

ფარმაცევტი ვალდებულია დაიცვას ფარმაცევტული დახმარების ხარისხი. GPP წარმოადგენს ამ ვალდებულებათა განხორციელების საშუალებას, ვინაიდან ის პროფესიული ამოცანების ჩამონათვალია, რომელთა განხორციელება ემსახურება პაციენტის ინტერესების დაცვას.

FIP-ის (International Farmaceuticall Federation – ფარმაცევტთა საერთაშორისო ფედერაცია) როლი მდგომარეობს მსოფლიოს ქვეყნების ნაციონალური

ფარმაცევტული ორგანიზაციების (ასოციაციების), ხელმძღვანელობაში. ასოციაციები, თავის მხრივ, ვალდებულები არიან ინიცირება გაუწიონ GPP სტანდარტების შემუშავებას ნაციონალურ დონეზე.

ფარმაცევტული დახმარების სისტემა უზრუნველყოფს არა მხოლოდ ავთიქის კომერციულ ინტერესებს, არამედ, ასევე, ფარმაცევტული პროდუქტის ხარისხის, პაციენტისა და ფარმაცევტის უსაფრთხოების გარანტიას.

---

## ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ ОБЛУЧЕНИЯ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

<sup>1</sup>Зедгинидзе А.Г., <sup>2</sup>Намчевадзе Э.Н., <sup>1</sup>Никурадзе Т.Д., <sup>3</sup>Залинян Г.Г., <sup>3</sup>Парсаданян Г.Г.

<sup>1</sup>Центр экспериментальной биомедицины им. И. Берташвили, Тбилиси;

<sup>2</sup>Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили,

Институт физики им. Э. Андроникашвили, Грузия; <sup>3</sup>Ереванский государственный университет, Армения

Развитие атомной промышленности, использование радиоактивных источников в военном оборудовании и, наконец, широкое применение лучей в лечебно-диагностической практике обусловило увеличение несчастных случаев в результате переоблучения людей разными дозами ионизирующей радиации. В настоящее время интенсивно изучается влияние различных доз облучения на организм человека [4,7,15]. Наряду со случаями, в результате которых происходит индивидуальное облучение высокими дозами ионизирующей радиации (>1 Gy), отдельные группы и популяции подвергаются воздействию малых доз облучения. Если в результате облучения высокими дозами развивается легко диагностируемая клиническая картина лучевой болезни или травмы, то малые дозы, действуя исподволь, проявляются спустя длительное время, в основном, в виде онкологических заболеваний [6,11,13].

Основным контингентом, подвергающимся воздействию ионизирующей радиации, является профессиональная группа лиц, имеющих по роду своей деятельности контакт с радиоактивными веществами, жители регионов с высоким радиационным фоном [17] и пациенты, проходящие радиотерапию и многочисленные радиодиагностические процедуры [2,5,9,10].

Своевременное установление факта воздействия радиации на организм и выявление объективных признаков этого воздействия имеет огромное значение для успешного проведения профилактических и лечебных мероприятий. [5,8,11]. Наиболее чувствительным к ионизирующему облучению является генетический аппарат; действуя на живую клетку, ионизирующая радиация индуцирует хромосомные aberrации, поэтому лучшим индикатором для выявления воздействия облучения являются хромосомные нарушения.

Цитогенетические нарушения до настоящего времени считаются лучшими биомаркерами для выявления воздействия ионизирующей радиации на организм [2,7,13,15]. В то же время, весьма актуальной проблемой является поиск оптимальных комбинаций различных биомаркеров.

С начала этого века в Грузии интенсивно проводятся работы по радиационной генетике. Налажена биодозиметрия, методы которой основываются на измерении эффектов вызванных радиацией и дают полное представление о поглощенной человеческим организмом дозе. В рамках нескольких национальных и международных проектов нами выявлены лица, получившие малые дозы или отнесенные к группе риска. Испол-

зовался метод определения хромосомных аберраций (учет дицентрических хромосом) и уровня микроядер в лимфоцитах периферической крови [16].

