

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

---

ISSN 1512-0112

No 1 (310) Январь 2021

---

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии  
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

No 1 (310) 2021

Published in cooperation with and under the patronage  
of the Tbilisi State Medical University

Издается в сотрудничестве и под патронажем  
Тбилисского государственного медицинского университета

გამოიცემა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტთან  
თანამშრომლობითა და მისი პატრონაჟით

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ  
ТБИЛИСИ - НЬЮ-ЙОРК

**GMN: Georgian Medical News** is peer-reviewed, published monthly journal committed to promoting the science and art of medicine and the betterment of public health, published by the GMN Editorial Board and The International Academy of Sciences, Education, Industry and Arts (U.S.A.) since 1994. **GMN** carries original scientific articles on medicine, biology and pharmacy, which are of experimental, theoretical and practical character; publishes original research, reviews, commentaries, editorials, essays, medical news, and correspondence in English and Russian.

**GMN** is indexed in MEDLINE, SCOPUS, PubMed and VINITI Russian Academy of Sciences. The full text content is available through EBSCO databases.

**GMN: Медицинские новости Грузии** - ежемесячный рецензируемый научный журнал, издаётся Редакционной коллегией и Международной академией наук, образования, искусств и естествознания (IASEIA) США с 1994 года на русском и английском языках в целях поддержки медицинской науки и улучшения здравоохранения. В журнале публикуются оригинальные научные статьи в области медицины, биологии и фармации, статьи обзорного характера, научные сообщения, новости медицины и здравоохранения.

Журнал индексируется в MEDLINE, отражён в базе данных SCOPUS, PubMed и ВИНТИ РАН. Полнотекстовые статьи журнала доступны через БД EBSCO.

**GMN: Georgian Medical News** – საქართველოს სამედიცინო სიახლენი – არის ყოველთვიური სამეცნიერო სამედიცინო რეცენზირებადი ჟურნალი, გამოიცემა 1994 წლიდან, წარმოადგენს სარედაქციო კოლეგიისა და აშშ-ის მეცნიერების, განათლების, ინდუსტრიის, ხელოვნებისა და ბუნებისმეტყველების საერთაშორისო აკადემიის ერთობლივ გამოცემას. GMN-ში რუსულ და ინგლისურ ენებზე ქვეყნდება ექსპერიმენტული, თეორიული და პრაქტიკული ხასიათის ორიგინალური სამეცნიერო სტატიები მედიცინის, ბიოლოგიისა და ფარმაციის სფეროში, მიმოხილვითი ხასიათის სტატიები.

ჟურნალი ინდექსირებულია MEDLINE-ის საერთაშორისო სისტემაში, ასახულია SCOPUS-ის, PubMed-ის და ВИНТИ РАН-ის მონაცემთა ბაზებში. სტატიების სრული ტექსტი ხელმისაწვდომია EBSCO-ს მონაცემთა ბაზებშიდან.

## МЕДИЦИНСКИЕ НОВОСТИ ГРУЗИИ

Ежемесячный совместный грузино-американский научный электронно-печатный журнал  
Агентства медицинской информации Ассоциации деловой прессы Грузии,  
Международной академии наук, индустрии, образования и искусств США.  
Издается с 1994 г., распространяется в СНГ, ЕС и США

### ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Николай Пирцхалаишвили

### НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

Елене Гиоргадзе

### ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Нино Микаберидзе

### НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

**Зураб Вадачкориа - председатель Научно-редакционного совета**

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

### НАУЧНО-РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**Константин Кипиани - председатель Научно-редакционной коллегии**

Архимандрит Адам - Вахтанг Ахаладзе, Амиран Антадзе, Нелли Антелава, Тенгиз Асатиани,  
Гия Берадзе, Рима Бериашвили, Лео Бокерия, Отар Герзмава, Лиана Гогиашвили, Нодар Гогебашвили,  
Николай Гонгадзе, Лия Дваладзе, Тамар Долиашвили, Манана Жвания, Тамар Зерекидзе,  
Ирина Квачадзе, Нана Квирквелия, Зураб Кеванишвили, Гурам Кикнадзе, Димитрий  
Кордзаиа, Теймураз Лежава, Нодар Ломидзе, Джанлуиджи Мелотти, Марина Мамаладзе,  
Караман Пагава, Мамука Пирцхалаишвили, Анна Рехвиашвили, Мака Сологашвили, Рамаз Хецуриани,  
Рудольф Хохенфеллнер, Кахабер Челидзе, Тинатин Чиковани, Арчил Чхотуа,  
Рамаз Шенгелия, Кетеван Эбралидзе

Website:

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

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.: 293 66 78.**

**Контактный адрес:** Грузия, 0177, Тбилиси, ул. Асатиани 7, IV этаж, комната 408  
тел.: 995(32) 254 24 91, 5(55) 75 65 99

Fax: +995(32) 253 70 58, e-mail: [ninomikaber@geomednews.com](mailto:ninomikaber@geomednews.com); [nikopir@geomednews.com](mailto:nikopir@geomednews.com)

**По вопросам размещения рекламы обращаться по тел.: 5(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; International Academy of Sciences, Education, Industry and Arts (USA).  
Published since 1994. Distributed in NIS, EU and USA.

### **EDITOR IN CHIEF**

Nicholas Pirtskhalaishvili

### **SCIENTIFIC EDITOR**

Elene Giorgadze

### **DEPUTY CHIEF EDITOR**

Nino Mikaberidze

### **SCIENTIFIC EDITORIAL COUNCIL**

#### **Zurab Vadachkoria - Head of Editorial council**

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

### **SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD**

#### **Konstantin Kipiani - Head of Editorial board**

Archimandrite Adam - Vakhtang Akhaladze, Amiran Antadze, Nelly Antelava,  
Tengiz Asatiani, Gia Beradze, Rima Beriashvili, Leo Bokeria, Kakhaber Chelidze,  
Tinatin Chikovani, Archil Chkhotua, Lia Dvaladze, Tamar Doliashvili, Ketevan Ebralidze,  
Otar Gerzmava, Liana Gogiashvili, Nodar Gogebashvili, Nicholas Gongadze,  
Rudolf Hohenfellner, Zurab Kevanishvili, Ramaz Khetsuriani, Guram Kiknadze,  
Dimitri Kordzaia, Irina Kvachadze, Nana Kvirkvelia, Teymuraz Lezhava, Nodar Lomidze, Marina  
Mamaladze, Gianluigi Melotti, Kharaman Pagava, Mamuka Pirtskhalaishvili,  
Anna Rekhviashvili, Maka Sologhashvili, Ramaz Shengelia, Tamar Zerekidze, Manana Zhvania

### **CONTACT ADDRESS IN TBILISI**

GMN Editorial Board  
7 Asatiani Street, 4<sup>th</sup> Floor  
Tbilisi, Georgia 0177

Phone: 995 (32) 254-24-91  
995 (32) 253-70-58  
Fax: 995 (32) 253-70-58

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

NINITEX INTERNATIONAL, INC.  
3 PINE DRIVE SOUTH  
ROSLYN, NY 11576 U.S.A.

Phone: +1 (917) 327-7732

### **WEBSITE**

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

## 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 для текста на русском и английском языках - **Times New Roman (Кириллица)**, для текста на грузинском языке следует использовать **AcadNusx**. Размер шрифта - **12**. К рукописи, напечатанной на компьютере, должен быть приложен CD со статьей.

2. Размер статьи должен быть не менее десяти и не более двадцати 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. К статье должны быть приложены краткое (на полстраницы) резюме на английском, русском и грузинском языках (включающее следующие разделы: цель исследования, материал и методы, результаты и заключение) и список ключевых слов (key words).

5. 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.

6. Фотографии должны быть контрастными, фотокопии с рентгенограмм - в позитивном изображении. Рисунки, чертежи и диаграммы следует озаглавить, пронумеровать и вставить в соответствующее место текста **в tiff формате**.

В подписях к микрофотографиям следует указывать степень увеличения через окуляр или объектив и метод окраски или импрегнации срезов.

7. Фамилии отечественных авторов приводятся в оригинальной транскрипции.

8. При оформлении и направлении статей в журнал МНГ просим авторов соблюдать правила, изложенные в «Единых требованиях к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», принятых Международным комитетом редакторов медицинских журналов - <http://www.spinesurgery.ru/files/publish.pdf> и [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html) В конце каждой оригинальной статьи приводится библиографический список. В список литературы включаются все материалы, на которые имеются ссылки в тексте. Список составляется в алфавитном порядке и нумеруется. Литературный источник приводится на языке оригинала. В списке литературы сначала приводятся работы, написанные знаками грузинского алфавита, затем кириллицей и латиницей. Ссылки на цитируемые работы в тексте статьи даются в квадратных скобках в виде номера, соответствующего номеру данной работы в списке литературы. Большинство цитированных источников должны быть за последние 5-7 лет.

