.
9. Klein E, Koren D, Arnon I, Lavie P. Sleep complaints are not corroborated by objective sleep measures in post-traumatic stress disorder: a 1-year prospective study in survivors of motor vehicle crashes. *J Sleep Res.* 2003;12:35-41.
10. van der Kolk B, BlitzR, Burr W, Sherry S, Hartmann E. Nightmares and trauma: a comparison of nightmares after combat with lifelong nightmares in veterans. *Am J Psychiatry* 1984; 141:187-190.
11. Koren D., Arnon I, Lavie P, Klein E. Sleep complaints as early predictors of posttraumatic sleep disorder: A 1-year prospective study of injured survivors of motor vehicle accidents. *Am J Psychiatry* 2002; 159: 855-857.

12. Lavie P. Sleep disturbances in the wake of traumatic events. *The New Eng. J of Medicine* 2001; 345: 1825-32.
13. Mellman, TA. Psychobiology of sleep disturbances in post-traumatic stress disorder. *ANN NY Acad Sci* 1997; 821:142-49.
14. Neylan TC, Marmar CR, Weiss DS, Zatzick DF, Delucci KL, Wu RM, Schoenfeld FB. Sleep disturbances in the Vietnam generation: findings from a national representative sample of male Vietnam veterans. *Am J Psychiatry* 1998;155:929-933.
15. Resnick HS, Kilpatrick DG, Dansky BS, Saunders BE, Best CL. Prevalence of civilian trauma and posttraumatic stress disorder in a representative national sample of women. *J Consult Clin Psychol.* 1993;61(6):365-376.
16. Ross R, Ball W, Sullivan K, Caroff S. Sleep disturbance as the hallmark of posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry* 1989;146: 697-707
17. Weiss DS, Marmar CR, Schlenger WE, Fairbank JA, Jordan BK, Hough RL, et al. The Prevalence of lifetime and partial post-traumatic stress disorder in Vietnam theater veterans. *J Trauma Stress* 1992;5: 365-376.

## SUMMARY

### POSTTRAUMATIC STRESS DISORDER AND INSOMNIA DEVELOPMENT IN INDIVIDUALS DISPLACED FROM SHIDA KARTLI, GEORGIA

**Maisuradze<sup>1,2</sup> L., Lortkipanidze<sup>1,2</sup> N., Eliozishvili<sup>2</sup> M., Gvilia<sup>1,2</sup> I., Darchia<sup>1,2</sup> N.**

<sup>1</sup>*I. Beritashvili Institute of Physiology, Tbilisi, Georgia;*  
<sup>2</sup>*I. Chavchavadze State University, Tbilisi, Georgia*

Recent evidences suggest that posttraumatic stress disorder (PTSD) is associated with sleep disturbances following the traumatic events. However, the exact nature of the relationship between disturbed sleep and PTSD is unclear. The present study examined the development of PTSD and insomnia in the population subjected to force displacement from Shida Kartli, Georgia (Caucasus). Detailed subjective information on sleep-wake habits and demographic parameters were obtained from 45 displaced persons. Posttraumatic Stress Diagnostic Scale was administered to all participants. Complete information could only be obtained from 27 individuals categorized into PTSD

(19 subjects) and non-PTSD (8 subjects) groups. Sleep complaints were presented among all PTSD individuals, also 50% of non-PTSD subjects were still suffering from insomnia. Most of the subjects were not satisfied with their current sleep. They mostly complained on sleep maintenance difficulties and the appearing of nightmares, as disturbing factors of sleep. The difference between PTSD and non-PTSD groups on nightmare frequency did not reach the significance. Our results support a view that sleep mechanisms may contribute to the pathophysiology of PTSD, but insomnia following trauma exposure may exist even in the absence of full-blown PTSD.

**Key words:** posttraumatic stress disorder, insomnia, disturbed sleep, displaced persons.

## РЕЗЮМЕ

### РАЗВИТИЕ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ НАРУШЕНИЙ И ИНСОМНИИ У ЛИЦ, ПЕРЕМЕЩЕННЫХ ИЗ ШИДА КАРТЛИ, ГРУЗИЯ

**Майсурадзе<sup>1,2</sup> Л.М., Лорткипанидзе<sup>1,2</sup> Н.Д., Элиозишвили<sup>2</sup> М.Д., Гвилия<sup>1,2</sup> И.Дж., Дарчия<sup>1,2</sup> Н.Д.**

<sup>1</sup>*Институт физиологии им. И. Бериташвили, Тбилиси;* <sup>2</sup>*Государственный университет им. И. Чавчавадзе, Тбилиси*

Согласно новейшим исследованиям, посттравматические стрессовые нарушения (ПТСН), вызванные травматическими событиями, тесно связаны с нарушением сна. Однако, природа взаимосвязи ПТСН и нарушения сна полностью не выяснена. В представленной работе исследуется развитие ПТСН и инсомнии в популяции, вынужденно перемещенных лиц из Шиды Картли, Грузия. Детальная субъективная информация о навыках сна и бодрствования и демографических параметрах была получена от 45-ти перемещенных внутри страны лиц. Им была предоставлена посттравматическая стрессовая диагностическая шкала. Необходимая для обработки информация была получена от 27-и субъектов, которые были разделены на две группы: без ПТСН (8 лиц) и с ПТСН (19 лиц). Жалобы на нарушение сна отмечали все субъекты с ПТСН. 50% субъектов без ПТСН также страдали бессонницей. Большинство субъектов жаловались на постоянную потребность во сне,

а также ночные кошмары, прерывающие его. По частоте ночных кошмаров значительной разницы между группами не отмечалось. Полученные результаты подтверждают мнение о возможности вовлечения механизмов сна в патофизиологию ПТСН. Однако, не исключена возможность выявления инсомнии и у подвергшихся травме лиц, не страдающих ПТСН.

### რეზიუმე

პოსტტრავმული სტრესული დარღვევისა და ინსომნიის განვითარება შიდა ქართლიდან, საქართველო ადგილგადანაცვლებულ პირებში

ლ. მაისურაძე<sup>1,2</sup>, ნ. ლორთქიფანიძე<sup>1,2</sup>,  
მ. ელიოზიშვილი<sup>2</sup>, ი. გვილია<sup>1,2</sup>, ნ. დარჩია<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ი. ბერიტაშვილის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი; <sup>2</sup>ი. ჭავჭავაძის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

უახლესი მონაცემების თანახმად, ტრავმების შედეგად განვითარებულ პოსტტრავმულ სტრესულ დარღვევას (პტსდ) თან ახლავს ძილის დარღვევების განვითარებაც. ამასთან, ძილისა და პტსდ-ის ურთიერთკავშირის

ზუსტი ბუნება ბუნდოვანია. კვლევა მიზნად ისახავდა პტსდ-ისა და ინსომნიის განვითარების შესწავლას შიდა ქართლიდან იძულებით გადაადგილებულ პოპულაციაში. დეტალური სუბიექტური ინფორმაცია ძილ-ღვიძის ჩვევებისა და დემოგრაფიული პარამეტრების შესახებ მივიღეთ ქვეყნის შიგნით გადაადგილებული 45 ინდივიდისგან; მათ ასევე შეავსეს პოსტტრავმული სტრესის სადიაგნოსტიკო სკალა. სრული ინფორმაცია მოპოვებულ იქნა მხოლოდ 27 სუბიექტისგან, რომლებმაც შეადგინეს პტსდ-ის მქონე (19 სუბიექტი) და პტსდ-ის არ მქონე (8 სუბიექტი) ჯგუფები. ძილის ჩივილები აღენიშნებოდა პტსდ ჯგუფის ყველა ინდივიდს; მეორე ჯგუფის 50%-ს აგრეთვე აწუხებდა ინსომნია. ძირითადი ჩივილები ეხებოდა განუწყვეტელი ძილის სურვილს და ღამის კოშმარებს, როგორც ძილის დამრღვევ ფაქტორებს. განსხვავება ღამის კოშმარების სიხშირის მიხედვით ჯგუფებს შორის სარწმუნო არ იყო. კვლევის შედეგები შესაბამისობაშია იმ მოსაზრებასთან, რომლის თანახმად ძილის მექანიზმები შესაძლოა ჩართული იყოს პტსდ-ის პათოფიზიოლოგიაში; თუმცა ტრავმის შედეგად ინსომნიის განვითარება პტსდ-ს სრულფასოვანი გამოვლინების გარეშეცაა მოსალოდნელი.

---

## ВЛИЯНИЕ ПРОСТЫХ ФЕНОЛОВ НА НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У КРЫС

Арзиани Б.А., Чихладзе Ц.К., Гумбаридзе Н.Г., Лекишвили Г.Н.

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент медицинской химии*

Среди ксенобиотиков значимое место занимают фенольные соединения. Как оказалось, простые фенолы являются весьма распространенными и наиболее токсичными компонентами загрязнения воздуха, почвы и сточных вод [1,3,6-8,12]. Их можно рассматривать, также как компоненты многих пестицидов и лекарственных средств. Влияние катехоламинов и других эндогенных фенольных соединений и экзогенных растительных фенолов

на животный организм изучен довольно хорошо [16,17]. Что касается экзогенных простых фенолов, их влияние, в основном, изучено с точки зрения токсического воздействия на организм и установления предельно допустимых доз. При этом, как правило, эти эксперименты проводились в условиях очень низких концентраций ксенобиотиков и длительной (до нескольких месяцев) экспозиции.

Интерес к этому вопросу вызвали опубликованные в последнее время научные труды, согласно которым продукты окислительного превращения фенолов вызывают мутацию генов, лейкемию и другие злокачественные заболевания [10,12,18].

Целью данного исследования явилось определение влияния различных доз фенолов на некоторые биохимические и морфологические показатели крови в эксперименте.

**Материал и методы.** Эксперименты проводили на 90 белых крысах-самцах, весом 130-160 г. В организм животных фенолы (фенол, 4-нитрофенол, гидрохинон) вводили интраперитонеально, в виде водных растворов. Эксперименты проводили в 3 сериях, первая серия - применение фенола, вторая - нитрофенола, третья - гидрохинона. Каждая серия экспериментов включала по пять групп опытов. Первая группа наблюдений представлена случаями, когда у крыс забор крови производили без введения им какого-либо раствора (интактные). Вторая группа наблюдений представлена случаями, когда у крыс кровь забиралась спустя 3 часа после введения им 2 мл физиологического раствора. Третья, четвертая и пятая группы наблюдений представлены случаями, когда кровь у крыс бралась спустя 3 часа после введения им ксенобиотика в количестве, соответственно, 60 мг/кг, 125 мг/кг и 250 мг/кг веса животного.

Изучали влияние различных доз исследуемых фенолов на следующие биохимические показатели: количество глюкозы в крови, общего белка в сыворотке крови и  $\beta$ -липопротеидов также в сыворотке крови. Глюкозу определяли о-толуидиновым методом, общий белок – биуретовым методом, а  $\beta$ -липопротеиды – методом Ледвиной [2].

Количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов в крови определяли с помощью микроскопа (фирмы “Биолам”, Россия).

Для исследования структурных показателей форменных элементов крови мазки окрашивали по Андресу и изучали в световом микроскопе типа Фотомикроскоп-III (фирмы “Orton”, Германия).

Кровь из хвоста животных забирали путем небольшого надреза. Каждая группа наблюдений включала в себя по шесть белых крыс.

Полученные результаты были обработаны статистическими методами, с использованием критерия Стьюдента  $t_p$ , при значении  $p=0,05$  (95% доверительного интервала).

**Результаты и их обсуждение.** Как показали данные эксперимента, по сравнению с контрольными вариантами, количество глюкозы в крови в случае применения фенола уменьшено, в случае - гидрохинона – практически не изменяется от доз 125 и 250 мг/кг и достоверно снижается от дозы 60 мг/кг, а в случае применения 4-нитрофенола – увеличено, однако это увеличение не достоверно (диаграммы 1-3).