Целью данного исследования явилось с помощью биомаркеров определение длительности сохранения повреждающего эффекта облучения в отдаленные от воздействия периоды у лиц, ранее отнесенных к группе радиационного риска и установление генетических нарушений в процессе радиотерапии.

**Материал и методы.** Объектом исследования явились 37 жителей местностей Даба Вазиани (n=20) и Дедоплис Цкаро (n=17), которые в 2002-2004 гг. были облучены дозой, превышающей 0.2 Gy, или по количеству хромосомных аберраций были отнесены к группе риска (контролем служили культуры 10 клинически здоровых лиц). Наряду с этим, исследования проведены у 6 онкологических больных в процессе радиотерапии. В 48-часовых культурах периферической крови определялось количество дицентрических хромосом, которые являются цитогенетическими маркерами радиационного воздействия, устанавливалась поглощенная доза облучения, равная или превышающая 0.2 Gy. В каждом случае изучали 200-400 метафаз. Для определения общего уровня повреждений ДНК клеток использовали метод ДНК-комет, а при исследовании через определенные временные интервалы - эффективность процессов репарации. Методом ДНК-комет (щелочная версия) регистрировали одонитевые разрывы ДНК. Исследовали 150-200 лимфоцитов. В качестве показателя повреждения ДНК использовали длину «хвоста» кометы [14].

Для дополнительной регистрации хромосомных нарушений применяли метод определения уровня микроядер (МЯ) в соскобах слизистой ротовой полости. Нанесенный на предметное стекло мазок фиксировали фиксатором Карнуа и затем окрашивали растворами Шифа и Лихт-грюна [12]. Исследования МЯ (>1000 клеток в каждом отдельном случае) проведены на кафедре генетики и цитологии Ереванского государственного университета. Обработка данных проведена по методу Kruskal-Wallis.

**Результаты и их обсуждение.** Обследовано 20 жителей села Даба Вазиани. Большинство обследуемых в 2002-2004 гг. были включены в группу риска. 10 жителей Даба Вазиани в 2004 г. были облучены дозой 0.2-0.7 Gy, 5 из них, с установленной дозой 0.2, 0.25, 0.3, 0.35 и 0.4 Gy, скончались от опухолей разной локализации. У остальных лиц установлено достоверное повышение частоты хромосомных аберраций, без установления дозы облучения.

В Дедоплис Цкаро контингент (n=17) для обследования отбирался среди лиц, проживающих или служивших на территории военной базы, где был обнаружен радиоак-

тивный мусор. У 9 из них установлена доза облучения, превышающая 0.2 Gy, у троих выявлено онкологическое заболевание, вследствие чего они скончались. Лица, у которых были обнаружены хромосомные нарушения, а доза не определялась, были включены в группу риска. Количество дицентриков на клетку в этой группе составило 0.015, что в 10 раз превышает показатели, полученные в контрольной группе (0.0015).

Спустя 10 лет (2013 г.) после облучения у обследованных жителей Даба Вазиани и Дедоплис Цкаро серьезных клинических и гематологических нарушений не наблюдалось. Однако в ряде случаев выявлен лимфоцитоз. По количеству хромосомных аберраций ни у одного из обследованных полученная ранее доза не определялась. Обнаружены единичные дицентрические хромосомы. Предположительно, что к этому времени нестабильные хромосомные аберрации элиминировались. Только в одном случае, в котором в 2002 г. была определена доза облучения в 0.35 Gy, обнаружены хромосомные нарушения (атипичный большой акроцентрик).

Среднее количество ДНК-комет в лимфоцитах крови жителей указанных территорий не отличалось от контрольных показателей. Отсутствие отличий, по всей вероятности, связано с тем фактом, что после облучения малыми дозами прошло около 10 лет.