9. 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.

10. 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.

11. Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять статьи. Корректур авторам не высылаются, 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 CD 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 10 pages and not exceed the limit of 20 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. Articles must have a short (half page) abstract in English, Russian and Georgian (including the following sections: aim of study, material and methods, results and conclusions) and a list of key words.

5. 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.

6. 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).

7. 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.

8. Please follow guidance offered to authors by The International Committee of Medical Journal Editors guidance in its Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals publication available online at: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)  
[http://www.icmje.org/urm\\_full.pdf](http://www.icmje.org/urm_full.pdf)

In GMN style for each work cited in the text, a bibliographic reference is given, and this is located at the end of the article under the title "References". All references cited in the text must be listed. The list of references should be arranged alphabetically and then numbered. References are numbered in the text [numbers in square brackets] and in the reference list and numbers are repeated throughout the text as needed. The bibliographic description is given in the language of publication (citations in Georgian script are followed by Cyrillic and Latin).

9. 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.

10. 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.

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.

**Articles that Fail to Meet the Aforementioned  
Requirements are not Assigned to be Reviewed.**



## 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 რუსულ და ინგლისურენოვან ტექსტებში - **Times New Roman (Кириллица)**, ხოლო ქართულენოვან ტექსტში საჭიროა გამოვიყენოთ **AcadNusx**. შრიფტის ზომა – 12. სტატიას თან უნდა ახლდეს CD სტატიით.

2. სტატიის მოცულობა არ უნდა შეადგენდეს 10 გვერდზე ნაკლებს და 20 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. სტატიას თან უნდა ახლდეს რეზიუმე ინგლისურ, რუსულ და ქართულ ენებზე არანაკლებ ნახევარი გვერდის მოცულობისა (სათაურის, ავტორების, დაწესებულების მითითებით და უნდა შეიცავდეს შემდეგ განყოფილებებს: მიზანი, მასალა და მეთოდები, შედეგები და დასკვნები; ტექსტუალური ნაწილი არ უნდა იყოს 15 სტრიქონზე ნაკლები) და საკვანძო სიტყვების ჩამონათვალი (key words).

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

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

7. სამამულო ავტორების გვარები სტატიაში აღინიშნება ინიციალების თანდართვით, უცხოურისა – უცხოური ტრანსკრიპციით.

8. 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. ტექსტში კვადრატულ ფხიხლებში უნდა მიუთითოთ ავტორის შესაბამისი N ლიტერატურის სიის მიხედვით. მიზანშეწონილია, რომ ციტირებული წყაროების უმეტესი ნაწილი იყოს 5-6 წლის სიღრმის.

9. 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.

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

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>Taner Demirci, Hasret Cengiz, Sedat Cetin, Seyhun Varim, Gizem Karatas Kılıçcıoğlu</b> MYELOLIPOMA COEXISTENCE WITH GLUCOCORTICOID AND ANDROGEN SECRETING ADRENOCORTICAL CARCINOMA: SLOW AND BENIGN CLINICAL COURSE.....	7
<b>Русин В.И., Русин В.В., Горленко Ф.В., Добош В.М., Лопит М.М.</b> ИЗОЛИРОВАННАЯ ПРОФУНДОПЛАСТИКА (ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ ВЫБОР).....	11
<b>Зубач О.Б., Григорьева Н.В., Поворознюк В.В.</b> 10-ЛЕТНЯЯ ЛЕТАЛЬНОСТЬ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПЕРЕЛОМОВ ПРОКСИМАЛЬНОГО ОТДЕЛА БЕДРЕННОЙ КОСТИ.....	19
<b>Zenaishvili M., Japaridze Sh., Tushishvili A., Davitashvili O., Kevanishvili Z.</b> STUTTERING: INITIATING FACTORS, EVOLUTION, HEALING PERSPECTIVES.....	23
<b>Hirna H., Kostyshyn I., Rozhko M., Levandovskiy R., Nakashidze G.</b> ANALYSIS OF IMMUNE CHANGES AND THEIR ROLE IN THE DEVELOPMENT OF ORAL AND OROPHARYNGEAL CANCER .....	29
<b>Tsitadze T., Puturidze S., Lomidze T., Margvelashvili V., Kalandadze M.</b> PREVALENCE AND RISK-FACTORS OF BRUXISM IN CHILDREN AND ADOLESCENT POPULATION AND ITS IMPACT ON QUALITY OF LIFE (REVIEW).....	36
<b>Solovyeva Z., Zaporozhskaya-Abramova E., Adamchik A., Gushchin A., Risovanniy S., Manukyan I.</b> COMPARATIVE EVALUATION OF THE CLINICAL EFFICACY OF MODERN REMINERALIZING DRUGS IN THE TREATMENT OF ENAMEL CARIES (FOCAL DEMINERALIZATION) .....	39
<b>Bakradze A., Vadachkoria Z., Kvachadze I.</b> ELECTROPHYSIOLOGICAL CORRELATES OF MASTICATORY MUSCLES IN NASAL AND ORONASAL BREATHING MODES .....	45
<b>Borysenko A., Timokhina T., Kononova O.</b> INDICATORS OF LOCAL IMMUNITY IN THE COMORBID COURSE OF CARIES AND GASTROESOPHAGEAL REFLUX DISEASE.....	48
<b>Dolidze K., Margvelashvili V., Nikolaishvili M., Suladze T., Pkhaladze M.</b> STUDY OF THE HYGIENIC CHARACTERISTICS OF THE ORAL CAVITY UNDER THE COMPLEX EFFECT OF PHOTODYNAMIC THERAPY AND TSKALTUBO SPRING WATER RADON HORMESIS.....	54
<b>Танская О.А., Островский Ю.П., Курлянская Е.К., Валентюкевич А.В., Колядко М.Г.</b> ОСНОВНЫЕ КРИТЕРИИ ОТБОРА ПАЦИЕНТОВ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ЛИСТА ОЖИДАНИЯ НА ТРАНСПЛАНТАЦИЮ СЕРДЦА .....	60
<b>Yelshibayeva E., Dautov T., Rakhimzhanova R., Gutberlet M., Mardenkyzy D., Kozhakhmetova Zh., Saduakasova A.</b> COMPUTED TOMOGRAPHY IN DETECTING FEATURES OF CORONARY ATHEROSCLEROSIS IN DIFFERENT ETHNIC GROUPS OF KAZAKHSTAN POPULATION.....	68
<b>Podzolkov V., Safronova T., Nebieridze N., Loriya I., Cherepanov A.</b> TRANSFORMING GROWTH FACTOR AND ARTERIAL STIFFNESS IN PATIENTS WITH UNCONTROLLED ARTERIAL HYPERTENSION .....	77
<b>Gvasalia T., Kvachadze I., Giorgobiani T.</b> SENSITIVITY TO MECHANICAL PAIN BASED ON SATIETY LEVELS IN WOMEN .....	83
<b>Povoroznyuk V., Nishkumay O., Lazarieva K., Lazariyev P.</b> FEATURES OF BONE METABOLISM AND THEIR INFLUENCE ON ARTERIAL WALL STIFFNESS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN WITH CONTROLLED UNCOMPLICATED HYPERTENSION .....	87
<b>Solomonina N., Vacharadze K., Mgvdeladze G.</b> CHARACTERISTICS OF DRUG RESISTANT TUBERCULOSIS IN GEORGIA (2015-2020).....	93