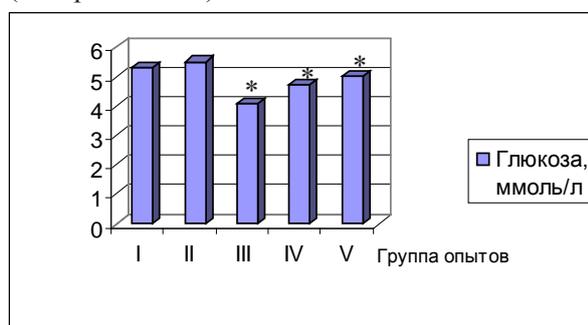


Диаграмма 1. Влияние фенола на показатели глюкозы в крови; \* - достоверность  $p<0,05$  по сравнению со II группой

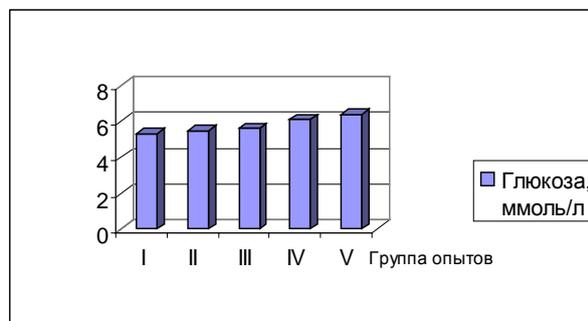


Диаграмма 2. Влияние 4-нитрофенола на показатели глюкозы в крови

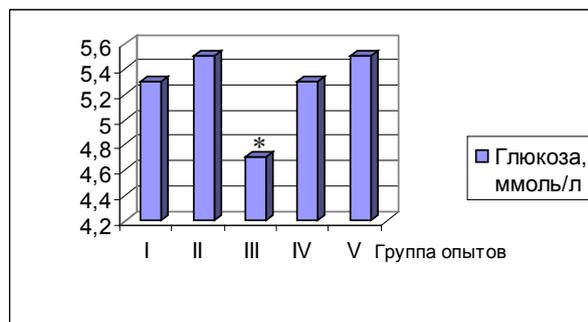


Диаграмма 3. Влияние гидрохинона на показатели глюкозы в крови; \* - достоверность  $p<0,05$  по сравнению со II группой

Известно, что увеличение концентрации введенного в животный организм фенола вызывает рост количества одного из основных продуктов детоксикации – глюкуронида [9,14]. Синтез же глюкуронидов в животном организме осуществляется посредством глюкозы.

Из трех исследованных фенолов минимальное количество глюкуронида в крови зафиксировано в случае 4-нитрофенола [7]. Последний выделяется самой высокой токсичностью (его летальная доза – самая низкая).

Исходя из вышеизложенного, можно предположить, что уменьшение количества глюкозы в крови может быть связано с потреблением глюкозы для синтеза глюкуронида.

По данным Шумейкера [16], во всех случаях стресса (вызванного также токсическими веществами) концентрация катехоламинов в животном организме в первые же минуты резко растет, что, в свою очередь, становится причиной мобилизации гликогена и, исходя из этого, повышения количества глюкозы в крови. Так как во всех группах опытов, кроме первой, стресс, вызванный интраперитонеальным введением растворов в организм крыс, одинаково действовал на увеличение концентрации катехоламинов в крови, можно предположить, что в III-V группах опытов количественные изменения глюкозы были вызваны введенными в организм ксенобиотиками.

Как показали результаты экспериментов (диаграммы 4-6), количество общего белка в сыворотке крови крыс во всех опытах с применением исследуемых фенолов было меньше по сравнению с контрольными вариантами (интактные и инъекцированные физиологическим раствором крысы). При этом, чем больше количество введенного в организм ксенобиотика, тем меньше общего белка в сыворотке крови. Минимальное количество белка зафиксировано в опытах с применением 4-нитрофенола. Как известно, это вещество является разобщителем окислительного фосфорилирования. В животном организме оно подавляет процесс фосфорилирования и сильно активизирует окислительные превращения [3]. Изучая процесс детоксикации экзогенных простых фенолов было установлено, что, по сравнению с другими исследуемыми фенолами, в случае 4-нитрофенола в

крови радиоактивность фракции биополимеров наивысшая, а в этой фракции ксенобиотик находится, в основном, в виде хинон-белкового комплекса [7]. Если учесть этот факт, становится понятным наименьшее количество общего белка в сыворотке крови, при применении 4-нитрофенола.

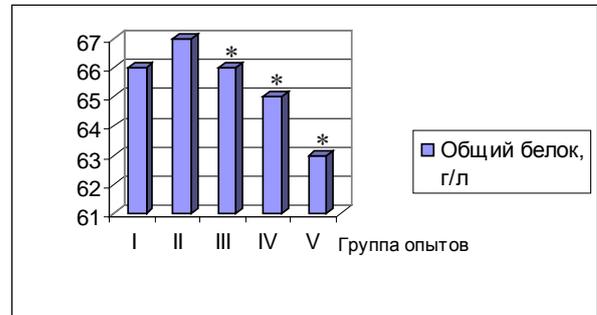


Диаграмма 4. Влияние фенола на общий белок в сыворотке крови; \* – достоверность  $p < 0,05$  по сравнению со II группой

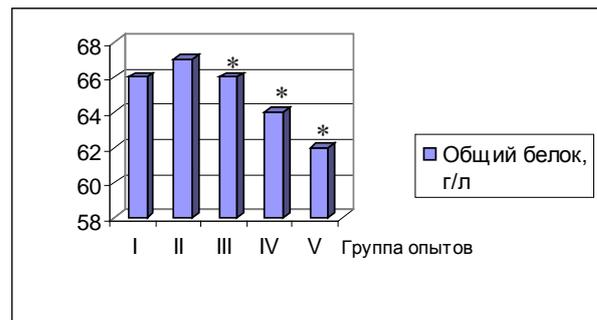


Диаграмма 5. Влияние 4-нитрофенола на общий белок в сыворотке крови; \* – достоверность  $p < 0,05$ , по сравнению со II группой

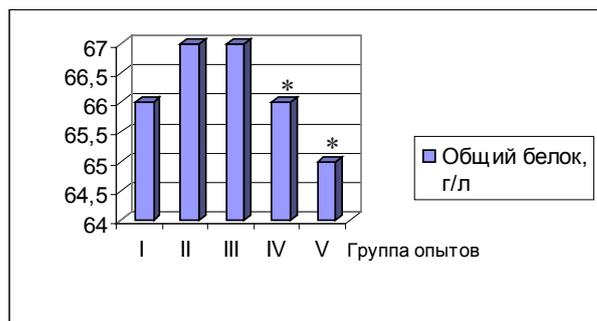


Диаграмма 6. Влияние гидрохинона на общий белок в сыворотке крови; \* – достоверность  $p < 0,05$ , по сравнению со II группой

Как показали эксперименты с применением радиоактивных препаратов исследуемых ксенобиотиков, активность фракции биополимеров в крови в случае фенола меньше, чем в случае гидрохинона [7], что находится в полном соответствии с количеством

общего белка в сыворотке крови, исходя из данных эксперимента, проведенного на эти два фенола.

Несмотря на то, что довольно-таки большое количество белка расходуется на конъюгацию с исследуемыми фенолами и полученными от них хинонами, общий белок в сыворотке крови, по сравнению с контрольными вариантами, незначительно уменьшен, что можно объяснить индукцией образования особенных, т.н. «стрессорных белков», значительного компонента адаптационного синдрома клетки [1].

Ответной реакцией на попадание в высших растениях молекул простых фенолов является стимулирование биосинтеза пептидов [8]. Это позволяет предположить, что как для растительных, так и для животных организмов защита от воздействия ксенобиотиков, в определенном аспекте, осуществляется одним и тем же механизмом.

Известно, что липопротеиды низкой и очень низкой плотности легко окисляются и, принимают непосредственное участие в формировании склеротических бляшек. Продукты усиленной липопероксидации играют значительную роль в формировании тромбов [17]. Большинство липидов в крови находится не в свободном виде, а в виде белково-липидных комплексов.  $\beta$ -липопротеиды содержат до 95% липидов и имеют низкую относительную плотность. Как известно, в результате стрессов в животном организме происходит активирование пероксидного окисления липидов [1]. Этот процесс является лишь сигналом для мобилизации собственных защитных сил живой системы, стремившихся вернуть в состояние равновесия нарушенный гомеостаз.

Как показали результаты проведенных нами экспериментов (диаграммы 7-9), при интраперитонеальном введении в организм крыс фенола и 4-нитрофенола количество  $\beta$ -липопротеидов в сыворотке крови, по сравнению с контрольными вариантами, растет (особенно, в опытах с 4-нитрофенолом), а в случае гидрохинона несколько даже уменьшается. Как известно, свободные радикалы, образованные в результате окислительных превращений фенола и 4-нитрофенола, вносят определенный вклад в процесс активации пероксидного окисления липидов. Что касается гидрохинона, в жидких биологических средах система

гидрохинон-семихинон-хинон выступает как стабилизатор окислительно-восстановительного гомеостаза организма, как фактор, противодействующий стрессорной активации пероксидного окисления [17].

Исходя из того, что изменение некоторых биохимических показателей крови было связано со стрессами, вызванными воздействием исследуемых фенолов на животный организм, было решено изучить, также, влияние указанных ксенобиотиков на структурные показатели форменных элементов крови.

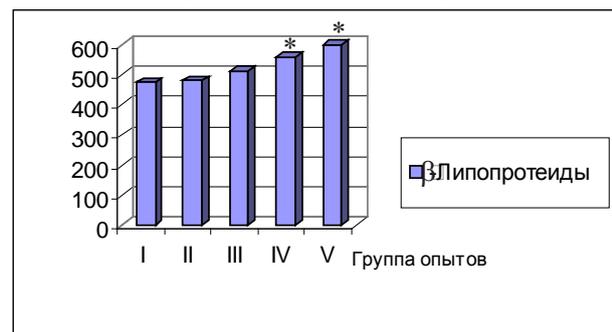


Диаграмма 7. Влияние фенола на  $\beta$ -липопротеиды в сыворотке крови; \* – достоверность  $p < 0,05$ , по сравнению со II группой

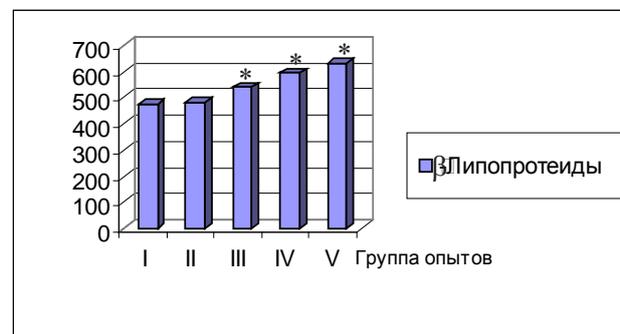


Диаграмма 8. Влияние 4-нитрофенола на  $\beta$ -липопротеиды в сыворотке крови; \* – достоверность  $p < 0,05$ , по сравнению со II группой

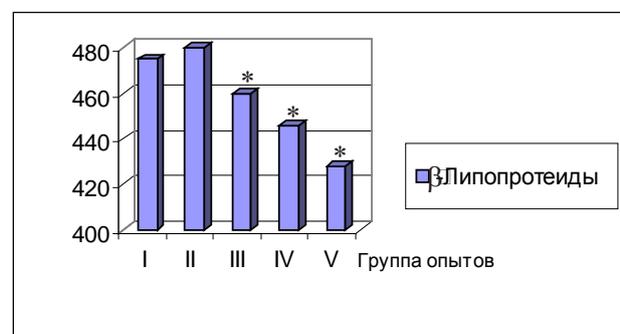


Диаграмма 9. Влияние гидрохинона на  $\beta$ -липопротеиды в сыворотке крови; \* – достоверность  $p < 0,05$ , по сравнению со II группой

Таблица. Структурные показатели форменных элементов крови

Введенное вещество	Эритроциты				Тромбоциты				Нейтрофилы			Лимфоциты				
	нормоциты	макроциты	микроциты	Клетки тени	акантоциты	юные формы	зрелые формы	старые формы	дегенер. формы	гигант. формы	I по-рядка	II по-рядка	III по-рядка	Малые формы	Средние формы	Больш. формы
-	94±2	2±0,1	3±0,1	1±0,2	-	0,5±0,01	71±1	16±2	10,5±0,3	2±0,1	62±2	38±4	-	72±4	16±1	12±2
Физиол. р-р.	93±1	2±0,2	4±0,2	1±0,1	-	0,4±0,01	68±4	15±1	10±1	6,6±0,02	50±3	50±4	-	70±2	20±1	10±1
4-нитро-Фенол	III	82±4	4±0,1	5±0,2	2±0,1	7±0,2	78±1	10±3	9,5±4	2±0,4	62±5	36±3	2±0,1	76±5	15±1	9±0,2
	IV	68±3	8±0,2	4±0,1	5±0,9	15±0,1	70±1	10±1	10±2	9,5±0,02	63±3	34±5	3±0,2	70±4	20±3	10±0,3
Фенол	V	61±2	5±0,2	5±0,2	2±0,1	27±0,1	60±2	10±0,1	15±3	14,5±1	64±1	31±3	5±0,2	50±3	30±3	20±2
	III	77±6	7±0,2	6±0,1	6±0,1	4±0,2	78±2	8±1	10±1	3±0,2	61±3	39±7	-	72±4	18±2	10±2
	IV	70±1	4±0,2	7±0,3	2±0,4	19±2	72±3	12±1	10±2	5±0,2	60±6	40±5	-	68±3	18±2	14±1
Тиро-нин	V	66±3	3±0,1	7±0,2	1±0,02	23±3	70±3	10±1	13±2	5±0,1	57±6	43±4	-	62±3	20±1	18±2
	III	87±3	4±0,1	3±0,2	6±0,1	-	72±2	10±3	15±3	2±0,2	52±3	40±2	8±0,1	76±3	16±2	8±0,1
Тиро-нин	IV	76±5	6±0,1	6±0,2	2±0,1	10±1	70±2	8±0,2	11±2	10±1	50±5	40±2	10±1	70±1	19±2	11±2
	V	73±4	7±0,1	3±0,2	4±0,1	13±3	65±3	9,5±2	15±4	10±2	47±3	37±3	16±1	74±3	18±3	8±0,3

Данные, полученные в первой и второй группах опытов, говорят о том, что структурные показатели форменных элементов крови животных указанных групп почти не отличаются друг от друга (таблица).