На сегодняшний день особый интерес представляют исследования по выявлению генетических последствий использования ионизирующих лучей в диагностических и терапевтических целях. Так как изучение генетического эффекта терапевтических доз - новое направление в радиационной генетике, и исследования проводились, в основном, *in vitro* [8,9], нами изучены генетические параметры у 6 больных с одинаковым диагнозом (рак гортани), которым на линейном ускорителе в режиме 2 Gy на фракцию проведено облучение в 40-66 Gy. Всем больным до, в процессе и в конце радиотерапии проведены комплексные исследования, включающие определение хромосомных аберраций, уровня МЯ в буккальных клетках и регистрацию одонитевых повреждений ДНК.

До начала радиотерапии исследование перечисленных параметров не выявило различий от контрольных данных - количество хромосомных аберраций 0,12-0,15 на клетку, и 8-12% одонитевых повреждений ДНК. Несмотря на локализацию опухолевого процесса, уровень МЯ соответствовал контрольным данным -  $2,00 \pm 0,26$ , также как и количество клеток с МЯ -  $1,33 \pm 0,21$ . После первого облучения изучаемые показатели различались, однако оказались повышенными у всех больных. Уровень хромосомных аберраций был повышен и

Таблица. МЯ в букальных клетках онкологических больных в процессе радиотерапии

Изученные параметры (%)	Исследованная группа (mean±SE) (n=6)		
	до облучения	после I облучения	после II облучения
Количество клеток с микроядрами	1,33±0,21	2,83±0,60	1,67±0,21
Общее количество микроядер	2,00±0,26	4,33±0,99	2,33±0,33

выявлены дицентрические хромосомы. Уровень повреждений ДНК в кометах повысился до 26-30%. Увеличились уровень МЯ – 4,33±0,99 и число клеток с МЯ - 2,83±0,60.

Согласно литературным данным [1], высокая частота клеток с МЯ и высокий уровень повреждений ДНК после лечения совпадают с хорошим эффектом терапии. Иная картина отмечалась после второго облучения: параметры снизилась до начальных показателей (таблица).

Данные двух больных по изученным показателям отличались от остальных. Количество дицентриков у этих больных (0.05 и 0.07 на клетку) соответствовало полученной дозе 0.6 и 0.8 Gy от общего облучения. У одного больного, помимо нестабильных хромосомных аберраций, обнаружены и атипичные, маркерные хромосомы. Количество микроядер повысилось от 0.5 до 2 при параллельном снижении повреждений ДНК. Спустя несколько месяцев после последнего облучения у 4 пациентов наблюдалось улучшение. У двух пациентов с худшими генетическими показателями, отмечались осложнения: отёк, боли в гортани и отсутствие уменьшения опухоли.

Полученные результаты позволяют предположить, что эффект повреждающих доз радиации исчезает в зависимости от времени, прошедшего с момента воздействия, однако имеет индивидуальный характер.

Результаты наблюдения свидетельствуют о том, что при местном облучении в дозах терапевтического диапазона, проявляются общие реакции, которые имеют информативную ценность и могут позволить регулировать лечебные и профилактические мероприятия.

**Благодарность.** Работа осуществлена при поддержке МАГАТЭ (проект 7099/RO).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Пелевина И. Поврежденность генетического аппарата, индукция адаптивного ответа в лимфоцитах крови при раке предстательной железы. Связь с эффективностью лучевой терапии опухолей. Радиоэкология 2009; 49(4):419-424.
2. Agrawala PK, Adhikari JS, Chaudhury NK. Lymphocyte Chromosomal Aberration Assay in Radiation Biodosimetry. J. of Pharmacy and Biol. Sciences. 2010; 2 (3):197-201.