<b>Abramidze T., Gotua M., Bochorishvili E., Melikidze N., Gamkrelidze A.</b> CYPRESS POLLEN SENSITIZATION IN GEORGIA: CLINICAL AND MOLECULAR CHARACTERISTICS.....	101
<b>Притыко Н.Г., Коваленко О.Е.</b> ОСОБЕННОСТИ МОЗГОВОЙ ГЕМОДИНАМИКИ У ПАЦИЕНТОВ С СИНДРОМОМ ХРОНИЧЕСКОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ВЕНОЗНОЙ ДИСФУНКЦИИ И РАЗНЫМ УРОВНЕМ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ.....	107
<b>Chorna V., Makhniuk V., Pshuk N., Gumeniuk N., Shevchuk Yu., Khliestova S.</b> BURNOUT IN MENTAL HEALTH PROFESSIONALS AND THE MEASURES TO PREVENT IT .....	113
<b>Ratiani L., Gegechkory S., Machavariani K., Shotadze T., Sanikidze T., Intskirveli N.</b> THE PECULIARITY OF COVID-19 GENOME AND THE CORONAVIRUS RNA TRANSLATION PROCESS AS A POTENTIAL TARGET FOR ETIOTROPIC MEDICATIONS WITH ADENINE AND OTHER NUCLEOTIDE ANALOGUES (REVIEW).....	119
<b>Patarashvili L., Azmaipharashvili E., Jandieri K., Gvidiani S., Tsomaia K., Kikalishvili L., Sareli M., Chanukvadze I., Kordzaia D.</b> LIVER EXTRACELLULAR MATRIX PECULIARITIES IN MAMMALS AND AVIANS.....	124
<b>Tsomaia K., Azmaipharashvili E., Gvidiani S., Bebiashvili I., Gusev S., Kordzaia D.</b> STRUCTURAL CHANGES IN RATS' LIVER DURING THE FIRST 2 WEEKS FOLLOWING 2/3 PARTIAL HEPATECTOMY .....	134
<b>Gvianishvili T., Kakauridze N., Gogiashvili L., Tsagareli Z., Kurtanidze T.</b> CORRELATION OF THYROID AUTOIMMUNITY WITH ATHEROSCLEROSIS EVALUATION IN HASHIMOTO'S THYROIDITIS.....	142
<b>Kiknadze T., Tevdorashvili G., Muzashvili T., Gachechiladze M., Burkadze G.</b> PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF RELAPSED LEIOMYOMA AND SMOOTH MUSCLE TUMORS OF UNCERTAIN MALIGNANCY POTENTIAL IN REPRODUCTIVE WOMEN.....	150
<b>Pkhakadze G., Bokhua Z., Asatiani T., Muzashvili T., Burkadze G.</b> STEM CELL INDEX IN THE PROGRESSION OF CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA.....	157
<b>Pidlisetsky A., Savosko S., Dolhopolov O., Makarenko O.</b> PERIPHERAL NERVE LESIONS AFTER A MECHANICALLY INDUCED LIMB ISCHEMIA.....	165
<b>Kolisnyk I., Voloshin O., Savchenko I., Yanchevskiy O., Rashidi B.</b> ENZYMATIC ACTIVITY IN MICROSOMES, LIPID PEROXIDATION OF MICE HEPATOCYTES UNDER THE SODIUM FLUORIDE.....	169
<b>Smagulova A., Katokhin A., Mambetpayeva B., Kulmaganbetova N., Kiyan V.</b> A MULTIPLEX PCR ASSAY FOR THE DIFFERENTIAL DETECTION OF OPISTHORCHIS FELINEUS AND METORCHIS BILIS .....	176
<b>Rigvava S., Karumidze N., Kusradze I., Dvalidze T., Tatrishvili N., Goderdzishvili M.</b> BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF BACTERIOPHAGES AGAINST STREPTOCOCCUS AGALACTIAE .....	182
<b>Deshko L., Udovenko Zh., Bulycheva N., Galagan V., Bulychev A.</b> PROVISION OF THE RIGHT TO NON-INTERFERENCE WITH PRIVACY DURING MUSTER PROCESS WITH THE PARTICIPATION OF DOCTOR (FORENSIC EXPERT) .....	186
<b>Теремецкий В.И., Николаенко Т.Н., Дидковская Г.В., Гмырин А.А., Шаповал Т.Б.</b> КОНТРОЛЬ И НАДЗОР КАК СРЕДСТВА ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ВЫЯВЛЕНИЯ ПРАВОНАРУШЕНИЙ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ.....	192

своей ишемии, моделированной жгутом на уровне голени, коленного сустава и нижней трети бедра. В фасцикулах седального нерва изменений плотности нервных волокон на 5, 15 и 30 сутки после моделирования ишемии не выявлено, однако обнаружены деформированные волокна с разной толщиной миелиновой оболочки. В большеберцовом нерве на 5 и 15 сутки установлены демиелинизация и деформация миелина, а на 15 и 30 сутки – атрофия нервных волокон. В нейролемоцитах поврежденных миелиновых нервных волокон выявлены признаки дистрофических процессов и

аутофагии. После введения в ишемически поврежденные мышцы тромбоцитарной плазмы, концентрата клеток аспирата костного мозга и гомогенизированной жировой ткани существенной разницы в степени повреждения нерва не выявлено. Сделано заключение, что структурные признаки повреждения периферических нервов конечности после ишемии являются неспецифическими и в большинстве случаев зависят от уровня повреждения конечности, чем от терапевтических подходов с использованием аутологических клеточных технологий.

რეზიუმე

კიდურის პერიფერიული ნერვების დაზიანებანი მექანიკურად ინდუცირებული იშემიის დროს

<sup>1</sup>ა.პიდლისეცკი, <sup>2</sup>ს.სავოსკო, <sup>3</sup>ა.დოლგოპოლოვი, <sup>4</sup>ა.მაკარენკო

<sup>1</sup>ლვოვის იუ.ლიპის სახ. ომის ვეტერანებისა და რეპრესირებულების საოლქო ჰოსპიტალი;

<sup>2</sup>ა.ბოგომოლევსის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, ჰისტოლოგიისა და ემბრიოლოგიის კათედრა;

<sup>3</sup>უკრაინის მედიცინის მეცნიერებათა აკადემიის ორთოპედიისა და ტრავმატოლოგიის ინსტიტუტი, კიევი;

<sup>4</sup>პერსონალის მართვის რეგიონთაშორისი აკადემია, კიევი, უკრაინა

სტატიაში წარმოდგენილია კიდურის პერიფერიული ნერვების ცვლილებების კვლევის შედეგები მექანიკურად ინდუცირებული იშემიის შემდეგ. შეფასებულია მიელინის ნერვული ბოჭკოები საჯდომ და დიდი წვივის ნერვებში 6-საათიანი იშემიის შემდეგ, რაც მოდელირებული იყო ლახტის გადაჭერით წვივის, მუხლის სახსრის და ბარძაყის ქვედა მესამედის დონეზე. საჯდომი ნერვის ფასციკულაში ნერვული ბოჭკოების სიმჭიდროვის ცვლილებები იშემიის მოდელირებიდან მე-5, მე-15 და 30-ე დღეს არ გამოვლინდა, თუმცა, აღმოჩენილია დეფორმირებული ბოჭკოები მიელინის გარის სხვადასხვა სისქით. დიდი წვივის ნერვში მე-5 და მე-15 დღეს დადგენილია დემიელინიზაცია და მიელინის დეფორმაცია, ხოლო მე-15 და 30-ე დღეს – ნერვული

ბოჭკოების ატროფია. დაზიანებული მიელინის ნერვული ბოჭკოების ნეიროლემოციტებში გამოვლინდა დისტროფიული პროცესების და აუტოფაგიის ნიშნები. იშემიურად დაზიანებულ კუნთებში თრომბოციტული პლაზმის, ძვლის ტენის ასპირატის უჯრედების კონცენტრატის და ჰომოგენიზებული ცხიმოვანი ქსოვილის შეყვანის შემდეგ არსებითი განსხვავება ნერვის დაზიანების ხარისხში არ აღინიშნა. ავტორები დაასკვნან, რომ კიდურის პერიფერიული ნერვების დაზიანებების ნიშნები იშემიის შემდეგ არასპეციფიკურია და, უმეტეს შემთხვევაში, მეტადაა დამოკიდებული კიდურის დაზიანების ხარისხზე, ვიდრე თერაპიულ მიდგომებზე აუტოლოგიური უჯრედული ტექნოლოგიების გამოყენებით.

## ENZYMATIC ACTIVITY IN MICROSOMES, LIPID PEROXIDATION OF MICE HEPATOCYTES UNDER THE SODIUM FLUORIDE

<sup>1</sup>Kolisnyk I., <sup>2</sup>Voloshin O., <sup>2</sup>Savchenko I., <sup>2</sup>Yanchevskiy O., <sup>2</sup>Rashidi B.

<sup>1</sup>Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education;

<sup>2</sup>The State Institution "Lugansk State Medical University", Rubizhne, Ukraine

Fluorine is one of the most widespread and necessary microelements for the body of animals and humans, which is required in a clearly limited amount [9,10]. The biological role of this microelement is difficult to overestimate, since it is part of the tooth enamel, bones, participates in the formation of dentin, and also prevents the development of osteoporosis with age. For many biological processes, it serves as a catalyst or inhibitor [7,11,15].

Different concentrations of fluorine can affect the state of lipid peroxidation, as well as the functional state of the microsomes of liver hepatocytes. With prolonged ingestion, fluoride can lead to fluorosis [6,10,13,14].