В третьей группе опытов (ксенобиотики в дозе 0,06 г/кг) исследования показали следующие результаты: на фоне появления небольшого числа акантоцитов (в опытах с гидрохиноном акантоциты не отмечались) уменьшение нормоцитов, по сравнению с контрольными вариантами (первая и вторая группы опытов) было незначительным. Макро- и микроциты, а также клетки-тени были одиночные (таблица). В ряду 4-нитрофенол-фенол-гидрохинон увеличивалось число эритроцитов, на поверхности которых имелись центральные неокрашенные места с большим диаметром. Во всех случаях отмечалась адгезия другими форменными элементами крови. Тромбоциты образовывали «биологическую сетку»; по сравнению с контрольными вариантами, число зрелых форм было больше. Разрушенных клеток нейтрофилов не выявлено. В сегментах их ядер превалировал эухроматин. Среди лимфоцитов увеличивалось количество малых форм, при слабой адгезии клазматоз не наблюдался, разрушенных клеток не выявлено.

При увеличении дозы ксенобиотиков до 0,125 г/кг (четвертая группа опытов) среди эритроцитов росло число акантоцитов и еще больше уменьшалось количество нормоцитов, что указывало на интоксикацию и снижение защитных проявлений (таблица). Отмечалось большое число эритроцитов со средним и малым диаметрами центральных неокрашенных мест; появлялись разрушенные клетки нейтрофилов и лимфоцитов. «Биологическая сетка» тромбоцитов не отмечалась.

В пятой группе наблюдений исследования показали, что ксенобиотики в дозе 0,25 г/кг приводят к значительному росту числа акантоцитов (таблица), снижению площади центральных неокрашенных мест на поверхности эритроцитов, отсутствию «биологической сетки» тромбоцитов и росту гигантских их форм. У нейтрофилов отмечены: рост гетерохроматина в сегментах ядра (что указывает на заметное снижение защитных способностей), появление большого числа разрушенных клеток, пикноз сегментов ядра, значительное снижение адгезии и клазматоза. У лимфоцитов наблюдались:

рост гетерохроматина в ядре, пикноз ядра, значительное снижение явления адгезии и клазматоза, рост числа разрушенных клеток.

Проведенные экспериментальные исследования методом морфологического анализа относительно действия различных доз ксенобиотиков на организм животного показали значимость дозы и особенность ее действия на форменные элементы крови.

Высокие дозы фенола, гидрохинона и, особенно 4-нитрофенола (0,25 и 0,125 г/кг) оказывали повреждающее действие на форменные элементы крови. Так, наблюдались: значительный рост числа акантоцитов, снижение площади центральных неокрашенных мест на поверхности эритроцитов, отсутствие адгезии и явления клазматоза, отсутствие «биологической сетки» со стороны тромбоцитов, рост разрушенных нейтрофилов и лимфоцитов, превалирование гетерохроматина в ядрах нейтрофилов и лимфоцитов, темная окраска цитоплазмы и т.д.

Малые дозы (0,06 г/кг) названных выше химических соединений, особенно, гидрохинона, не оказывали повреждающее действие на форменные элементы крови. Во всех случаях имели место: увеличение числа нормоцитов, резкое понижение числа акантоцитов, незначительный рост числа микроцитов, появление адгезии.

Поскольку форменные элементы крови принимают участие в обеспечении тканей организма кислородом и формировании иммунного статуса, выявленные нами морфологические изменения в форменных элементах крови могут свидетельствовать об изменении иммунной реактивности под влиянием исследуемых ксенобиотиков.

Таким образом, на основании проведенного исследования можно заключить, что изученные ксенобиотики нарушают показатели углеводного, белкового, липидного обменов и морфологию форменных элементов крови, что может обуславливать нарушение иммунного статуса и адаптации организма к различным факторам окружающей среды.

Характер и степень повреждающего воздействия ксенобиотиков зависит от их химической структуры и дозы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Сутковой В.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. Киев: «Чернобыльинтеринформ»; ч. I: 1997; 203.
2. Кушманова О.Д., Ивченко Г.М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. М.: «Медицина»; 1983; 272.
3. Рамвелл П.В., Шеррат Г.С.А., Леонард В.Е. Физиология и фармакология фенольных соединений в животных организмах. В кн.: Дж. Харборн. Биохимия фенольных соединений. М.: «Мир»; 1968: 355-392.
4. Aboul Dehab O. Phenolic compounds in two different coastal environments. *Fresenius Environ.* 1996; 5: 264-269.
5. Agarry S.E., Durojaiye A.O., Solomon B.O.. Microbial degradation of phenols: a review. *International journal of Environment and pollution* 2008; 32 (1); 12-28.
6. Ajay K. Jain, Vinod K. Gupta, Shubhi Jain, and Suhas. Removal of chlorophenols using industrial wastes. *Environ. Sci. Technol.* 2004; 38(4): 1195-1200.
7. Arziani B., Thalakvadze T., Chikhladze Ts., Kobakhidze M. Biodegradation of some exogenous phenols in rats. *Bulletin of the Georgian Academy of Sciences* 2002; 1: 116-119.
8. Arziani B., Ugrekhelidze D., Kvesitadze G. Detoxication mechanism of exogenous monoatomic phenols in pea seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2002; 51: 85-89.
9. Bartels M.J., Mcnett D.A., Timchalk C., Mendrala A.L., Christenson W.R., Sangha G.K., Brzak K.A., Shabrang S.N. Comparative metabolism of ortho-phenylphenol in mouse, rat and man. *Xenobiotica* 1998; 28 (6): 579-594.
10. Bukowska B., Kowalska S. Phenol and catechol induce prehemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. *Toxicology Letters* 2004; 1: 73-84.
11. Fleegeer J.W., Carman K.R., Nisbet R.M.. Indirect effect of contaminants in aquatic ecosystem. *Science Total Environments* 3170: 207-233.
12. Gaskell M., McLuckie K.K., Farmer P. Genotoxicity of the benzene metabolites parabenzoquinone and hydroquinone. *Chemico-Biological Interactions* 2005; 153-154, 267-270.
13. Gianfreda L., Iamarino, G., Scelza R., Rao M. A. Oxidative catalysts for the transformation of phenolic pollutants: a brief review. *Biocatalysis and biotransformation* 2006; 24(3): 177-187.
14. Mehta R., Hiron P.C., Millburn P. Influence of dose on the pattern of conjugation of phenol and 1-naphthol in non-human primates. *Xenobiotica* 1978; 7: 445-452.
15. Patnaik P., Khoury J.N. Reaction of phenol with nitrite ion: pathways of formation of nitrophenols in environmental waters. *Water Research.* 2004; 1: 206-210.
16. Schoemacker W.C. Pathophysiologic mechanism in Shock and their therapeutic implication. *Amer. J.Surg.* 1965; 110 (3): 337-341.
17. Thomas G., Ramwell P.W. Oxygen radical regulation of vascular reactivity. Eicosanoids, lipid peroxidation and cancer. Eds S.K. Nygan etc. Berlin. Springer; 1988: 161-167.
18. Westerhof W., Kooyers T.J. Hydroquinone and its analogues in dermatology – a potential health risk. *Jornal of Cosmetic Dermatology* 2005; 2: 55-59.

## SUMMARY

### INFLUENCE OF SOME SIMPLE PHENOLS ON BIOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL INDICES OF RAT BLOOD

Arziani B., Chikhladze Ts., Gumbaridze N., Lekishvili G.

*Tbilisi State Medical University, Department of Medical Chemistry*

Influence of various doses of xenobiotics on several biological and morphological indices of rat blood has been studied. It was established that intraperitoneal injections of the investigated phenols resulted in effect on biochemical indices of rat blood, specific to the particular phenolic compound. The strongest effect was observed in case of 4-nitrophenol and the weakest one was in case of hydroquinone; it witnesses for strong toxicity of 4-nitrophenol and for antioxidant properties of hydroquinone. Influence of various doses of phenol, 4-nitrophenol

and hydroquinone on change of structural indices of the constituents of blood has been studied. Importance of the immune system for selection of adaptation pathways of organism has been demonstrated. Correlation between enteral concentration of the investigated phenols and several biochemical and morphological indices of blood has been established.

**Key words:** phenol, 4-nitrophenol, hydroquinone, glucose, protein,  $\beta$ -lipoprotein, formed element.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ ПРОСТЫХ ФЕНОЛОВ НА НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У КРЫС

Арзиани Б.А., Чихладзе Ц.К., Гумбаридзе Н.Г., Лекишвили Г.Н.

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент медицинской химии*

Исследовано влияние различных доз ксенобиотиков на некоторые биохимические и морфологические показатели крови у крыс. Установлено, что при интраперитонеальном введении исследуемых фенолов каждый из них специфически влияет на биохимические показатели крови. При этом самое сильное воздействие отмечается со стороны 4-нитрофенола, а самое слабое – гидрохинона, что указывает на сильные токсические свойства 4-нитрофенола и антиоксидантные

свойства гидрохинона. Изучено влияние различных доз фенола, 4-нитрофенола и гидрохинона на изменение структурных показателей форменных элементов крови. Показана значимость иммунной системы в выборе адаптационных возможностей организма. Установлена корреляция между концентрацией введенных в животный организм исследуемых фенолов и некоторыми биохимическими и морфологическими показателями крови.

#### რეზიუმე

მარტივი ფენოლების გავლენა სისხლის ცალკეულ ბიოქიმიურ და მორფოლოგიურ მახასიათებლებზე ვირთაგვებში

ბ. არზიანი, ც. ჩიხლაძე, ნ. გუმბარიძე, გ. ლეკიშვილი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, სამედიცინო ქიმიის დეპარტამენტი

შესწავლილია ზოგიერთი ქსენობიოტიკის განსხვავებული დოზების გავლენა სისხლის ცალკეულ ბიოქიმიურ და მორფოლოგიურ მახასიათებლებზე ვირთაგვებში. დადგენილია, რომ საკვლევი ფენოლების ინტერპერიტონული შეყვანა იწვევს თითოეული ფენოლისათვის სპეციფიურ ეფექტს სისხლის მახასიათებლებზე. ამასთან, ყველაზე ძლიერი ეფექტი გამოწვეულია 4-ნიტროფენოლის, ხოლო ყველაზე სუსტი – ჰიდროქინონის შეყვანით, რაც მიუთითებს 4-ნიტროფენოლის ძლიერ ტოქსიკურ თვისე-

ბებსა და ჰიდროქინონის ანტიოქსიდანტურ აქტივობაზე. შესწავლილია 4-ნიტროფენოლის და ჰიდროქინონის დოზირების გავლენა სისხლის ფორმირების ელემენტების სტრუქტურულ მახასიათებლებზე. ნაჩვენებია იმუნური სისტემის ქმედუნარიანობა ორგანიზმის საადაპტაციო მექანიზმების შერჩევით. დადგენილია კორელაცია ცხოველებში შეყვანილი საკვლევი ფენოლების კონცენტრაციისა და სისხლის ბიოქიმიურ და მორფოლოგიურ მახასიათებლებს შორის.

## ОСОБЕННОСТИ АТЕРОСКЛЕРОЗА КРУПНЫХ СОСУДОВ, РАЗВИТЫХ НА ФОНЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ С УЧЕТОМ НЕКОТОРЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ

Эмухвари М.Г., Ахвледиани М.В., Букия Т.Ш., Шарашидзе Н.А., Воробьева Е.О.

Научно-исследовательский институт клинической медицины, Тбилиси;  
Государственный медицинский университет, Тбилиси

Последнее время бытует мнение о полиэтиологической природе атеросклероза. Существуют данные о связи этого заболевания с бактериальными и вирусными инфекциями. Предполагается инфицирование кровеносных сосудов хламидиями, в частности *Chlamydia pneumoniae*, так как этот микроб выявляется в тканях артерий, пораженных атеросклерозом, а серопозитивность по отношению к *Chlamydia pneumoniae* коррелирует с утолщением интима-медиального слоя стенки кровеносных сосудов [2,3,12,16-21].

Высокая частота распространения хламидийных инфекций в Грузии придает большую актуальность исследованию связи между атеросклерозом и хламидийными инфекциями [2-4,8].