3. Ashok RK, Madhu B, Rajeshwar P. Molecular Mechanisms of Ultraviolet Radiation-induced DNA Damage and Repair Journal of Nucleic Acids. 2010; 12 :16-20.
4. Baliga L, Suresh R. Radioprotective Potential of Mint: A brief review. J of Cancer Research and Therapeutics 2010; 6(3):255-262.
5. Dörr W. Radiation Effect in Normal Tissue - Principles of Damage and Protection. Nuklearmedizin 2010; 49 (1):53-8.
6. Hall EJ, Brenner DJ. Cancer Risks from Diagnostic Radiology. British Journal of Radiology 2008; 8 (1): 362-378.
7. IAEA. Cytogenetic Dosemetry. 2011.
8. McCollough CH, Schueler BA, Atwell TD, et al. Radiation Exposure and Pregnancy. Radiographics 2007; 27 (4): 909-917.
9. Roessler U, Oestreicher U, Lang P. Dependent Analyses of Computer Tomography induced DNA Damage with a Special focus on Children Mat. 40 Eur. Radiobiol Conf. 2013: 18.
10. Silva AC. Innovations in CT Dose Reduction Strategy: Application of the Adaptive Statistical Iterative Reconstruction Algorithm. Roentgenol. 2010; 194(1):191-199.
11. Sowa M, Arthurs B, Estes B, Morgan W. Effects of Ionizing Radiation on Cellular Structures Induced Instability and Carcinogenesis. Exp. Cell Res. 2006; 96: 293 -295.
12. Stich HF, Stich W, Parida BB. Elevated of Micronucleated Cells in the Buccal Mucosis. Cancer Let. 1982; 17 (2): 125-134.
13. Terzoudi G, Karachristou I, Pantelias A, The use of Cytogenetic Methods for Absorbed Dose Radiosensitivity and Risk Assessment. Mat. 40 Eur. Radiobiol. Conf. 2013; 43.
14. Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H. Single-cell gel. Comet Assay: Guidelines for in vitro and in vivo Genetic Toxicology Testing. Environ Mol. Mutagen 2000; 35: 206-221.
15. Tubiana M, Feinendegen LE, Yang C, Kaminski JM. The Linear No-threshold Relationship is Inconsistent with Radiation Biologic and Experimental Data. Radiology 2009; 251 (1): 13-22.
16. Zedginidze A, Gvimradze Kh, Antelava M, Zkariadze N. Possibilities and Results of Biodosimetry Carried Out in Georgia During Last 10 Years. NIRS\_ISTC. Workshop on Cytogenetic Biodosimetry in cooperation with WHO. Proceedings, NIRS, Japan: 2011; 341-368.
17. Zhang W, Wang Ch, Chen D. et al. Imperceptible Effect of Radiation Based on Stable Type Chromosome Aberrations Accumulated in the Lymphocytes of Residents in the High Background Radiation Area in China. J. Radiation Res. 2003; 44: 69-74.

## SUMMARY

### USEAGE OF GENETIC MARKERS TO DETERMINE THE IMPACT OF RADIATION ON THE HUMAN BODY

<sup>1</sup>Zedginidze A., <sup>2</sup>Namchevadze E., <sup>1</sup>Nikuradze T.,  
<sup>3</sup>Zalinyan G., <sup>3</sup>Parsadanyan G.

<sup>1</sup>I. Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi; <sup>2</sup>Tbilisi State University. E. Andronikashvili Institute of Physics, Georgia; <sup>3</sup>Yerevan State University, Armenia

The timely determination of the fact of radiation impact on the organism is extremely important for preventive and curative interventions. Despite the fact that so far cytogenetic violations are considered to be the best biomarkers to determine the impact of ionizing radiation on the organism, actual problem is to find the optimal combination of different biomarkers. The aim of the work was investigation of the extended set of biomarkers in distant periods of exposure in people previously assigned to the radiation risk group, as well as the identification of genetic disorders in the process of radiotherapy. The object of the study were 37 residents of districts, where at the beginning of this century radioactive sources were discovered, and 6 oncology patients in the course of radiotherapy. Chromosome disorders, the overall level of DNA cells single-stranded damage by comet-assay method and a method of level detection of buccal micronuclei in were investigated. The results showed heterogeneity of different organism response to irradiation. Determination of absorbed dose, identification of various genetic disorders in individuals exposed to identical doses of radiation, offers the opportunity to judge the individual biological effect and is very important for individual preventive activities.