The question of the physiological role of fluorine on the body remains open, since an excess of this trace element in the composition of water is the cause of the destruction of tooth enamel, inhibition of phosphorus-calcium and carbohydrate metabolism, and the

activity of a number of enzymes. Due to this, fluorine can lead to the suppression of some intracellular processes in the body, reduce the activity of the immune system [5]. Acute fluoride intoxication leads to a decrease in the intensity of tissue respiration, the formation of reactive oxygen species by cells increases, lipid peroxidation processes increase, and the activity of antioxidant defense enzymes decreases. With the alimentary pathway of sodium fluoride entering the body, its negative effect affects the structure and function of the digestive system, primarily the liver [1].

It was found that the effect of sodium fluoride leads to an increase in all parameters of microsomal oxidation of hepatocytes, with the exception of cytochrome b5 [2-5,8]. This circumstance allows us to put forward the idea of stimulating free radical processes leading to disruption in the structure of hepatocyte membranes, oxidative destruction of biologically active substances [4].

**Material and methods.** The studies were carried out on sexually mature Wistar rats weighing 180-220 g. The animals were subjected to oral priming using a probe with an aqueous solution of sodium fluoride, once a day for 60 days in doses of 1/10, 1/100 and 1/1000 DL50, which was 20 mg/kg, 2 mg/kg and 0.2 mg/kg body weight (median lethal dose of active substance was 200 mg/kg when administered orally). The rats of the control group received appropriate volumes of drinking water. Each group consisted of 10 animals, the studies of indicators were carried out on days 10, 20, 30, 50 and 60 after the start of the experiment. Euthanasia was performed by decapitation with a guillotine knife after preliminary anesthesia with sodium thiopental in an amount of 50 mg/kg.

Confirmation of the induction of free radical processes by sodium fluoride was carried out using a chemiluminescent reaction of blood serum in the spectrum range of 400-600 nm. The amount of diene conjugates in rat liver tissue homogenates was assessed spectrophotometrically at 233 nm with preliminary extraction of a heptane-isopropanol mixture. The calculations were performed based on the molar extinction coefficient  $\epsilon=2.2 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

The content of TBA reactants in rat liver tissue homogenates was determined by the reaction of malonic dialdehyde and thiobarbituric acid (TBA). The amount was calculated based on the extinction coefficient  $\epsilon=1.56 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

The level of cypher bases, which are products of the interaction of carbonyl compounds with amino acids, amino groups of proteins, and nucleic acids, was determined in homogenates of liver tissue using a spectrofluorometer at a wavelength of 430 nm with preliminary extraction with a Folch mixture (chloroform-methanol).

Subcellular liver fractions were isolated by differential centrifugation. To obtain microsomes, the supernatant was centrifuged for 1 hour at 18000 g, the obtained precipitate was washed and suspended in the isolation medium (the protein content in the microsome suspension was 15-20 mg/ml). The activity of NAD (P) H-cytochrome c reductase in the suspension of rat liver microsomes was estimated in the presence of an electron acceptor cytochrome c, using a spectrophotometer at 30°C and a wavelength of 550 nm. The enzyme activity was calculated using the coefficient of molar extinction of cytochrome c, which was equal to  $18,5 \times 10^3 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ . The content of cytochrome P-450 in the suspension of rat liver microsomes was determined spectrophotometrically.

Statistical analysis of the results was carried out using the Statistica10 program.

**Results and discussion.** Free radical processes in the rat liver was assessed by the intensity of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced chemiluminescence (CL). The enzymatic state of rat liver microsomes was initially assessed by the activity of NAD (P) H-cytochrome c reductase in the dynamics of observation for 10, 20, 30, 50, 60 days with the introduction of sodium fluoride in doses of 1/10, 1/100 and 1/1000 DL50 (Table 1, 2).

On days 10 and 20 of the experiment (Table 1), a statistically significant ( $p < 0,001$ ) increase in the level of the indicator under the influence of sodium fluoride at a dose of 1/10 DL50 was found, respectively, by 37 and 134%, in relation to the control group; by 37% of CL intensity in relation to the value in the previous observation term, in comparison with the control group, an increase was observed by 66%.

Of interest is the fact that on the 60th day of oral administration of sodium fluoride at a dose of 1/10 DL50, a statistically significant ( $p < 0,001$ ) decrease by 33% in the level of

CL intensity of the liver of rats is observed in comparison with the control group. At a dose of 1/100 DL50, a significant ( $p \leq 0,002$ ) increase in the intensity of ultra-weak luminescence was observed in all periods of observation and was especially pronounced on the 30th day, on average it was 85%. Further, the level of CL intensity in the rat liver gradually decreased and on the 60th day it was 19%.

The results of the activity of NAD (P) H-cytochrome c reductase in the microsomal fraction of the liver of rats when exposed to sodium fluoride at subtoxic doses showed that on days 10 and 20 of oral administration of sodium fluoride at a dose of 1/10 DL50, statistically significant ( $p \leq 0,002$ ) was observed in Compared with the control group, a gradual increase in the activity of NADPH-cytochrome c reductase by 24 and 36%, respectively (Table 2). On the 30th day, there was a tendency towards a decrease in the enzyme activity, but in relation to the control group, the activity remained significantly ( $p < 0,001$ ) increased by 29%. After this period, a statistically significant ( $p < 0,001$ ) decrease was observed in comparison with the control group in the activity of NADPH-cytochrome c reductase by 20 and 30%, respectively, on days 50 and 60 of the action of sodium fluoride at a dose of 1/10 DL50.

Oral administration of sodium fluoride at a dose of 1/100 DL50 caused a significant ( $p \leq 0,004$ ) increase in the microsomal fraction of hepatocytes in the activity of NADPH-cytochrome c reductase by 6.26 and 32%, respectively, on the 10, 20, 30th day of the experiment. On the 50th day, there was a significant decrease in the activity of NADPH-cytochrome c reductase (by an average of 40%) in relation to the indicator on the 30th day, but in comparison with the control group, there was a slight statistically significant ( $p < 0,001$ ) increase in the indicator by 19%. On day 60, a dose of 1/100 DL50 resulted in a 20% decrease in the activity of NADPH-cytochrome c reductase.

The effect of sodium fluoride at a dose of 1/1000 DL50 did not cause a statistically significant effect of NADPH-cytochrome c reductase in relation to the control group on days 10 and 20. However, on days 30, 50, 60, there was a slight significant ( $p \leq 0,005$ ) increase in the enzyme activity by an average of 4-6%.

In microsomes of rat hepatocytes, oral administration of sodium fluoride at a dose of 1/10 DL50 led to an increase ( $p < 0,001$ ) in comparison with the control group in the activity of NADH-cytochrome c reductase by 10.23.31 and 20%, respectively, by 10, 20, 30. 50 days. On day 60, there was a statistically significant ( $p < 0,001$ ) decrease in the activity of NADH-cytochrome c reductase by an average of 39%. The effect of sodium fluoride at a dose of 1/100 DL50 was accompanied by a gradual increase ( $p \leq 0,038$ ) in the activity of microsomal NADH-cytochrome c reductase by 5, 11, 2 and 30%, respectively, on days 10, 20, 30, 50 of observation. On day 60, the value of the indicator decreased in relation to the preliminary term of the experiment by an average of 38%, but in relation to the value of the control group increased by 18% ( $p < 0,001$ ). The action of sodium fluoride in 1/1000 DL 50 practically did not cause changes in the activity of microsomal NADH-cytochrome c reductase in rats in comparison with the control group. Only on the 30th and 50th days there was an insignificant 4-5% ( $p=0,013$  and  $p=0,045$ ) increase in enzyme activity.

When analyzing the results obtained, it can be argued about the violation of the reductase activity of microsomes of hepa-

toocytes of experimental animals receiving sodium fluoride at a dose of 1/10, 1/100 DL50 and, as a consequence, the functioning of electron transport systems. The revealed changes on the 60th and in some cases on the 50th day are associated with the rearrangement of the lipid environment of microsomal reductases due to the possible initiation of the formation of a significant amount of reactive oxygen species according to literature data [16]. An increase in the activity of NAD (P) H-cytochrome c reductase in rats upon administration of sodium fluoride for a month can be considered as a protective-compensatory reaction and as a reason for a faster flow of electrons from reduced forms of NAD (P) H to cytochromes

P-450 and b5 and significant formation of reactive oxygen species.

The dynamics of changes in the intensity of CL in the liver of rats as a percentage of the control group is shown in figure 1. The dynamics of the activity of NADPH reductase in microsomes of rat hepatocytes during toxicification with sodium fluoride at doses of 1/10 and 1/100 DL50 is shown in Fig. 2 and 3.