Вместе с тем, в литературе существуют данные, которые свидетельствуют против существования причинно-следственной связи между атеросклерозом и хламидийными инфекциями [17-19]. Следовательно, этот вопрос требует дальнейшего исследования.

Методами клинической биохимии изучена связь липидов и белков крови с атеросклеротическим поражением кровеносных сосудов [1,7,9-13]. Вместе с тем, следует уточнить связь функционально-метаболических особенностей цитокинов, нейтрофилов и моноцитов с атеросклерозом. Сведения литературы по данному вопросу противоположны [1,7,9-13,16].

*Chlamydia pneumoniae* является серьезным патогенетическим агентом внебольничных атипичных пневмоний. Атипичные пневмонии у детей, вызванные *Chlamydia pneumoniae*, встречаются как у новорожденных, так и у грудных детей и в юношеском возрасте, хотя чаще всего атипичные пневмонии встречаются в возрасте 7-15 лет. Показано, что колонизация стенок артерий *Chlamydia pneumoniae* нарушает гомеостаз эндотелия кро-

веносных сосудов и приводит к развитию атеросклеротического процесса и образованию хронической сосудистой патологии. Предполагают, что указанным явлениям содействует многократное реинфицирование и также развитие хронического процесса в раннем возрасте, с последующей вялотекущей аутоиммунной реакцией и образованием воспалительного процесса [12,13,18].

Все сказанное выше приводит к предположению о связи развития атеросклероза у взрослых с их инфицированием хламидиями в раннем возрасте.

Целью исследования явилась разработка диагностически информативных критериев гематологических и биохимических исследований и их комбинаций для установления единых оснований атеросклероза крупных сосудов, патогенеза атеросклероза и воспалительных процессов, а также выявление связи инфицирования *Chlamydia pneumoniae* в раннем возрасте с атеросклерозом. Исследование данного вопроса будет содействовать выработке нового подхода к лечению пациентов, инфицированных хламидиями в раннем возрасте и принятию превентивных мер развития атеросклероза.

**Материал и методы.** Рабочий материал составили 132 пациента, 96 мужчин (63,9%) и 36 женщин (36,1%). Исследования проводились, в основном, рандомизированно. II-IV функциональный класс стенокардии был установлен у 67-и пациентов (54,9%), гипертоническая болезнь – у 87-и (71,3%) больных. Пациенты были разделены на три группы. I группу составили 44 пациента, которым диагностировали различные формы хронической ишемической болезни сердца (ИБС). Средний возраст был  $55,7 \pm 1,6$  лет. Во II группу объединили 40 пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией, которым также диагностировали стеноз каротидных артерий различной степени, на основании этого данная группа была разделена на

две подгруппы. III группу составили 38 пациентов с перенесенным ишемическим инсультом, у которых отмечались остаточные явления нарушения мозгового кровообращения. В данной группе 28-и (73,9%) пациентам сопутствующим заболеванием

диагностировали гипертоническую болезнь (II-III стадия). По степени стеноза каротидных артерий указанная группа также была разделена на две подгруппы. Контрольная группа состояла из 42-х практически здоровых лиц (таблица 1).

Таблица 1. Распределение пациентов по возрасту и группам

Группы	Общее количество	Пол		Средний возраст	
		Мужской	Женский	Мужчины	Женщины
Атеросклеротическое поражение восходящей аорты (I группа)	44	27	17	55,7±1,6	61,1±1,6
Каротидный атеросклероз (II группа): подгруппа I: степень стеноза <50%	40	29	11	54,8±2,9	
подгруппа II: степень стеноза >50%	20	13	7		
Атеросклероз восходящей аорты и каротидных артерий (III группа): I подгруппа: степень стеноза <50% (гемодинамически незначительная)	38	30	8	64,39±1,6	
II подгруппа: степень стеноза >50% (гемодинамически значительная)	20	10	10		
Контрольная группа	42	26	16	52,3±1,4	

Эхокардиографические исследования проводились ультразвуковым сканером «ACUSON CV70» с передатчиком частоты 2-4 МГц. Дуплекс-сканирование каротидных артерий производили ультразвуковым сканером «ACUSON CV70» 5-10 МГц с линейным передатчиком частоты в режиме импульсного доплера. В трансверсивных и продольных срезах измеряли степень стеноза. Степень стеноза меньше 50% оценивалась как гемодинамически незначительная, больше 50% - как ге-

модинамически значительная. Интима-медиальный слой (ИМС) исследовали на 200 мм проксимально от бифуркации общей сонной артерий. ИМС считали утолщенным, когда его толщина превышала 1 мм. В случае необходимости (в условиях лоцирования атеросклеротической бляшки) изображение увеличивали по программе Expand.

По толщине ИМС пациенты составили следующие группы (таблица 2).

Таблица 2. Группы пациентов по толщине ИМС

Группы пациентов	Подгруппы пациентов	Толщина ИМС, мм	Количество пациентов, %
II	I	1,2±0,28	85,8
		<1	14,2
	II	1,23±0,21	86,3
		>1,3	13,7
III	I	1,23±0,18	26,6
	II	1,30±0,23	100

При исследовании периферической крови подсчитывали общее количество лейкоцитов, формулу лейкоцитов и внутриклеточные ингредиенты полиморфноядерных нейтрофилов (ПМН). Внутри-

клеточный метаболизм нейтрофилов определяли цитохимическими компонентами. В частности, определяли активность миэлопероксидазы и содержание фосфолипидов и гликогена. Гликоген

выявляли по методу Шабдаша. Для определения фосфолипидов использовали метод обработки препаратов Шихан-Сторра. Метод Грехема-Кнолля использовали для определения активности пероксидазы. Цитохимические реакции оценивали количественным методом с вычислением среднего цитохимического коэффициента (СЦК).

Для исследования цитокинов в сыворотке крови использовали метод ELISA. Реагенты представляли комплект DIACLONE (Франция). Определяли интерлейкины (IL-1, IL-10) и фактор некроза опухоли TNF- $\alpha$ .

Для количественной оценки антител *Chlamedia Pneumoniae* в сыворотке крови исследовали IgM da IgG с использованием метода ELISA и реагентов R-Biopharm комплектом AG (Германия).

Липиды различных классов - общий холестерол (ОХ), холестерол липопротеинов низкой и высокой плотности (ХЛНП и ХЛВП), аполипопротеины А и В (Апо-А и Апо-В), а также триглицериды (ТГ) определяли по методам, рекомендованным

международной федерацией клинической химии. Исследование проводили с помощью биохимического анализатора «COBAS INTEGRA 400 PLUS» (ROCHE DIAGNOSTICS, Швейцария).

Полученные данные обрабатывали современными методами статистической вариации (программное обеспечение Windows, SPSS) с фортированием в Excel. Из статистических измерений была использована выборочная средняя арифметическая М, средняя арифметическая ошибка m, среднее стандартное отклонение  $\sigma$ . Для установления достоверности разницы между средними арифметическими использовали критерий Стьюдента t. При  $p > 0,5$  - разница недостоверна, а  $p < 0,05$  – разница достоверна.

**Результаты и их обсуждение.** *Изменение гематологических и биохимических показателей у пациентов с ИБС при атеросклеротическом поражении восходящей аорты.*

Все лабораторные параметры 42-х испытуемых контрольной группы не выходили за рамки общепринятой нормы.

Таблица 3. Лабораторные показатели контрольной группы

Лабораторные показатели крови	Пациенты с серопозитивностью по отношению IgG и IgM
Лейкоциты	6,46 $\pm$ 0,32 $\cdot$ 10 <sup>9</sup> /л
Нейтрофиллы%	
Абсолютное количество нейтрофилов	4,35 $\pm$ 0,3 $\cdot$ 10 <sup>9</sup> /л
Моноциты %	5,4 $\pm$ 0,33 $\cdot$ 10 <sup>9</sup> /л
Абсолютное количество моноцитов	0,35 $\pm$ 0,03 $\cdot$ 10 <sup>9</sup> /л
Фосфолипиды	1,6 $\pm$ 0,048
Гликоген	2,68 $\pm$ 0,027
Миэлопероксидаза	2,130 $\pm$ 0,073
Общий холестерол	4,59 $\pm$ 0,13 ммоль/л
Холестерол ЛВП	1,43 $\pm$ 0,03 ммоль/л
Холестерол ЛНП	1,743 $\pm$ 0,106 ммоль/л
Триглицериды	1,124 $\pm$ 0,096 ммоль/л
Апо-А	172,1 $\pm$ 4,72 Мг/дл
Апо-В	113,21 $\pm$ 5,1 ммоль/л
IL-1	1,19 $\pm$ 0,028 пг/мл
IL-10	25,4 $\pm$ 0,7 пг/мл
TNF- $\alpha$	4,0 $\pm$ 0,2 пг/мл

Анализ гематологических и биохимических параметров показал, что у больных ИБС при атеросклеротическом поражении восходящей аорты и каротидных

артерий имеют место разнообразные изменения внутриклеточного метаболизма ПМН, липидного спектра крови и интерлейкинов (таблица 4).

Таблица 4. Изменения лабораторных параметров у больных с ИБС при атеросклеротическом поражении крупных сосудов

Лабораторные показатели крови	Атеросклероз восходящей аорты	Атеросклеротическое поражение каротидных артерий		Атеросклеротическое поражение восходящей аорты и каротидных артерий	
		I подгруппа	II подгруппа	I подгруппа	II подгруппа
Лейкоциты	7,55±0,17	7,11±0,30	7,29±0,42	7,51±0,4	7,92±0,25
Нейтрофилы,%	73,0±0,32%	74,0±0,30	74,0±0,30	73,6±0,31	74,1±0,3
Абсолютное количество нейтрофилов	5,5±0,13	7,11±0,30	5,4±0,3	5,53±0,3	5,87±0,2
Моноциты %	12,2±0,2	11,3±0,3	13,4±0,3	10,9±0,2	12,8±0,3
Абсолютное количество моноцитов	0,92±0,02	0,8±0,039	0,97±0,06	0,81±0,045	0,97±0,06
Фосфолипиды	2,64±0,03	2,542±0,039	2,671±0,041	2,71±0,38	2,96±0,04
Гликоген	3,317±0,04	3,238±0,061	3,47±0,041	3,597±0,03	3,667±0,02
Миэлопероксидаза	3,72±0,5	3,7±0,017	3,7±0,02	3,92±0,036	3,98±0,043
Общий холестерол	6,2±0,077	6,47±0,08	8,18±0,23	6,58±0,22	7,34±0,049
Холестерол ЛВП	0,91±0,022	1,05±0,03	1,05±0,021	1,09±0,03	0,92±0,02
Холестерол ЛНП	4,02±0,177	5,54±0,97	5,54±0,98	4,075±0,13	5,322±0,114
Триглицериды	1,689±0,094	2,50±0,03	2,48±0,1	1,690±0,08	3,169±0,068
Апо-А	171,6±4,72	109,5±0,9	100,4±0,9	109,2±1,0	107,6±1,2
Апо-В	256,1±2,6	249,4±0,7	259,1±0,7	251,2±1,4	258,2±3,0
IL-1	37,31±0,2	38,49±0,3	43,33±0,81	43,21±0,57	60,22±0,85
IL-10	18,3±0,4	17,5±0,5	15,3±0,6	13,2±0,5	11,2±0,7
TNF-α	5,8±0,4	6,1±0,5	7,0±0,3	7,4±0,8	8,4±0,3

Общее количество лейкоцитов приближалось к аналогичному показателю контрольной группы ( $p>0,05$ ).

Процентное количество нейтрофилов было увеличено, а абсолютное количество недостоверно превышало контрольный показатель. Количество моноцитов было увеличено на 55,7% по сравнению с контрольным показателем, а абсолютное количество этих клеток выросло на 62,3%, хотя разница не была достоверной ( $p>0,5$ ). СОЭ имела тенденцию к росту по сравнению с контролем ( $p<0,05$ ), хотя указанный параметр оставался в рамках нормы.

Изучение метаболической активности ПМН показало, что СЦК фосфолипидов был увеличен по сравнению с нормой. СЦК гликогена ПМН вырос на 19,2%. СЦК миэлопероксидазы был увеличен по сравнению с контрольным показателем.

Количество ОХ по сравнению с контролем (4,59±0,13) выросло умеренно на 26%.

ЛВП по сравнению с контролем было уменьшено на 56,7% ( $p<0,05$ ). В противоположность антиатерогенного ХЛВП, ХЛНП в указанной подгруппе был увеличен достоверно ( $p<0,05$ ) по сравнению с контрольным параметром(1,74±0,106). Количество ТГ было увеличено на 33,5% по сравнению с контрольным показателем. Количество Апо-А было уменьшено только на 0,5% по сравнению с контролем и разница между этими двумя показателями была недостоверной ( $p>0,5$ ). У больных ИБС показатель Апо-В был увеличен на 55,8% по сравнению с контролем ( $p<0,05$ ).