**Keywords:** radiation impact, radiotherapy, biomarkers of ionizing radiation.

## РЕЗЮМЕ

### ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ ОБЛУЧЕНИЯ НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА

<sup>1</sup>Зедгинидзе А.Г., <sup>2</sup>Намчевадзе Э.Н., <sup>1</sup>Никурадзе Т.Д.,  
<sup>3</sup>Залинян Г.Г., <sup>3</sup>Парсаданян Г.Г.

<sup>1</sup>Центр экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили, Тбилиси; <sup>2</sup>Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Институт физики им. Э. Андроникашвили, Грузия; <sup>3</sup>Ереванский государственный университет, Армения

Своевременное установление факта воздействия радиации на организм чрезвычайно важно для проведения

профилактических и лечебных мероприятий. Несмотря на то, что до настоящего времени цитогенетические нарушения считаются лучшими биомаркерами для выявления воздействия ионизирующей радиации на организм, актуальной проблемой является поиск оптимальных комбинаций различных биомаркеров. Целью данного исследования явилось с помощью биомаркеров определение длительности сохранения повреждающего эффекта облучения в отдаленные от воздействия периоды у лиц, ранее отнесенных к группе радиационного риска и установление генетических нарушений в процессе радиотерапии. Объектом исследования явились 37 жителей местностей, где в начале этого века были найдены радиоактивные источники, и 6 онкологических пациентов в процессе радиотерапии. Исследовались нарушения хромосом, общий уровень однонитевых повреждений ДНК клеток методом комет и методом определения уровня микроядер в соскобах слизистой ротовой полости. Полученные результаты продемонстрировали неоднородность реакций разных организмов на облучение. Определение поглощенной дозы, выявление различных генетических нарушений у лиц, подвергшихся идентичным дозам облучения, позволяют судить об индивидуальном биологическом эффекте и имеют большое значение для определения тактики индивидуальных превентивных мероприятий.

## რეზიუმე

ადამიანის ორგანიზმზე დასხივების ზემოქმედების გამოვლინება გენეტიკური მარკერების გამოყენებით

<sup>1</sup>ა. ზედგინიძე, <sup>2</sup>ე. ნამჩევადე, <sup>1</sup>თ. ნიკურაძე,  
<sup>3</sup>გ. ზალინიანი, <sup>3</sup>გ. ფარსადანიანი

<sup>1</sup>ი. ბერიტაშვილის სახ. ბიომედიცინის ექსპერიმენტული ცენტრი, თბილისი; <sup>2</sup>თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ე. ანდრონიკაშვილის სახ. ფიზიკის ინსტიტუტი, საქართველო; <sup>3</sup>ერევნის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, სომხეთი

ორგანიზმზე რადიაციული ზემოქმედის ფაქტის დროულ დადგენას განსაკუთრებული მნიშვნელობა აქვს პროფილაქტიკური და სამკურნალო ღონისძიებების ჩასატარებლად. მიუხედავად იმისა, რომ დღემდე ორგანიზმზე რადიაციის ზემოქმედების გამოსავლენად ქრომოსომული დარღვევები საუკეთესო ბიომარკერად ითვლება, აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს სხვადასხვა ბიომარკერის ოპტიმალური კომბინაციების დადგენა. კვლევის მიზანს შეადგენდა ფართო სპექტრის ბიომარკერების გამოკვლევა პირებში, რომლებიც თავის დროზე მიეკუთვნებოდნენ რისკის ჯგუფს და პაციენტებში სხივური თერაპიის პროცესში. კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა იმ რეგიონის

37 მოსახლე, სადაც ამ საუკუნის დასაწყისში აღმოჩენილი იყო რადიოაქტიური წყაროები, და 6 ონკოლოგიური პაციენტი, რომლებსაც უტარდებოდათ სხივური თერაპია. შესწავლილია ქრომოსომული დარღვევები, უჯრედებში ერთმანეთს დნმ-ის ზოგადი დონე დნმ-კომპლექსით და მიკრობირთვების დონე პირის ღრუს ლორწოვანის ნაცხში. მიღებულმა შედეგებმა გამოავლინა სხვა-