The intensity of lipid peroxidation in the liver of rats, which were injected for a long time with sodium fluoride in doses of 1/10 and 1/100 DL50, was judged by the amount of its molecular products - diene conjugates of TBA reactants and chifion bases (Table 3).

Table 1. Intensity of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced chemiluminescence in rat liver homogenates upon exposure to sodium fluoride at a subtoxic dose (n = 10; Me [25%; 75%] or M±s)

Day of observation	Chemiluminescence intensity, pulse / s		
	Control	dose, DL50	
		1/10	1/100
10	294±23,5	403±29,5 p<0,001	398 [320; 418] p=0,002
20	296 [280; 335]	707±26,2 p<0,001	428 [415; 440] p<0,001
30	321±14,0	650 [638; 689] p=0,003	598 [575; 607] p<0,001
50	317±18,1	539 [498; 550] p<0,001	445 [432; 487] p<0,001
60	343±14,5	229±19,9 p<0,001	409±19,7 p<0,001

note: p is the level of statistical significance in relation to control

Table 2. Activity of NAD (P) H-cytochrome c reductase in the microsomal fraction of rat liver under the influence of sodium fluoride at subtoxic doses (n = 10; Me [25%; 75%] or M ± s)

Dose	Day of observation	NADPH-cytochrome c reductase, nM cytochrome c/mg protein • min	NADH-cytochrome c reductase, nM cytochrome c/mg protein • min
1/10 DL50	10	234±3,82 p<0,001	1027 [1017; 1030] p<0,001
	20	261±4,27 p=0,002	1156±9,45 p<0,001
	30	241 [240; 245] p<0,001	1233 [1228; 1245] p<0,001
	50	149±4,74 p<0,001	1115±11,0 p<0,001
	60	127±4,89 p<0,001	590±43,1 p<0,001
1/100 DL50	10	198 [195; 210] p=0,004	988 [945; 1005] p=0,038
	20	241 [238; 244] p<0,001	1036 [1028; 1056] p<0,001
	30	249±4,83 p=0,003	1148±21,8 p<0,001
	50	222±4,40 p<0,001	1210±18,9 p=0,002
	60	150±6,08 p<0,001	1129 [1116; 1156] p<0,001
1/1000 DL50	10	191 [188; 200] p=0,307	963 [945; 980] p=0,199
	20	196 [192; 204] p=0,076	985 [934; 1005] p=0,096
	30	199±8,71 p=0,005	993 [965; 1010] p=0,013
	50	192 [188; 200] p=0,03	978 [956; 1005] p=0,045
	60	197 [190; 210] p=0,016	980 [964; 1005] p=0,140
Control	10	189±5,31	932 [883; 977]
	20	192±5,71	950 [882; 975]
	30	188 [185; 190]	944 [922; 970]
	50	186±3,43	946 [893; 956]
	60	187 [184; 193]	963 [948; 977]

note: p is the level of statistical significance in relation to control



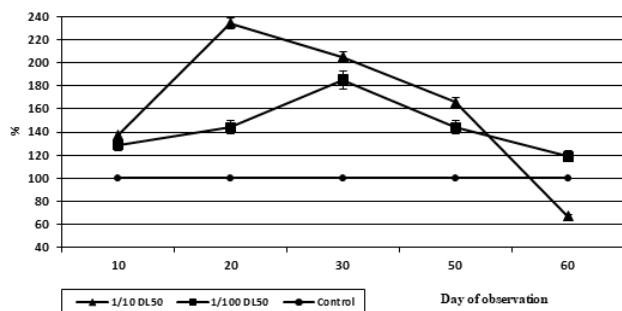


Fig. 1. Dynamics of changes in the intensity of CL in the liver of rats during toxification with sodium fluoride in doses of 1/10 and 1/100 DL50

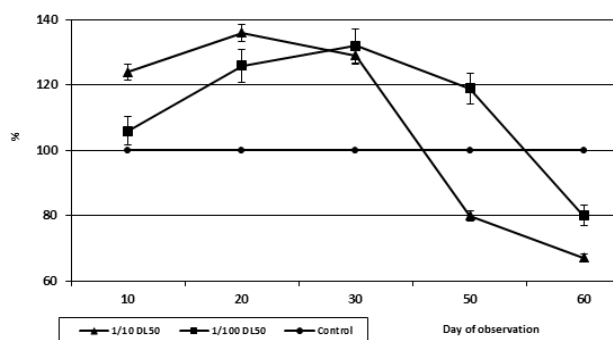


Fig. 2. Dynamics of changes in the activity of NADPH-reductase in microsomes of rat hepatocytes during toxification with sodium fluoride in doses of 1/10 and 1/100 DL50

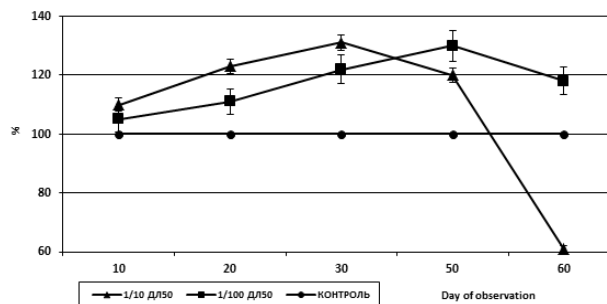


Fig. 3. Dynamics of changes in the activity of NADPH reductase in microsomes of rat hepatocytes during toxification with sodium fluoride in doses of 1/10 and 1/100 DL50

The results obtained indicated a statistically significant ( $p \leq 0,002$ ) increase in DC in relation to the control group in all periods of observation. In the case of a dose of 1/10 DL50, the most significant increase in this indicator was observed on the 10th day of the experiment, 265%, and with the introduction of a dose of 1/100 DL50 on the 20th day by an average of 234%. The dynamics of these changes is shown in Fig. 4.

An increase in the amount of TBA-reactants was also observed in the liver of rats of the main group (Table 3). On the 10th day of the experiment, an insignificant increase in the indicator was observed in the main group for both doses ( $p=0,059$  and  $p=0,199$ ). When a dose of 1/10 DL50 was administered, after 20 days, an increase ( $p \leq 0,001$ ) in the level of TBA-reactants in relation to the control group by 27, 41, 78, 133% was clearly determined. The same dynamics was observed when the dose was reduced to 1/100 DL50, at which the increase in the amount of TBA-reactants was 19, 73, 70, 99%, respectively, on days 20, 30, 50, 60 (Fig. 5).

Table 3. Content of lipid peroxidation products in rat liver tissue homogenates under the influence of sodium fluoride in subtoxic doses ( $n = 10$ ; Me [25%; 75%] or  $M \pm s$ )

Dose	Day of observation	Diene conjugates nM / mg protein	TBA reactants nM / mg protein	Chiff bases mind. units / mg lipids
1/10 DL50	10	9,09±0,88 $p < 0,001$	0,70±0,07 $p = 0,059$	0,37 [0,28; 0,40] $p = 0,545$
	20	8,12±0,88 $p < 0,001$	0,91±0,08 $p = 0,001$	0,33 [0,20; 0,47] $p = 0,290$
	30	7,64±0,60 $p < 0,001$	1,04±0,12 $p = 0,001$	1,08 [0,90; 1,15] $p < 0,001$
	50	6,9 [6,2; 7,8] $p < 0,001$	1,45±0,15 $p < 0,001$	1,53±0,16 $p < 0,001$
	60	6,2 [5,9; 7,2] $p < 0,001$	1,76±0,16 $p < 0,001$	1,83 [1,50; 1,91] $p < 0,001$
1/100 DL50	10	7,65 [6,94 8,5] $p = 0,001$	0,66 [0,60; 0,70] $p = 0,199$	0,29±0,07 $p = 0,791$
	20	8,75 [8,54 9,8] $p < 0,001$	0,89 [0,75; 0,94] $p = 0,019$	0,24 [0,20; 0,33] $p = 0,821$
	30	7,35 [6,64 8,0] $p < 0,001$	1,28±0,11 $p = 0,002$	0,79±0,15 $p < 0,001$
	50	6,8 [6,0; 7,2] $p < 0,001$	1,38±0,04 $p < 0,001$	0,90±0,12 $p < 0,001$
	60	6,30±0,72 $p = 0,002$	1,49±0,12 $p < 0,001$	0,97±0,09 $p < 0,001$
Control	10	2,49±0,54	0,58 [0,52; 0,69]	0,33 [0,19; 0,50]
	20	2,5 [2,3; 2,8]	0,72±0,13	0,29±0,15
	30	2,9 [2,5; 3,2]	0,75 [0,59; 0,86]	0,39±0,09
	50	2,68±0,58	0,81±0,12	0,33±0,10
	60	3,15 [2,8; 3,5]	0,74 [0,65; 0,88]	0,36±0,07

note:  $p$  is the level of statistical significance of significance in relation to control