Концентрация IL-1β была резко увеличена а IL-10 - уменьшена. TNF-α у пациентов с атеросклеротическим поражением восходящей аорты был значительно увеличен по сравнению с контрольным показателем ( $p<0,05$ ).

*Изменения гематологических и лабораторных показателей у больных дисциркуляторной энцефалопатией при атеросклеротическом поражении крупных кровеносных сосудов.*

Общее количество лейкоцитов у пациентов III подгруппы не превышало достоверно ( $p > 0,5$ ) аналогичный показатель контрольной группы ( $6,46 \pm 0,324 \cdot 10^9/\text{л}$ ). В то же время изменение абсолютного количества нейтрофилов было аналогичным такового у лейкоцитов ( $p > 0,5$ ). Процентное количество моноцитов по сравнению с контролем ( $5,4 \pm 0,3\%$ ) было достоверно увеличено ( $p < 0,05$ ). Что касается абсолютного количества этих клеток, оно было также увеличено. СОЭ по сравнению с контрольным показателем ( $5,2 \pm 0,43$ ) было увеличено незначительно и к тому же, не превышало нормальный уровень.

Исследование внутриклеточного метаболизма лейкоцитов показало, что в I подгруппе СЦК фосфолипидов значительно превышало контрольный показатель ( $p < 0,05$ ). СЦК гликогена в ПН увеличился достоверно ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем ( $2,68 \pm 0,027$ ). Изучение активности ферментов, локализованных в цитоплазме ПН показало, что СЦК активности миелопероксидазы в I подгруппе был значительно выше контрольного показателя ( $2,13 \pm 0,073$ ) с высокой степенью достоверности ( $p < 0,05$ ).

Исследование липидного статуса сыворотки крови выявило увеличение количества ОХ по сравнению с контролем. Атерогенная фракция липопротеинов – ХЛВП была уменьшена ( $p < 0,5$ ) по сравнению с контролем ( $1,43 \pm 0,035$  ммоль/л.), а антиатерогенная фракция ХЛНП оказалась увеличенной. Количество ТГ было на 54,5% больше по сравнению с контролем ( $p < 0,5$ ). Количество Апо-А в I подгруппе было резко уменьшено, Апо-В - увеличено достоверно ( $p < 0,05$ ).

Определение концентрации интерлейкинов показало, что ИЛ-1 $\beta$  не превышал контрольный показатель ( $p > 0,5$ ). ИЛ-10, был увеличен недостоверно по сравнению с контролем ( $p > 0,5$ ). TNF- $\alpha$  была достоверно увеличена.

При дисциркуляторной энцефалопатии у больных с гемодинамически значительным стенозом каротидных артерий количество лейкоцитов не отличалось от контрольного показателя ( $p > 0,5$ ), но по сравнению с показателем I подгруппы было

увеличено на 2,5%. СОЭ в данной подгруппе была достоверно увеличена на 10,9% по сравнению с показателем предшествующей подгруппы. Абсолютное количество нейтрофилов по сравнению с контрольным показателем выросло на 18,7% ( $p > 0,5$ ), а по сравнению с показателем I подгруппы – уменьшилось на 3,0%. Процентное количество нейтрофилов во II подгруппе было идентичным показателям I подгруппы. Как процентное, так и абсолютное количество моноцитов было увеличено как по сравнению с контролем, так и предшествующей группой ( $p < 0,05$ ).

Величина СЦК фосфолипидов в цитоплазме была увеличена ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем ( $1,6 \pm 0,048$ ), хотя по сравнению с аналогичным показателем первой подгруппы ( $2,542 \pm 0,039$ ) увеличивался лишь на 1,1%. СЦК гликогена в ПМН был увеличен достоверно ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольным показателем ( $2,68 \pm 0,027$ ), а по сравнению с подгруппой I был увеличен на 6,8%. Во II подгруппе СЦК активности миелопероксидазы был значительно увеличен ( $p < 0,05$ ). Разница между I и II подгруппами по этому показателю составила 8,82%.

Изучение липидного спектра крови показало, что количество ОХ в II подгруппе было увеличено на 43,9% по сравнению с контролем ( $4,59 \pm 0,133$  ммоль/л.) и эта разница была достоверной ( $p < 0,05$ ). Во II подгруппе указанный показатель был увеличен на 20,9% по сравнению с I подгруппой. Определение антиатерогенной фракции липидов – ХЛВП показало, что этот параметр во II подгруппе был уменьшен на 36,5% ( $p < 0,05$ ), тогда как по отношению к аналогичному показателю в I подгруппе, уменьшался только на 0,5%.

ТГ во II подгруппе достоверно увеличился ( $p < 0,05$ ). Количество Апо-А незначительно уменьшалось по сравнению с контролем ( $172,07 \pm 4,72$  мг/дл). Следует отметить, что количество Апо-А в обеих группах изменялось одинаково. Что касается Апо-В, его количество было достоверно и резко увеличено ( $p < 0,05$ ). Во II подгруппе этот показатель превышал аналогичный параметр I подгруппы на 3,7%.

ИЛ-1 $\beta$  был увеличен по сравнению с контрольным показателем ( $1,19 \pm 0,028$  пг/мл.). По сравнению с предшествующей группой количество ИЛ-1 $\beta$  оказалось увеличенным на 11,2%. ИЛ-10 значительно

отличался от контрольного показателя ( $p < 0,05$ ), а по сравнению с I подгруппой было зафиксировано уменьшение его количества на 14,8%. TNF- $\alpha$  была увеличена на 42,2% по сравнению с контролем, хотя незначительно отличалась от аналогичного показателя I подгруппы.

*Изменения гематологических и биохимических параметров у пациентов, перенесших ишемический инсульт при атеросклеротическом поражении сонных артерий и восходящей аорты.*

Общее количество лейкоцитов в I подгруппе достоверно отличалось от контроля ( $p > 0,5$ ). Процентное количество нейтрофилов по сравнению с контролем было увеличено на 10,8%, а абсолютное количество на 50% ( $p > 0,05$ ).

СЦК фосфолипидов в I подгруппе статистически достоверно отличался от контрольного показателя ( $1,6 \pm 0,048$ ). СЦК гликогена, локализованного в цитоплазме ПМН, значительно увеличен по сравнению с контрольной величиной ( $2,68 \pm 0,027$ ). СЦК миэлопероксидазы также превосходил контрольный показатель ( $2,13 \pm 0,073$ ).

ОХ был выше такового в контрольной группе ( $p < 0,05$ ), ХЛВП был уменьшен, а ХЛНП наоборот – увеличен. Показатель атерогенной фракции липидов достоверно отличался от аналогичного показателя контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Количество АПО-А уменьшалось, а АПО-В увеличивалось значительно ( $p < 0,05$ ).

В I подгруппе IL-1 $\beta$  увеличивался значительно по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). IL-10 в I подгруппе оказался уменьшенным ( $p < 0,05$ ). TNF- $\alpha$  в данной группе больных была намного больше контрольной величины.

Во второй подгруппе общее количество лейкоцитов, абсолютное количество нейтрофилов, процентное содержание нейтрофилов и моноцитов было значительно выше контрольного показателя ( $p < 0,05$ ). СОЭ была выше контрольного показателя на 55,5%.

СЦК фосфолипидов достоверно ( $p < 0,05$ ) отличался от контрольного показателя ( $1,6 \pm 0,048$ ). По сравнению с I подгруппой, указанная величина выросла на 8,7%. СЦК гликогена был увеличен ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной величиной

( $2,68 \pm 0,027$ ). По сравнению с предшествующей группой этот показатель был увеличен лишь на 1,9%. Изменения ферментной активности ПМН в группе носили следующий характер – СЦК миэлопероксидазы был увеличен достоверно ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольным показателем.

У больных перенесших инсульт, при гемодинамически значительном стенозе, определение липидного статуса крови показало, что количество ОХ было значительно выше контрольной величины ( $4,59 \pm 0,133$ ). По сравнению с I подгруппой, указанный параметр был увеличен на 10,4%. ХЛВП был достоверно уменьшен ( $p < 0,05$ ) в анализируемой группе по сравнению с контрольным показателем ( $1,43 \pm 0,035$  ммоль/л), а по сравнению с I подгруппой был уменьшен на 18,4%. ХЛНП изменялся своеобразно. В частности, резко увеличивался ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем ( $1,74 \pm 0,106$  ммоль/л), а в сравнении с I подгруппой нарастал на 23,4%. Среднее количество ТГ во II подгруппе больных было увеличено по сравнению с контрольным показателем.

Характер изменения апопротеинов соответствовал ХЛНИ и ХЛВП показателям. В частности, количество Апо-А по сравнению с контрольным показателем ( $172 \pm 0,07$  мг/дл) был уменьшен, и по отношению с данной величиной в первой подгруппе – был меньше на 1,5%.

Количество Апо-В превышало ( $p < 0,05$ ) контрольный показатель ( $113,2 \pm 5,091$  пг/мл), хотя следует отметить, что по сравнению с показателями первой подгруппы был увеличен только на 2,7%.

Концентрация проинфламаторного интерлейкина во II подгруппе больных была резко увеличена по сравнению с контролем ( $1,19 \pm 0,028$  пг/мл.), в то время как количество антиинфламаторного IL-10 было уменьшено. По сравнению с показателями предшествующей подгруппы данные величины увеличились на 28,3% и уменьшились на 17,9% соответственно. TNF- $\alpha$  была достоверно выше контрольного показателя.

Полученные нами данные дают основание предположить, что во время ИБС имеет место воспалительный процесс, индикатором которого должно служить изменение лабораторных параметров крови, в частности увеличение количества лейко-

цитов и нейтрофилов. Увеличение количества нейтрофилов еще раз подтверждает правомерность предположения о полиэтиологической природе атеросклероза [10-12].

Увеличение количества холестерина в крови испытуемых больных, согласуется с данными литературы об увеличении уровня холестерина на фоне ИБС [12-14]. Наличие аполипопротеинов считается риск-фактором атеросклероза. Полученные нами данные подтверждают распространенное мнение о том, что Апо-В является обязательным компонентом атерогенных липопротеинов и представляет собой фактор, способствующий развитию заболевания коронарных сосудов и что высокое содержание этого вещества в плазме крови достоверно коррелирует с инфарктом миокарда.

С клинической точки зрения можно выделить наиболее сложный вариант ИБС – атеросклеротическое поражение восходящей аорты и каротидных артерий. Сравнивая результаты анализа крови этих больных с показателями пациентов с атеросклеротическим поражением восходящей аорты и больных с дисциркуляторной энцефалопатией, можно заключить, что в большинстве случаев, отклонение от нормы параметров крови отчетливее проявляется у больных с атеросклеротическим поражением восходящей аорты и каротидных артерий.

*Гематологические и биохимические показатели у больных с положительной реакцией на Chlamydia pneumoniae.* Нами отдельно была образована группа больных ИБС, у которых была выявлена положительная реакция на IgG да IGM, что указывает на наличие инфекций *Chlamydia pneumoniae*.

Таблица 5. Пациенты, серопозитивные по отношению к *Chlamydia pneumoniae*

Группы больных	Общее кол-во	IgG – серопозитивные		IGM – серопозитивные	
		женщины	мужчины	женщины	мужчины
Атеросклеротическое поражение восходящей аорты (I группа)	3	1	2	-	2
II группа – дисциркуляторная энцефалопатия:					
I подгруппа (степень <50%)	8	3	5	-	-
II подгруппа (степень стеноза >50%)	8	4	4	-	-
III подгруппа – атеросклероз восходящей аорты и каротидных артерий					
I подгруппа (степень <50%)	7	3	4	-	-
II подгруппа (степень стеноза >50%)	8	4	4	-	-
Общий показатель для всех групп	34	15	19	-	2

Из таблицы 5 видно, что во всех трех группах испытуемых отмечена серопозитивность по отношению к IgG. Серопозитивность по отношению к IgM выявлена только в первой группе больных. Все больные указанных групп были исследованы по биохимическим и иммунологическим параметрам крови.

У больных хламидиозом, почти все параметры крови, отличающиеся от контрольных показателей, количественно превосходили соответствующие величины групп больных, у которых не был подтвержден диагноз хламидийной инфекции. Таким образом, можно увидеть определенную связь между клиническими параметрами атеросклероза, параклиническими параметрами и хламидиозом.

Исходя из литературных данных, а также на основании результатов собственных исследований, мы предполагаем, что желательным включением антибиотикотерапии для лечения ИБС. В то же время, следует подчеркнуть, что когда у больного проявляется серопозитивность по отношению к IgG и IgM иммуноглобулинов, и, следовательно, есть основание предполагать наличие хламидийной инфекции, включение антибиотиков в курс лечения является необходимой мерой терапии.

Включение антибиотиков в курс лечения желательно и в том случае, когда не удастся обнаружить антитела, так как иммунохимический анализ на наличие антител может дать отрицательный результат и в случае хламидийной инфекции. Это

предположение подтверждают данные литературы, согласно которым на фоне хламидийной ин-

фекции антитела, в определенных случаях, могут быть не обнаружены [8,12].