დასხვა ორგანიზმის არაერთგვაროვანი რეაქცია დასხივებაზე. შთანთქმული დოზის და სხვადასხვა გენეტიკური დარღვევის დადგენა პირებში, რომელთაც მიღებული ჰქონდათ იდენტური დოზები, იძლევა ინდივიდურ ბიოლოგიურ ეფექტზე მსჯელობის საშუალებას, რასაც დიდი მნიშვნელობა აქვს ცალკეული ავადმყოფისათვის პრევენციული ღონისძიებების შემუშავებისათვის.

---

## EFFECTS OF IMMUNOTOXIC AND ELECTROLYTIC LESIONS OF MEDIAL SEPTAL AREA ON SPATIAL SHORT-TERM MEMORY IN RATS

Dashniani M., Kruashvili L., Rusadze Kh., Mataradze S., Beselia G.

*I. Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi, Georgia*

The septum and the hippocampus are heavily interconnected through the fimbria-fornix and are functionally coupled [4], often referred to collectively as the septohippocampal (SH) system [7]. The SH projection includes well-known cholinergic and GABAergic components [4] and a subpopulation of septal glutamatergic neurons [17]. The data of different experimental approaches suggest that the septohippocampal cholinergic system is crucial for normal memory function [1-3,15].

Given the central role the hippocampus plays in memory and the strong input to the hippocampus from the SH pathway, it is tempting to hypothesize that this input is critical for memory processes [11,13]. Lesions of the fimbria-fornix, which conveys SH cholinergic [16] and GABAergic fibers to the hippocampus [12], interfere both with learning and memory tasks and with generation of the theta rhythm in rats [5]. Dysfunction of the hippocampus induced by lesions of the medial septum (MS) therefore may result in behavioral effects similar to those of hippocampal lesions. Although the importance of the SH projections in learning and memory is generally accepted, the degree to which damage to particular set of SH projections contributes to deficits within specific cognitive domains is less clear.

Most basal forebrain functions have been attributed to its cholinergic neurons. However, an increasing body of evidence suggests that behavioral deficits after lesions of cholinergic nuclei are not entirely due to destruction of cholinergic cells. Selective damage of cholinergic MS neurons using 192-IgG saporin has generated equivocal results with both impairments and no impairments reported [6,8]. When deficits are observed, the impairments with selective cholinergic lesions are generally smaller than

those observed with nonselective MS lesions, suggesting a role for noncholinergic MS neurons in spatial memory. The most important of these noncholinergic neurons is the GABAergic SH neurons, which, together with the cholinergic neurons, are responsible for 80-90% of the SH pathway [12]. The involvement of GABA-ergic septohippocampal projections in hippocampal dependent memory is far from resolved.

The SH GABA neurons are well positioned to exert indirect but strong effects on hippocampal pyramidal neurons. The SH GABA neurons selectively innervate only the GABA interneurons of the hippocampus [12]. Via this very selective connectivity, the SH GABA neurons can theoretically produce a powerful disinhibitory effect on hippocampal pyramidal neurons. The involvement of GABAergic SH projections in hippocampal dependent memory and learning process remains unspecified. However, a new more selective toxin for GABAergic neurons would facilitate research. The toxin combines a rabbit polyclonal antibody to the GABA-transporter-1 with the ribosomal toxin saporin (GAT1-saporin). Pang et al [19], characterized the effects of GAT1-saporin on the MS neurons and showed that intraseptal GAT1-SAP preferentially reduced GABAergic neurons as compared to ChAT-ir neurons in the MS.

In the present study electrolytic and immunotoxic lesions of MS were used to investigate the importance of SH projections in spatial working memory. Spatial alternation (SA) is assumed to be a hippocampal-dependent measure of spatial working memory [9, 14]. The underlying assumption is that in order to alternate successfully between locations, the rat must remember its visits to previous places. This assumption is supported in part by the finding that SA is impaired