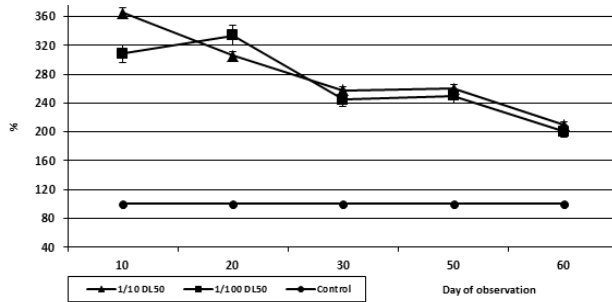


Fig. 4. Dynamics of changes in the content of diene conjugates in rat liver after administration of sodium fluoride at a dose of 1/10 i 1/100 DL50

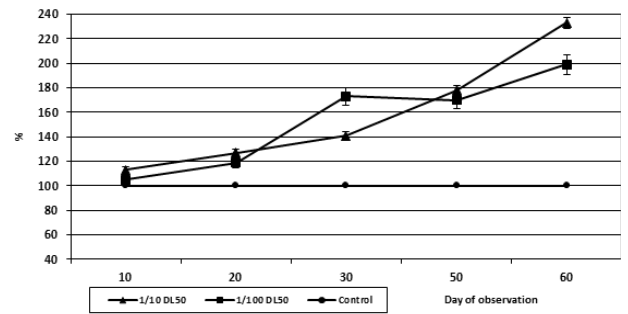


Fig. 5. Dynamics of changes in the content of TBA-reactants in the liver of rats after administration of sodium fluoride at doses of 1/10 and 1/100 DL50

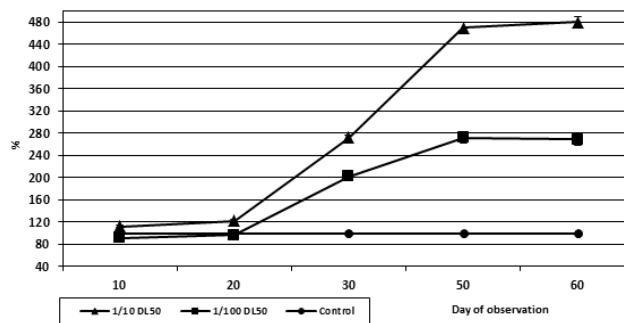


Fig. 6. Dynamics of changes in the content of cipher bases in rat liver after administration of sodium fluoride at a dose of 1/10 i 1/100 DL50

Table 4. Content of cytochromes P-450 and b5 in the microsomal fraction of rat liver under the influence of sodium fluoride in subtoxic doses ( $n = 10$ ;  $Me [25\%; 75\%]$  or  $M \pm s$ )

Dose	Day of observation	Cytochrome P-450, nM / mg protein	Cytochrome b5, nM / mg protein
1/10 DL50	10	1,25 [1,18; 1,34] $p < 0,001$	0,93 [0,88; 1,05] $p < 0,001$
	20	1,69 $\pm$ 0,09 $p < 0,001$	1,31 $\pm$ 0,07 $p < 0,001$
	30	1,32 [1,22; 1,37] $p < 0,001$	1,21 [1,15; 1,28] $p = 0,002$
	50	0,48 $\pm$ 0,16 $p < 0,001$	1,02 [0,85; 1,10] $p = 0,001$
	60	0,40 [0,37; 0,45] $p < 0,001$	0,38 [0,22; 0,49] $p < 0,001$
1/100 DL50	10	1,15 $\pm$ 0,07 $p = 0,004$	0,83 $\pm$ 0,14 $p < 0,001$
	20	1,36 $\pm$ 0,06 $p < 0,001$	1,21 $\pm$ 0,07 $p < 0,001$
	30	1,29 $\pm$ 0,06 $p < 0,001$	1,36 $\pm$ 0,06 $p < 0,001$
	50	1,09 [1,03; 1,11] $p = 0,011$	1,09 [1,08; 1,19] $p < 0,001$
	60	0,54 $\pm$ 0,13 $p = 0,001$	0,43 [0,37; 0,52] $p < 0,001$
Control	10	0,88 $\pm$ 0,21	0,59 [0,57; 0,60]
	20	0,96 [0,88; 1,12]	0,63 [0,57; 0,68]
	30	1,03 [0,95; 1,18]	0,64 $\pm$ 0,11
	50	0,92 $\pm$ 0,14	0,69 $\pm$ 0,14
	60	0,88 $\pm$ 0,19	0,68 $\pm$ 0,09

note:  $p$  is the level of statistical significance of significance in relation to control

On days 10 and 20, at doses of 1/10 and 1/100 DL50, no statistically important changes in the amount of lipid peroxidation, which are chiff bases, were observed. The results gave an idea of a significant gradual increase ( $p < 0,001$ ) in the level of this indicator at 30, 50, 60 days by 172, 370 and 380%, respectively. A similar, but less pronounced picture was revealed for a dose of 1/100 DL50 - by 103, 173, and 169% (Fig. 6).

Analysis of cytochrome P-450 on days 10, 20, 30 in rats treated with sodium fluoride at a dose of 1/10 DL50 showed a statistically significant ( $p < 0,001$ ) increase in the pool by 44, 74, 23% in comparison with the control group (Table 4).

In the study of the pool of cytochrome b5 under the influence of sodium fluoride on hepatocytes, it was found to increase by 60, 113 and 78% at a dose of 1/10 DL50. On days 50 and 60,

the level of cytochrome P-450 in microsomes of rat hepatocytes decreased in comparison with the control group ( $p < 0,001$ ) by 48 and 52%, respectively. The level of cytochrome b5 increased on the 50th day by 50% and decreased on the 60th day by 47%.

Oral administration of sodium fluoride at a dose of 1/100 DL50 led to an increase ( $p \leq 0,001$ ) in the amount of cytochrome P-450 by day 50 of the experiment (the most pronounced result on day 20 by 40%), as well as cytochrome b5 (maximum on day 30 by 112 %) (Table 4). On the 60th day of observation, the level of cytochromes in the microsomal fraction of rat hepatocytes with the introduction of a dose of sodium fluoride 1/100 DL50 decreased in comparison with the control group ( $p < 0,001$ ) by 35-39%.

The dynamics of changes in the content of microsomal cytochromes as a percentage of the control group of microsomal cytochromes is shown in Fig. 7, 8.

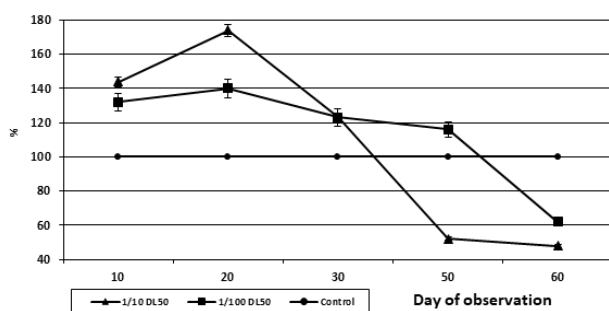


Fig. 7. Dynamics of changes in the total pool of cytochrome P-450 in microsomes of rat hepatocytes after administration of sodium fluoride at doses of 1/10 and 1/100 DL50

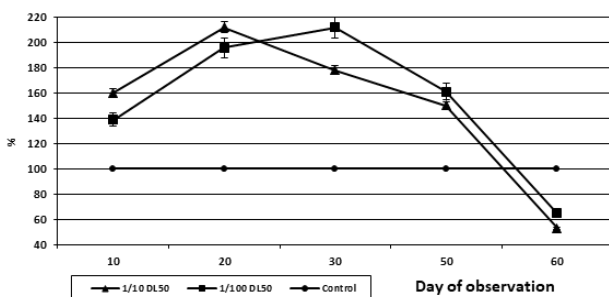


Fig. 8. Dynamics of changes in the content of the total pool of cytochrome b5 in microsomes of rat hepatocytes after administration of sodium fluoride in doses of 1/10 and 1/100 DL50

**Conclusions.** Long-term oral administration of sodium fluoride, especially at a dose of 1/10 DL50, can lead to a significant disruption of the detoxification function of the microsomal membrane of rat hepatocytes due to the gradual inhibition of the activity of its enzymes and a decrease in the rate of biotransformation of both xenobiotics and endogenous substrates. The increase in the indicators of chifon bases, dienes and TBA-reactants under the influence of sodium fluoride indicates the purposefulness of the lipid peroxidation process towards the formation of toxic end products.