Таблица 6. Изменение биохимических и иммунологических параметров при серопозитивной реакции на IgG и IgM- *Chlamidia pneumoniae*

Лабораторные показатели крови	Пациенты с серопозитивностью по отношению к IgG и IgM
Лейкоциты	8,0±0,12
Нейтрофиллы%	74,1±0,01
Абсолютное количество нейтрофилов	5,9±0,3
Моноциты %	13,5±0,1
Абсолютное количество моноцитов	0,1±0,02
Фосфолипиды	3,0±0,05
Гликоген	3,7±0,1
Миэлопероксидаза	4,0±0,03
Общий холестерол	8,2±0,01
Холестерол ЛВП	0,92±0,1
Холестерол ЛНП	6,12±0,8
Триглицериды	3,2±0,04
АПО-А	101,3±1,01
АПО-В	259,8±2,21
IL-1	61,0±0,7
IL-10	11,1±0,6
TNF-α	8,6±0,1

Гематологические и биохимические показатели у больных с серопозитивностью к *Chlamydia pneumoniae* и повторяющимися пневмониями в анамнезе, в раннем возрасте.

Мы изучили анамнез больных с серопозитив-

ностью к *Chlamydia pneumoniae* и установили, болели ли они пневмонией в раннем возрасте. Оказалось, что часть пациентов (n=13) несколько раз болели пневмонией в возрасте 8-16 лет.

Таблица 7. Частота заболевания пневмонией относительно пола, возраста и диагноза

Пациенты	Количество	Диагноз	Качество стеноза артерии	Случаи заболевания пневмонией	
				количество	Возраст в период заболевания
Женщины	-	Атеросклероз восходящей аорты	-	-	-
Мужчины	1		>50	3-4	7-15
Женщины	-	Дисциркуляторная энцефаллопатия	-	-	-
Мужчины	1		>50	4	9-17
Женщины	6	Атеросклероз восходящей аорты и сонных артерий	>50	3-5	7-15
Мужчины	20		>50	3-4	7-15

Из таблицы 7 видно, что у пациентов с серопозитивностью к *Chlamydia pneumoniae* были отмечены случаи заболевания пневмонией в раннем возрасте. Среди трех больных с атеросклерозом восходящей аорты пневмония была отмечена у 1-го (33,3%), среди 16-и

пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией – у 1-го (18,7%), а в 35-и случаях атеросклероза восходящей аорты и сонных артерий – у 26-и (74,2%) больных. У всех больных отмечена гемодинамически значительная степень стеноза сонных артерий.

Параметры крови пациентов с ИБС на фоне хламидийной инфекции значительно отличаются от параметров крови больных с ИБС без хламидиозной инфекции. В частности, у больных с ИБС на фоне хламидиозной инфекции количество нейтрофилов и лейкоцитов, СЦК фосфолипидов, гликогена и

миэлопероксидазы, а также количество холестерина липопротеинов низкой плотности, триглицеридов, АПО-В и концентрация некротического фактора опухоли и проинфламаторного интерлейкина 1 $\beta$  превосходят аналогичные параметры крови больных ИБС без хламидиозной инфекции.

Таблица 8. Сравнение параметров крови пациентов с пневмонией в анамнезе и без пневмонии

Лабораторные показатели крови	Пациенты без пневмонии в анамнезе	Пациенты с несколькими случаями пневмонии в анамнезе
Лейкоциты	7,9	8,0
Нейтрофилы%	74,0	74,1
Абсолютное количество нейтрофилов	5,6	8,2
Моноциты %	13,4	13,6
Абсолютное количество моноцитов	0,1	0,1
Фосфолипиды	3,0	3,05
Гликоген	3,6	3,8
Миэлопероксидаза	4,0	4,0
Общий холестерол	8,2	8,2
Холестерол ЛВП	0,8	1,0
Холестерол ЛНП	5,2	6,8
Триглицериды	3,2	3,2
АПО-А	100,3	102
АПО-В	257	262
IL-1	61	61,
IL-10	11,2	11,3
TNF- $\alpha$	8,7	8,6

Из таблицы 8 видно, что количество лейкоцитов, моноцитов и нейтрофилов, а также содержание фосфолипидов, холестерина и аполипопротеинов выше у больных с повторяющимися пневмониями.

Таким образом, среди больных с серопозитивностью к *Chlamydia pneumoniae*, наиболее часто в раннем возрасте пневмонией болели пациенты с атеросклерозом восходящей аорты и каротидных артерий. У этих больных отмечен гемодинамически значительный стеноз каротидных артерий. Взаимосвязь параметров функционально-метаболического состояния лейкоцитов (содержание фосфолипидов и гликогена, миэлопероксидазная активность), показателей липидного спектра крови (ОХ, ХЛВП, ХЛНП, ТГ, АПО-А, АПО-В), проинфламаторных интерлейкинов (IL-1 $\beta$ , IL-10) со степенью стеноза и толщиной интима-медиального слоя у больных с атеросклеротическим поражением восходящей аорты и сонных артерий, с наличием хламидийной инфекции, дает возможность использования указанных параметров в качестве маркера ате-

росклероза и индикаторно-лабораторного теста активности процесса.

Вместе с тем, у больных с серопозитивностью к *Chlamydia pneumoniae*, изменения параметров крови, характерные для атеросклероза, сильнее выражены с пневмониями в анамнезе. Инфицирование *Chlamydia pneumoniae* в раннем возрасте представляет собой возможный риск-фактор развития атеросклероза восходящей аорты и сонных артерий в последующей жизни, осложняющий течение атеросклероза различных сосудов.. Поэтому в лечении указанного контингента больных рекомендуется проведение всестороннего мониторинга лабораторных исследований, в том числе установление наличия антигена *Chlamydia pneumoniae*.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. მ. ახვლედიანი ბიოქიმიური და კვანძოლოგიური გამოკვლევების დიაგნოსტიკური ინფორმაციულობა და კორელაცია საძილე

არტერიების ათეროსკლეროზული დაზიანებისას ავტორეფ. დის ბიოლ. მეცნ. დოქტ. თბ.: 2005.

2. ი. მელქაძე ვირუსულ-ქლამიდიური ინფექცია და მისი როლი თეროსკლეროზის განვითარებაში. ავტორეფ. დის მედ. მეცნ. კანდ. თბ.: 2001.

3. გ. ჩაფიძე, ს. კაპანაძე, დ. სამადაშვილი. ათეროსკლეროზის დაუმკვიდრებელი რისკის ფაქტორები და პათოგენეზური თერაპიის ახალი პერსპექტივები. თბ.: 2003.

4. ნ. ყიფშიძე აგრესიული ათეროსკლეროზი. საქ. ათეროსკლეროზის ასოციაციის კონფერენცია (მასალები). თბ.: 2003; 16-18.

5. Авдеева М.Г., Шубич М.Е. Патогенетические механизмы инициации синдрома системного воспалительного процесса. Клиническая и лабораторная диагностика 2003; 6:3-9.

6. Ахвледиани М.В., Воробьева Е.О., Мартиашвили М.В., Гачечиладзе Д.Г., Эмухвари М.Г. Корреляция и оптимизация некоторых биохимических параметров при атеросклерозе сонных артерий. Вопросы биологии, медицины и фармхимии 2008; 1: 8-14.

7. Ватутин Н.Т., Чупина В.А. Инфекция как фактор риска развития атеросклероза и его осложнений. Кардиология 2000; 2: 67-91.

8. Манзенюк И.Н., Воробьева М.С., Chlamidia pneumoniae. Медико-биол. союз: 2006; 27.

9. Назаренко Г.И., Кишкун А.А., Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. Совр. мед. техн. М.: Медицина; 2000: 57-62.

10. Ольбинская Л.И., Игнатенко С.Б. Роль системы цитокинов в патогенезе хронической сердечной недостаточности. Тер. архив. 2001; 12: 82-84.

11. Поздняк А.Л., Шестаев Н.В., Нуралова А.Л., Михайлов Н.В. и др. Особенности лабораторной диагностики хламидиозов с системными проявлениями. Клиническая и лабораторная диагностика 2002; 6: 42-45.

12. Сумароков А.Б., Лякишев А.А. Хламидийная инфекция, вызванная Chlamydia pn. и атеросклероз. Клин. медицина 1999; 7: 4-10.

13. Титов В.Н. Клиническая биохимия и кардинальные вопросы патогенеза атеросклероза. Клиническая и лабораторная диагностика 2000; 1: 3-9.

14. Титов В.Н. Общность атеросклероза и воспаления: специфичность атеросклероза как воспалительного процесса. Клиническая и лабораторная диагностика 2004; 4: 3-10.

15. Тодуа Ф.И., Гачечиладзе Д.Г., Балавадзе М.Б. и др. Влияние ряда атерогенных факторов риска на

состояние комплекса интима-медиа общей сонной артерии. Кардиология 2003; 3: 50-53.

16. Эмануэль Ю.В., Карягина И.Ю., Мягкова Л.М. Исследование информативности липидного спектра, концентрации С-реактивного белка и липопротеинов (α) у больных с хроническим нарушением мозгового кровообращения. Клиническая и лабораторная диагностика 2002; 10: 30-31.

17. Belland R.J, Ouellette S.P, Gieffers J, Byrne G.I Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis. Cell Microbiol. 2004; 6 (2): 117-127.

18. Campbell LA, Kuo CC. Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis. Semin. Respir. Intect. 2003; 18 (1): 48-54

19. Gupta S. Chronic infection, Chlamydia and coronary heart disease-the story evolves. Cardiology rounds., 2002; 6: 2-15.

20. Margareta M.I., Vicky Y. Hoymans Involvement of Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis: more evidence for lack of evidence. Journal of Clinical Microbiology 2005; 43 (1): 19-24.

21. Mussa F.F., Chai H., Wang X., Lumsden A.B., Chen C. Chlamydia pneumoniae and vascular disease: an update. J. Vasc. Surg. 2006; 43 (6): 1301-1307.

## SUMMARY

### PECULARITIES OF ATHEROSCLEROSIS DEVELOPED AFTER CHLAMIDIAL INFECTION AND BEHAVIOUR OF SOME HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS

**Emukhvari M., Akhvlediani M., Bukia T., Shalashidze N., Vorobiova E.**

*Research Institute of Clinical Medicine, Tbilisi; Medical State University, Tbilisi*

The aim of our studies was to create diagnostically informative criteria of hematologic and biochemical analyses and their combinations as well as to establish relation between *Chlamydia Pneumoniae* and atherosclerosis. This is to be done for the purpose of establishing the entire pathogenesis carotid and coronary atherosclerosis and inflammation. The investigation of *Chlamydia Pneumoniae* infection in proved to be a possible risk factor for the carotid atherosclerosis developed in adults that makes the course of atherosclerosis heavier. As a result of the atherosclerotic process, changes in the blood laboratory parameters were expressed more cases of pneumonia in the children.

**Key words:** atherosclerosis, lipids, interleukins, Chlamydia pneumoniae.

## РЕЗЮМЕ

### ОСОБЕННОСТИ АТЕРОСКЛЕРОЗА КРУПНЫХ СОСУДОВ, РАЗВИТЫХ НА ФОНЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ С УЧЕТОМ НЕКОТОРЫХ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ

Эмухвари М.Г., Ахвледиани М.В., Букія Т.Ш.,  
Шарашидзе Н.А., Воробьева Е.О.

*Научно-исследовательский институт клинической медицины, Тбилиси; Государственный медицинский университет, Тбилиси*

Последнее время бытует мнение о полиэтиологической природе атеросклероза. Существуют данные о связи этого заболевания с бактериальными и вирусными инфекциями, так как этот микроб выявляется в тканях артерий, пораженных атеросклерозом, а серопозитивность по отношению к *Chlamydia pneumoniae* коррелирует с утолщением интима-медиального слоя стенки кровеносных сосудов. Целью данного исследования являлось выработка диагностически информативных критериев гематологических и биохимических исследований и их комбинаций для установления единых оснований атеросклероза крупных сосудов, патогенеза атеросклероза и воспалительных процессов и также выявление связи инфицирования *Chlamydia pneumoniae* в раннем возрасте с атеросклерозом.

У больных с серопозитивностью к *Chlamydia pneumoniae*, изменения параметров крови, характерные для атеросклероза, были сильнее выражены при наличии пневмоний в анамнезе. Инфицирование *Chlamydia pneumoniae* в раннем возрасте представляет собой возможный риск-фактор развития атеросклероза восходящей аорты и сонных артерий в последующей жизни, осложняющий течение атеросклероза различных сосудов. Наличие пневмонии в анамнезе представляет собой риск-фактор, осложняющий клиническое течение атеросклероза. Поэтому в лечении указанного

контингента больных рекомендуется проведение всестороннего мониторинга лабораторных исследований в том числе установление наличия антигена *Chlamydia pneumoniae*.

## რეზიუმე

გადატანილი ქლამიდიური ინფექციის ფონზე განვითარებული მსხვილ სისხლძარღვთა ათეროსკლეროზის თავისებურებანი ზოგიერთი ჰემატოლოგიური და ბიოქიმიური პარამეტრების გათვალისწინებით

მ. ემუხვარი, მ. ახვლედიანი, თ. ბუკია, ნ. შარაშიძე, ე. ვორობიოვა

*კლინიკური მედიცინის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი; სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი*

ქლამიდიური ინფექციების გავრცელების მაღალი სიხშირე განსაკუთრებით აქტუალურს ხდის ქლამიდიურ ინფექციასა და ათეროსკლეროზს შორის კავშირის დადგენას. კვლევის მიზანს წარმოადგენდა კაროტიდული და კორონარული ათეროსკლეროზისა და ანთების ერთიანი პათოგენეზის დასადგენად ჰემატოლოგიური და ბიოქიმიური გამოკვლევების, მათი კომბინაციების დიაგნოსტიკურად ინფორმატიული კრიტერიუმების შექმნა. დადგენილი იქნა, რომ ბავშვთა ასაკში *Chlamydia pneumoniae*-თი ინფიცირება წარმოადგენს ზრდასრულ ასაკში საძილე არტერიების ათეროსკლეროზის განვითარების სავარაუდო რისკ-ფაქტორს, რომელიც ამძიმებს ათეროსკლეროზის მიმდინარეობას. ქლამიდიოზით დაავადებულ პაციენტებში სისხლის თითქმის ყველა პარამეტრი, რომელიც ნორმაზე მაღალი იყო, რაოდენობრივად აღემატებოდა იმავე პარამეტრებს პაციენტების იმ ჯგუფში, რომელსაც არ დაუდასტურდა ქლამიდიური ინფექციის არსებობა. ათეროსკლეროზული პროცესის შედეგად სისხლის ლაბორატორიული პარამეტრების ცვლილება უფრო მეტად იყო გამოხატული პაციენტების იმ ჯგუფში, რომელსაც ანამნეზში აღენიშნა ბავშვთა ასაკში პნევმონიით მრავალჯერადი დაავადების შემთხვევები.

## ПРО- И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ БИЛИРУБИНА. ЭПР ИССЛЕДОВАНИЕ

Шенгелия М.Ш., Чикваидзе Э.Н., Саникидзе Т.В.

*Тбилисский государственный университет им. Ив. Джавахишвили;  
Тбилисский государственный медицинский университет*

Билирубин является одним из промежуточных продуктов распада гемоглобина, происходящего в макрофагах селезенки, печени и костном мозге (примерно 80%). В условиях нормального метаболизма в организме человека генерируется 300 мг билирубина в день вследствие ежедневного разрушения приблизительно  $10^{11}$  эритроцитов. Обычно билирубин в малых количествах присутствует в крови ( $0,2 = 1,2$  мг/100мл). [8]. Водонерастворимый билирубин хорошо растворяется в липидах и других органических растворителях. Поэтому, в случае, когда концентрация непрямого билирубина в крови превышает допустимую величину, возможно его накопление в клеточных мембранах, что сопровождается изменением функций и, в случае высоких концентраций билирубина, нарушением целостности мембран.

In vitro в физиологических концентрациях билирубин проявляет ярко выраженную антиоксидантную активность; in vivo антиоксидантные свойства билирубина значительно зависят от его содержания в плазме крови [4]. Известно, что в микромолярных концентрациях он проявляет антиоксидантную активность [15]. Многие антиоксиданты в определенных условиях действуют как прооксиданты, билирубин также не является исключением [2,3]. Анти- и прооксидантная активность билирубина играет важную роль при развитии патологических и физиологических процессов в живом организме [12,15] и тесно связана с его радикальными свойствами.

Известно, что билирубин является сенсбилизатором II рода; при его облучении видимым светом в результате взаимодействия с гидроксилрадикалом, высвобождения атома водорода и образования воды вырабатываются свободные радикалы:



Впоследствии возможна полимеризация радикалов билирубина. Полимерная сеть билирубина обнаружена в черных и коричневых камнях желчного пузыря [11]. Порошок очищенного непрямого

билирубина имеет розовую окраску; при окислении его цвет меняется и приобретает коричневую окраску в соответствии со степенью окисления. Предполагаем, что окисление билирубина играет значимую роль в процессе образования камней желчного пузыря.

Целью исследования явилось изучение роли билирубина в процессе образования камней желчного пузыря.

Для установления механизмов конверсии свободных радикалов билирубина мы провели ЭПР-спектроскопическое исследование фотооблученного билирубина.

**Материал и методы.** Билирубин “Sigma” очищали хроматографическим методом на хроматографической колонке; в качестве сорбента использовали силикагель (L 100/400 “Chemapol” Prague). После очищения окисленного порошка билирубина в хроматографической колонке на старте остается нерастворимая в хлороформе черная масса. Очищенный билирубин окрашен в оранжевый цвет.

Тонкий слой порошка билирубина или его раствора (30 мг очищенного билирубина растворяли в 10 мл хлороформа или 0.05 М NaOH) облучали видимым светом при атмосферном давлении и комнатной температуре на расстоянии от флуоросцентной лампы (“Osram” L 18W/67, Germany), достаточном для предотвращения нагрева образцов. Температуру измеряли с помощью ртутного термометра. Интенсивность света, падающего на образец ( $10$  мВт/см<sup>2</sup>) контролировали с помощью луксметра U-116 (погрешность ~ 12%).

Для проведения эксперимента в условиях отсутствия кислорода образец порошка билирубина или его раствора помещали в стеклянную кювету, из которой предварительно был откачен воздух до  $10^{-3}$  мм рт. ст. ЭПР спектры образцов измеряли на ЭПР радиоспектрометре ESR-V (X-band), оснащенном цилиндрическим резонатором (TM<sub>110</sub> Mode) с высокочастотной модуляцией магнитного поля 100 кГц, мощностью микроволнового излучения - 2 мВт,

амплитуда высокочастотной модуляции - 0,1 мТл, при комнатной температуре. В качестве стандарта использовали порошок  $Mn^{2+}$  в  $MgO$ .

Спектры поглощения измеряли на спектрометре "Specol UV" и "Specol 20" (Karl Zeiss).

**Результаты и их обсуждение.** В ЭПР спектре неочищенного образца билирубина зарегистрирован сигнал свободного радикала с  $g=2,003$  и  $\Delta H=1,0$  мТл (рис. 1).

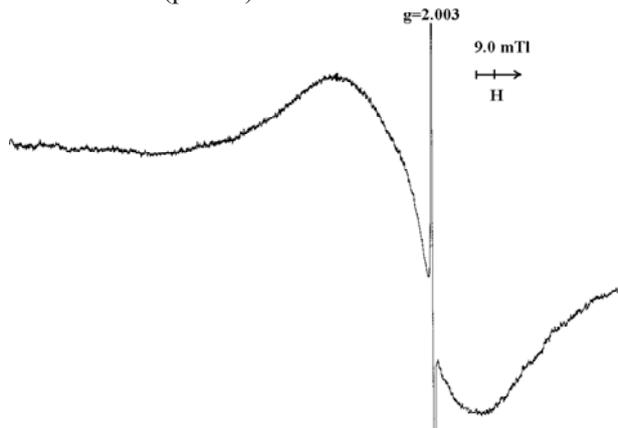


Рис. 1. Спектр ЭПР неочищенного образца билирубина -  $g=2,003$ , шириной синглета -  $\Delta H=1,0$  мТл

В ЭПР спектре билирубина, выделенного из фракции, сигнал с вышеприведенными параметрами почти отсутствует (рис. 3а). В спектре ЭПР остаточной, нерастворяющейся в хлороформе смолообразной массе черного цвета регистрируется интенсивный свободнорадикальный сигнал билирубина с аналогичными спектроскопическими параметрами ( $g=2,003$  и  $\Delta H=1,0$  мТл) (рис. 2).

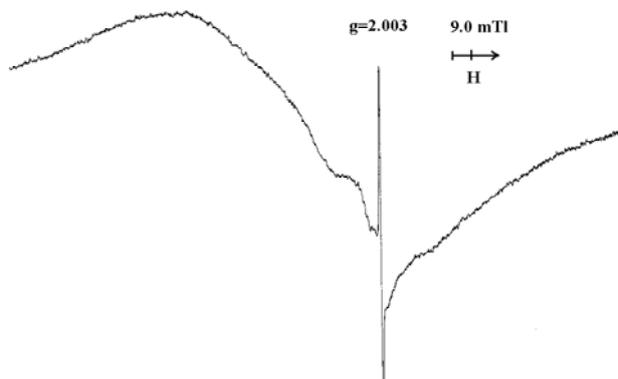


Рис. 2. Спектр ЭПР остаточного после хроматографического очищения образца билирубина, нерастворяющегося в хлороформе смолообразной массы черного цвета ( $g=2,003$   $\Delta H=1,0$  мТл, синглет радикала билирубина)

После облучения порошка и хлороформного раствора билирубина синим светом на воздухе в ЭПР спектре образцов регистрируется свободнорадикальный сигнал с  $g=2,003$  и  $\Delta H=1,0$  мТл (рис. 3б). В течение первых четырех часов облучения наблюдается заметное увеличение интенсивности ЭПР сигнала относительно стандарта (рис. 4).

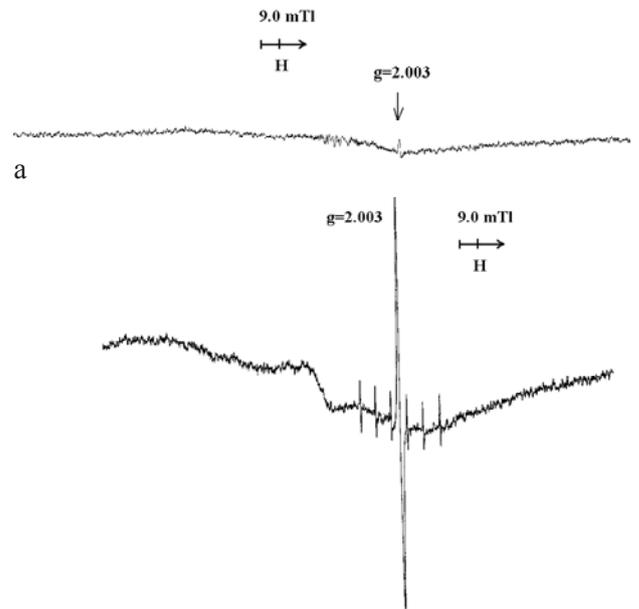


Рис. 3. Спектр ЭПР очищенного образца билирубина до (а) и после облучения синим светом с  $\lambda_{max}=450$  нм в течение 4-х часов (б, усиление в 2 раза больше, чем в (а)). Шесть слабых компонентов вокруг сигнала радикала билирубина принадлежат эталону  $Mn(II)$

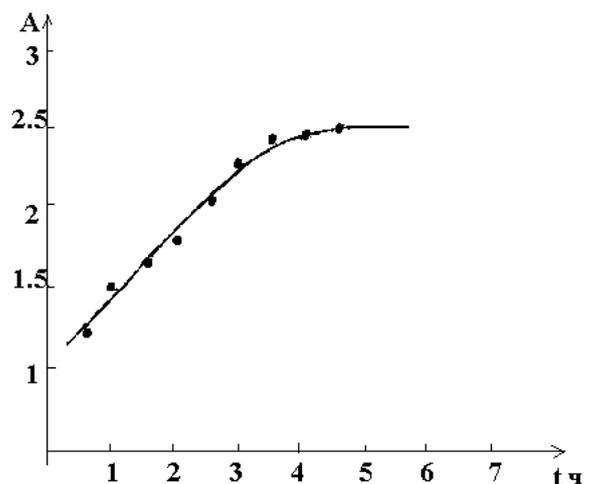
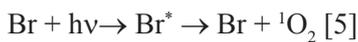


Рис. 4. Изменение интенсивности сигнала ЭПР порошка билирубина, облученного синим светом. А - отношение интенсивности сигнала ЭПР радикала билирубина к интенсивности 3-ей компоненты СТС марганцевого стандарта

Длительное (20 ч.) облучение образцов билирубина (порошка и хлороформного раствора) синим светом в условиях вакуума не сопровождается генерированием свободных радикалов, что доказывает участие молекулярного кислорода в фотоиндуцированной реакции образования свободных радикалов билирубина.

Следует отметить, что в процессе облучения наблюдается изменение цвета хлороформного раствора от желтого до зеленого и в спектре поглощения раствора появляется новая полоса с  $\lambda_{\max} = 650$  нм, характерная для биливердина [5] (рис. 5).