## REFERENCES

1. Акімов О. С. Міщенко А.В. Вплив фторидів на процеси пероксидації в крові щурів // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених «МЕДИЧНА НАУКА 2018», Полтава, 2018. – С. 42–43.

2. Багмут И. Ю. и др. Подострое влияние олигоэфиров на антиокислительную активность печени у белых крыс. // Ключевые вопросы в современной науке. 2014: материалы X международной научно-практической конференции (Болгария, София, 17–25 апреля 2014). Болгария, София: «Бял ГРАД-БГ» ООД. 2014. Т. 28. С. 80–85.

3. Багмут И.Ю., Жуков В.И., Наконечная О.А. Структурно-функціональний стан мембран під впливом поліетиленоксидів в експерименті // Харківський медичний журнал. Теоретична та експериментальна медицина, електронне видання. Харків. 2013. № 1. С. 18–24.

4. Багмут И.Ю., Колесник, И.Л., Титкова А. В. Интенсивность тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях гепатоцитов крыс под влиянием фторида натрия. // Проблеми безперервної медичної освіти та науки 2019, (3), 57-61.

5. Богданов О.В., Костенко В.О. Вплив інгібітора ядерної транслокації транскрипційного фактора κВ на окисний метаболізм у тканинах пародонта щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію. // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії, 2017; 17: 1(57): 218-220.

6. Богданов О.В., Костенко В.О.. Вільнорадикальні процеси в тканинах пародонта щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію. // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії, 2016, Т. 16, № 2 (54), С. 210-213.

7. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Медицинская пресса, 2006. – 400.

8. Зайцева О.В. Підгострий токсикологічний вплив нової групи синтезованих олігоэфірів на проксидантно-антиоксидантний гомеостаз білих щурів. // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2014. Вип. 68. С. 286–292.

9. Колісник І. Л.. Стан антиокислювальної активності печінки щурів під впливом малих доз фториду натрію. // Проблеми екології та медицини, 2016, Т. 20, № 5-6, С. 31-36.

10. Костенко В.О., Акімов О.Є., Ковальова І.О., Міщенко А.В., Френкель Ю.Д.. Молекулярні механізми впливу фторидів на організм ссавців. // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії, 2018, Т. 18, № 1 (61), С. 303-308.

11. Меерсон Ф. З. Адапционная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации. М.: Нурохия Medical, 1993. – 331.

12. Наконечная О.А. и др. Влияние олигоэфирмоноэпоксида и олигоэфирциклокарбоната на антиоксидантную систему и процессы детоксикации в подостром опыте // Современный научный вестник. Белгород. 2013. № 52 (191). С. 48–55.

13. Тригуб В.І. Закономірності поширення фтору у навколишньому середовищі. // Геополітика та екогеодинаміка регіонів. 2014. Т. 10, №1. С. 231-238.

14. Фесенко О.Г. Характеристика нітратного забруднення поверхневих і підземних вод Полтавського регіону. // Вісн. Полтавської державної аграрної академії. 2014; 1: 121-124.

15. Sarma A.D., Mallick A.R., Ghosh A.K. Free radicals and their role in different clinical conditions: a novel view. // IJPSR. – 2010. – Vol. 1 (3). – P. 185-192

16. Yamaguti P.M., Simoes A., Souza D.N. [et. al.] Effects of single exposure of sodium fluoride on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in salivary glands of rats // Oxidat. Med. Cell Long Article, ID674593, 7.

## SUMMARY

### ENZYMATIC ACTIVITY IN MICROSOMES, LIPID PEROXIDATION OF MICE HEPATOCYTES UNDER THE SODIUM FLUORIDE

<sup>1</sup>Kolisnyk I., <sup>2</sup>Voloshin O., <sup>2</sup>Savchenko I., <sup>2</sup>Yanchevskiy O., <sup>2</sup>Rashidi B.

<sup>1</sup>Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education; <sup>2</sup>The State Institution "Lugansk State Medical University", Rubizhne, Ukraine

Fluorine is one of the most widespread and necessary microelements for the body of animals and humans, which is necessary in a clearly limited amount. Different concentrations of fluorine can affect the state of lipid peroxidation, as well as the functional state of the microsomes of liver hepatocytes. The studies were carried out on mature Wistar rats weighing 180-220 g. Animals were inoculated with an aqueous solution of sodium fluoride once a day for 60 days at doses of 1/10, 1/100 and 1/1000 DL<sub>50</sub>, which was 20 mg/kg, 2 mg/kg and 0,2 mg/kg body weight. Control rats received drinking water. Each group consisted of 10 animals, the studies of indicators were carried out on days 10, 20, 30, 50 and 60. The induction of free radical processes by sodium fluoride was confirmed using a chemiluminescent reaction of blood serum, the amount of diene conjugates in rat liver tissue homogenates was assessed spectrophotometrically, the content of TBA reactants in rat liver tissue homogenates was determined by the reaction of malondialdehyde and thiobarbituric acid (TBA). The level of chiff bases was determined with a spectrofluorometer, subcellular fractions of the liver were isolated by the method of differentiated centrifugation. An increase in the level of the indicator at a dose of 1/10 and 1/100 DL<sub>50</sub> of the intensity of lemiluminescence on the 30th day and its decrease on the 60th day was established. Increase in the activity of NAD (P) H-cytochrome c reductase in the microsomal fraction of the liver at the beginning of the study and a gradual decrease on the 50th and 60th days when using both dosages. The same dynamics was observed for NADH-cytochrome c reductase. With respect to diene conjugates of TBA-reactants and chiff bases, a tendency to increase was observed at all periods of the experiment. Indicators of cytochrome P-450 cytochrome b5 were increased up to 30 days and gradually decreased by 60 days. Long-term administration of sodium fluoride can cause the formation of toxic products and a decrease in the activity of enzymes of the microsomal membrane of hepatocytes.

**Keywords:** sodium fluoride, hepatocytes, toxic effect, microsomes, lipid peroxidation.

## РЕЗЮМЕ

### ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОСОМ, ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФТОРИДА НАТРИЯ

<sup>1</sup>Колесник И.Л., <sup>2</sup>Волошин А.Н., <sup>2</sup>Савченко И.И., <sup>2</sup>Янчевский А.В., <sup>2</sup>Рашиди Б.Р.

<sup>1</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования; <sup>2</sup>ГУ «Луганский государственный медицинский университет», Рубежное, Украина

Фтор является одним из значимых для организма животных и человека микроэлементов, который необходим в чет-

ко лимитированном количестве. Различные концентрации фтора могут влиять на состояние перекисного окисления липидов и функциональное состояние микросом гепатоцитов печени.

Исследования проведены на половозрелых крысах линии Wistar массой 180-220 г. Животных через зонд затравливали водным раствором фторида натрия, раз в сутки в течение 60 дней в дозах 1/10, 1/100 и 1/1000 ДЛ<sub>50</sub>, что составило 20 мг/кг, 2 мг/кг и 0,2 мг/кг массы. Крысы контрольной группы (n=10) получали питьевую воду. Крысы в зависимости от дозы фторида натрия разделены на группы, по 10 животных в каждой, оценка показателей проводилась на 10, 20, 30, 50 и 60 сутки. Подтверждение индуцирования фторидом натрия свободнорадикальных процессов выполнялось при помощи хемилуминесцентной реакции сыворотки крови, количество диеновых конъюгатов в гомогенатах ткани печени крыс оценивали спектрофотометрически, а содержание ТБК-реактантов - реакцией малонового диальдегида и тиобарбитуровой кислоты (ТБК). Уровень шифовых оснований определяли спектрофлюориметрией, субклеточные фракции печени выделялись методом дифференцированного центрифугирования. Установлено повышение уровня показателя в дозе 1/10 и 1/100 ДЛ<sub>50</sub> интенсивности лемилюминесценции на 30 сутки и его снижение на 60 сутки; повышение активности НАД(Ф) Н-цитохром редуктазы в микросомальной фракции печени вначале исследования и постепенное снижение на 50 и 60 сутки при использовании обеих дозировок. Подобная динамика прослеживалась относительно НАДН-цитохром редуктазы. Что касается диеновых конъюгатов, ТБК-реактантов и шифовых оснований наблюдалась тенденция к их увеличению на всех сроках эксперимента. Показатели цитохрома Р-450, цитохрома b5 были повышены до 30 суток и постепенно снижались к 60 суткам. Длительное введение фторида натрия способно вызывать образование токсических продуктов и снижение активности ферментов микросомальной мембраны гепатоцитов.