Как известно, при облучении билирубина видимым светом, билирубин переходит в возбужденное триплетное состояние, затем энергия возбуждения передается молекулярному кислороду (миграция энергии):



Возможно, впоследствии синглетный кислород атакует молекулу билирубина:



что сопровождается образованием свободного радикала билирубина, который может инициировать свободнорадикальные цепные реакции образования биливердина (рис. 5).

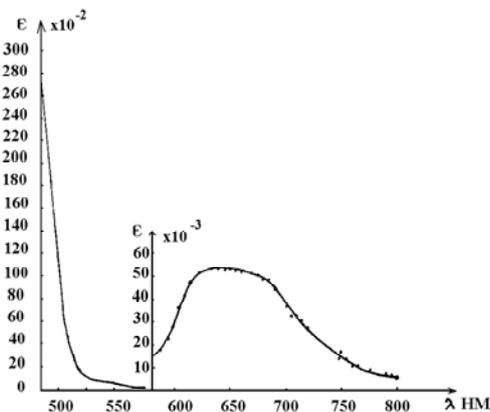


Рис. 5. Спектр поглощения раствора билирубина в хлороформе после облучения синим светом. Пик поглощения с максимумом  $\lambda_{\max} = 650$  нм принадлежит биливердину

Реакция образования биливердина:



На рис. 6 представлена схема окислительного превращения билирубина [7]. Биливердин восста-

навливается до билирубина посредством биливердинредуктазы (BVR). Билирубин, в свою очередь, после взаимодействия с реактивными соединениями кислорода превращается в биливердин и т.д. Таким образом, умеренное количество билирубина может обеспечить нейтрализацию большого количества реактивных форм кислорода.

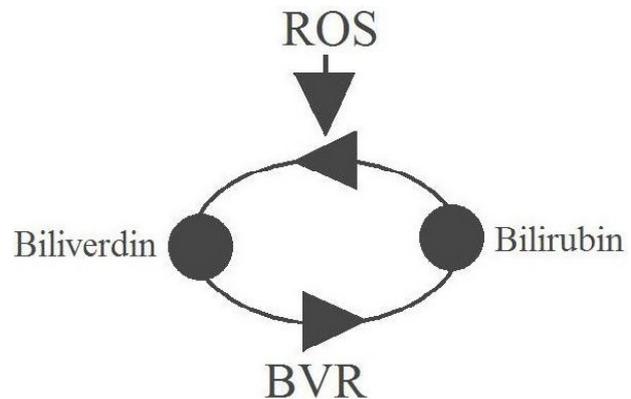


Рис. 6. Схема окислительного превращения билирубина (Greenberg David A., 2002)

Сам по себе, факт образования свободного радикала билирубина в процессе фотоокисления указывает на возможность участия билирубина в инициации процессов свободнорадикального окисления, образования высокореактивных свободных радикалов кислорода (супероксидиона -  $\text{O}_2^\bullet$ , гидроксил-радикала -  $\bullet\text{OH}$ ), интенсификации окислительного стресса в организме, активации окисления ДНК, мембранных белков и липидов, нарушения функционирования и целостности клеточных мембран и изменения интенсивности синтетических процессов в клетках. Процессы свободнорадикального окисления участвуют в патогенезе многочисленных заболеваний [9]. Однако, лишь только малочисленные исследования посвящены выяснению роли окислительного стресса в формировании камней желчного пузыря [14]. В модельных экспериментах *in vitro* показано участие гидроксилрадикала в процессе кристаллизации холестерина желчи [10].

В физиологических условиях концентрация кислорода в тканях и плазме на порядок меньше концентрации кислорода в воздухе (~2%). Несмотря на это, фотоокисление билирубина может происходить эффективно. Установлено, что при анаэробном облучении видимым светом, нерастворимая в воде форма билирубина (ZZ), претерпевая цепь структурных изомеризаций, превращается в растворимый изомер EE-циклобилирубин,

который легко выводится из организма [12]. Установлено также, что одновременно с этим возможно фотоокисление билирубина [5]. Продукты фотоокисления билирубина вызывают в клетках и тканях живого организма различные мутагенные и канцерогенные эффекты [6]. В опытах *in vitro* установлены некоторые механизмы фоторазложения билирубина, обнаружены продукты его распада [7,16]. Хроматографическим методом выделены шесть монопиррольных соединений, образующихся в процессе фотоокисления билирубина. Высказано предположение, что в процессах фотопревращения билирубина принимает участие синглетный кислород, а сам билирубин на первой стадии процесса является сенсibilизатором [5]. Авторами установлено, что одним из промежуточных продуктов фотоокисления билирубина является биливердин.

Таким образом, на основании анализа собственных исследований и данных литературы можно предположить, что окислительной модификации билирубина принадлежит значимая роль в патогенезе формирования желчных камней. Индукторами этого процесса могут быть, как эндогенные (окислительный стресс, инициированный различными патологическими процессами и стрессовыми ситуациями), так и экзогенные (солнечные ванны, фототерапия) факторы. Для предотвращения желчнокаменной болезни рекомендуем использование антиоксидантов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Antony F, McDonagh, Lightner D.A. Like a shrivelled blood orange – bilirubin, jaundice, and phototherapy. *Pediatrics* 1985; 75 (3): 443-455.
2. Asad SF, Singh S, Ahmad A, Hadi SM. Bilirubin/biliverdin–Cu(II) induced DNA breakage; reaction mechanism and biological significance. *Toxicology letters* 2002; 131: 181-189.
3. Asad SF, Singh S, Ahmad A, Hadi SM. Bilirubin–Cu(II) complex degrades DNA. *Biochimica et Biophysica Acta* 1999; 1428(2-3): 201-208.
4. Bélanger S., Lavoie J.-C., Chessex Ph. Influence of Bilirubin on the Antioxidant Capacity of Plasma in Newborn Infants. *Biol Neonate* 1997; 71: 233-238.
5. Bonnet R., Stewart J.C.M. Singlet oxygen in the photooxidation of bilirubin in hydroxyl solvents. *Biochem. J.* 1972; 130: 895-897.
6. Christensen T. Cytotoxicity of bilirubin photoproducts. *Photobiochem. Photobiophys.* 1986; 10: 253-260.
6. Eder M.I., Miquel Y.E., Youngst D., Paumgartner G., VanRitter C. Reactive oxygen metabolites promote cholesterol crystal formation in model bile: role of lipid peroxidation. *Free Rad. Biol. Med.* 1996; 20: 743-749.
7. Iqbal M.S., Shad M.A., Akhtar M.I. The effect of gamma-radiation on bilirubin. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 2004; 250 (2): 397-398.
8. Halliwell B.G., Gutteridge Y.M.C., Cross C.E. Free radicals, antioxidants and human diseases: where are we now? *J. Clin. Lab. Med.* 1992; 119: 598-620.
9. Lightner D.A., Linnane W.P., Ahlfors C.E. Bilirubin photooxidation products in the urine of jaundice neonates receiving phototherapy. *Pediatr. Res* 1984; 18: 696-700.
10. Ohkubo H., Ostrw Y.D. Care S.H., Rege R.V. Polymer networks in pigment and cholesterol gallstones assessed by equilibrium swelling and infrared spectroscopy. *Gastroenterology.* 1984; 87: 805-814.
11. Onishi S., Itoh S., Isobe K. Wavelength-dependence of the relative rate constants for the main geometric and structural photoisomerisation of bilirubin IX a bound to human serum albumin. *Biochem. J.* 1986; 236: 23-29.
12. Sedlak Thomas W, Masoumeh Saleh, Daniel S Higginson, Bindu D Paul, Krishna R Juluri, Solomon H Snyder. Bilirubin and glutathione have complementary antioxidant and cytoprotective roles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106 (13):5171-6.
13. Shu-chu Shiesh et al. Melatonin prevents pigment gallstone formation induced by bile duct ligation in guinea pigs. *Hepatology* 2000; 32: 3.
14. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 1987; 235(4792): 1043-1046.
15. Stocker R., Glazer A.N., Ames B.N. Antioxidant activity of albumin-bound bilirubin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987; 84: 5918-5922.
16. David A. Greenberg. The Jaundice of the cell. *PNAS* 2002; 99 (25): 15837-15839.

## SUMMARY

### PRO- AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BILIRUBIN, EPR STUDY

Shengelia M., Chikvaidze E., Sanikidze T.

*Iv. Javakishvili Tbilisi State University; Tbilisi State Medical University*

The aim of the study was establishment of mechanisms of bilirubin oxidation and their involvement in the physiological and pathological processes in the living body (EPR study of photoradiated bilirubin).

The photosensitized formation of free radical of bilirubin with  $g=2.003$  and  $\Delta H=1.0\text{mTl}$ , under action of the blue light with  $\lambda_{\text{max}}=450\text{ nm}$  by means of electronic spin resonance (ESR) was shown. Irradiation of sample in vacuum by visible light does not cause formation of free radicals. Irradiation of powder of bilirubin and also of its solution in chloroform leads to formation of the radical of bilirubin. The analysis of a spectrum (ESR) as powder also its solution in chloroform, that induced free radical belongs to bilirubin but not of solution was shown. Irradiation of a solution of bilirubin in chloroform causes absorption spectrum with  $\lambda_{\text{max}}=650\text{ nm}$ , characterized for absorption of solutions biliverdin in chloroform.

**Key words:** photosensibilization, bilirubin, free radical, phototherapy, ESR.

## РЕЗЮМЕ

### ПРО- И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ БИЛИРУБИНА. ЭПР ИССЛЕДОВАНИЕ

Шенгелия М.Ш., Чикваидзе Э.Н., Саникидзе Т.В.

*Тбилисский государственный университет им. Ив. Джавахишвили; Тбилисский государственный медицинский университет*

С целью установления возможных механизмов окисления билирубина и их участия в патологических и физиологических процессах в живом организме, нами проведено ЭПР-спектроскопическое исследование фотооблученного билирубина.

Методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) показана возможность фотосенсибилизированного образования свободных радикалов билирубина (параметры ЭПР сигнала:  $g=2,003$  и  $\Delta H=1,0\text{ мТл}$ ) под действием электромагнитного облучения частотами видимого света (синего - с  $\lambda_{\text{max}}=450\text{ нм}$ , зеленого - с  $\lambda=520\text{ нм}$ ).

Облучение образцов билирубина видимым светом в условиях вакуума не сопровождается генерированием свободных радикалов. При облучении порошка билирубина, а также его раствора в хлороформе, в аэробных условиях регистрируется свободнорадикальный сигнал. Анализ спектра ЭПР свободнорадикального сигнала (как в порошке, так и растворе билирубина в хлороформе) показывает, что фото-

индуцированный свободный радикал принадлежит билирубину, а не растворителю.

Облучение раствора билирубина в хлороформе вызывает в спектре поглощения появление линии с  $\lambda_{\text{max}}=650\text{ нм}$ , характерной для поглощения растворов биливердина в хлороформе.

## რეზიუმე

ბილირუბინის პრო- და ანტიოქსიდანტური აქტივობა. ეპრ კვლევა

მ. შენგელია, ე. ჩიკვაიძე, თ. სანიკიძე

ივ. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი; თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

ბილირუბინის დაქანგვისადა მისი სხვადასხვა ფიზიოლოგიურ და პათოლოგიურ პროცესებში მონაწილეობის შესაძლო მექანიზმების დადგენის მიზნით ჩვენ ჩავატარეთ ფოტოდასხივებული ბილირუბინის ეპრ-სპექტროსკოპული კვლევა.

ელექტრონული პარამაგნიტული რეზონანსის (ეპრ) მეთოდით ნაჩვენებია იქნა ხილული სინათლის სხვადასხვა სიხშირეების (ღურჯი -  $\lambda_{\text{მავ}}=450\text{ ნმ}$ , მწვანე -  $\lambda=520\text{ ნმ}$ ) ზემოქმედებით ბილირუბინის ფოტოსენსიბილიზებული თავისუფალი რადიკალების (ეპრ სიგნალის პარამეტრები:  $g=2,003$ ,  $\Delta=1,0\text{ მტლ}$ ) წარმოქმნის შესაძლებლობა.

ბილირუბინის ნიმუშების ხილული სინათლით დასხივებისას ვაკუუმის პირობებში თავისუფალი რადიკალების გენერირება არ აღინიშნებოდა. ბილირუბინის ფხვნილისა და მისი ქლოროფორმის ხსნარის აერობულ პირობებში დასხივების დროს დარეგისტრირდა ფოტონდუცირებული თავისუფალრადიკალური სიგნალი, რომლის ანალიზი იძლევა საშუალებას დავასკვნათ, რომ ის ეკუთვნის ბილირუბინს და არა გამხსნელს.

ბილირუბინის ქლოროფორმის ხსნარის დასხივების დროს შთანთქმის სპექტრში ვლინდება ხაზები ( $\lambda_{\text{მავ}}=650\text{ ნმ}$ ), რაც დამახასიათებელია ბილივერდინის ქლოროფორმში ხსნარის შთანთქმის სპექტრისათვის.