## რეზიუმე

მიკროსომების ფერმენტული აქტივობის და ლიპიდების ზეუანგური ჟანგვის მდგომარეობა ვირთავების ჰეპატოციტებში ნატრიუმის ფორიდის მოქმედების პირობებში

<sup>1</sup>ი. კოლესნიკი, <sup>2</sup>ა. ვოლოშინი, <sup>2</sup>ი. სავჩენკო, <sup>2</sup>ა. იანჩევსკი, <sup>2</sup>ბ. რაშიდი

<sup>1</sup>ხარკოვის დიპლომის შემდგომი განათლების სამედიცინო აკადემია; <sup>2</sup>ლუგანსკის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, რუბეჟნოე, უკრაინა

ფთორი ადამიანისა და ცხოველის ორგანიზმისათვის წარმოადგენს ერთ-ერთ მნიშვნელოვან მიკროელემენტს, რომელიც მკაცრად ლიმიტირებული ოდენობითაა აუცილებელი. ფთორის სხვადასხვა კონცენტრაციამ შესაძლოა იმოქმედოს ლიპიდების ზეუანგური ჟანგვის მდგომარეობასა და მიკროსომების ფუნქციურ მდგომარეობაზე ვირთავების ჰეპატოციტებში.

კვლევა ჩატარდა Wistar-ის ხაზის, 180-200 გრ მასის ზრდასრულ ვირთავებზე. ცხოველებში ზონდით შეიკვანებოდა ნატრიუმის ფთორიდის წყალხსნარი, დღეში

ერთხელ 60 დღის განმავლობაში დოზებით 1/10, 1/100 და 1/1000 დღ<sub>50</sub>, რაც შეადგენდა 20 მგ/კგ, 2 მგ/კგ და 0,2 მგ/კგ მასაზე. საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვები (n=10) იღებდნენ სასმელ წყალს. ვირთაგვები, ნატრიუმის ფთორიდის დოზის მიხედვით, დაიყო ჯგუფებად, თითოეულში – 10 ცხოველი; მანევრებლების შეფასება ხორციელდებოდა მე-10, მე-20, 30-ე და მე-60 დღეს. თავისუფალრადიკალური პროცესების ინდუცირება ნატრიუმის ფთორიდით დასტურდებოდა სისხლის შრატის ქემილუმინესცენტიური რეაქციით, დიენური კონიუგატების რაოდენობა ღვიძლის ქსოვილის ჰომოგენატებში შეფასდა სპექტროფოტომეტრულად, ხოლო თიობარბიტურატმუჟავას რეაქტანტებისა - მალონური დილდგიჟიდის და თიობარბიტურატმუჟავას რეაქციით. დადგენილია მანევრების მომატება დოზის 1/10 და

1/100 დღ<sub>50</sub> შემთხვევაში ლუმინესცენციის ინტენსივობის 30-ე დღეს და მისი შემცირება მე-60 დღეს, NAD(P)-ის H-ცოტოქრომის და რედუქტაზას მომატება ღვიძლის მიკროსომულ ფრაქციაში კვლევის დასაწყისში და თანდათანობით შემცირება 50-ე და მე-60 დღეს ორივე დოზის გამოყენების შემთხვევაში. თიობარბიტურატმუჟავას რეაქტანტების დიენური კონიუგატების შემთხვევაში ექსპერიმენტის ყველა ვადაზე აღინიშნა მატების ტენდენცია. ციტოქრომ-P-450 და ციტოქრომ-b5 მომატებული იყო 30-ე დღემდე და შემდეგ თანდათანობით მცირდებოდა 60-ე დღემდე. ნატრიუმის ფთორიდის ხანგრძლივმა შეყვანამ შესაძლოა გამოიწვიოს ტოქსიკური პროდუქტების წარმოქმნა და ჰეპატოციტების მიკროსომული მემბრანის ფერმენტული აქტივობის შემცირება.

## A MULTIPLEX PCR ASSAY FOR THE DIFFERENTIAL DETECTION OF *OPISTHORCHIS FELINEUS* AND *METORCHIS BILIS*

<sup>1</sup>Smagulova A., <sup>2</sup>Katokhin A., <sup>3</sup>Mambetpayeva B., <sup>3</sup>Kulmaganbetova N., <sup>1</sup>Kiyan V.

<sup>1</sup>Research Platform of Agricultural Biotechnology, S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Nur-Sultan, Kazakhstan;

<sup>2</sup>Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

<sup>3</sup>Astana Medical University, Nur-Sultan, Kazakhstan

Trematodes are parasites that have caused severe damage to human health since antiquity [1]. There are more than 91 species that infect humans and belong to 46 genera all over the world. According to their habitat in definitive hosts, they are classified as blood flukes, liver flukes, lung flukes, throat fluke, pancreatic fluke, and intestinal flukes [2]. Liver flukes belong to the family of *Opisthorchiidae* include 33 genera cause opisthorchiasis in piscivorous mammals, birds, and humans [3]. Human populations show high levels of infection with the main three liver fluke species within each of their distributional ranges [2]. Up to 680 million people worldwide are at risk of infection [4]. Recent estimates indicate that 45 million people living in Asia and Europe are infected, with approximately 35 million *C. sinensis* cases, 10 million *O. viverrini* cases, and 1.2 million cases of *O. felineus* [5-7]. The pathogen *M. bilis*, which occurs in the same territory as *O. felineus*, has attracted particular attention. It is widely registered in Russia and Kazakhstan, and there are several cases of mixed infections in humans and animals [8-13].

A variety of methods have been established for the effective diagnosis of opisthorchiasis infection, which include antigen-specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) [14-16] and various other polymerase chain reaction (PCR) technologies [17-19]. ELISA kits available on the market are not capable of the failure of *O. felineus* and *M. bilis* species detection in opisthorchiasis infection what is one of the major deficiencies. There are no commercially available molecular diagnostic kits for the simultaneous detection of mixed infections by *O. felineus* and *M. bilis*. Therefore, there is no clear understanding of the distribution of each of these species, their localization in the definitive host and approaches to treatment. The aim of this study was, therefore, to establish a multiplex PCR assay for the differential detection of *O. felineus* and *M. bilis* in clinical specimens, which will be necessary for the epidemiology, diagnoses, and control of trematodes infections. The advantage of this method of molecular diagnostics is the high specificity of the reaction,

the speed of the results obtained, and the possibility of differential diagnosis of two types of pathogens.

### Material and methods. Samples collection and DNA extraction

Samples of adult worms of *O. felineus* and *M. bilis* were collected from the artificially infected Syrian hamsters (Akmola region) and infected foxes (Karaganda region) in the territory of Kazakhstan. Genomic DNAs were extracted from adult parasites using the BioSilica DNA extraction kit (Novosibirsk, Russia), according to the manufacturer's instructions. Duodenal bile and feces samples of humans suspected of contracting infectious diseases were kindly provided by Astana Infectious Diseases Hospital, Kazakhstan, in compliance with patient confidentiality, and stored at -80°C until DNA extraction. Sample preparation was carried out according to the method of Duennigai K. et al.: a sample (feces - 500 mg, bile - 0.5 ml) is mixed with 4 ml of physiological saline and 0.4 ml of ethyl acetate, centrifuged at 4000 rpm for 10 min, followed by removal of the supernatant [20]. Genomic DNA was extracted from bile and feces samples using a method recommended by Duennigai K. et al. with some modification. The amount and purity of the extracted DNA could be determined by measuring absorption at 260 nm and 280 nm in the NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, USA). DNA was dissolved in ddH<sub>2</sub>O and stored at -70°C.

**Standard PCR.** Fragments of *co1* gene were amplified using primer pair (*OpiOpe2-co1F* 5'-TGGGGAGTTGATTTTTT-GATGTT-3' / *CO1-uniRv* 5'-AGCAATAACAAATCAAGTAT-CATG-3') for both opisthorchiids in order to reveal species-specific nucleotide substitutions. The PCR product was sequenced and deposited in GenBank (MT325502 - MT325505).

**Species-specific primer design.** Based on the *COX1* sequences, genome DNA from *O. felineus* and *M. bilis* were designed the multiplex PCR primers by targeting conserved sequences flanking variable regions with online free available primer programs PerlPrimer v1.1.21 (<http://perlprimer.sourceforge.net>) and Oligo Analyzer 1.2 software (<http://www.genelink.com>). Details of primer pairs are presented in Table 1.