

ВЛИЯНИЕ ТОКСОПЛАЗМ НА ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ПРОТООНКОГЕНОВ *BIRC5*, *ERBB-2/HER2-NEU*, *GLI*, *VEGF* И АНТИОНКОГЕНА *TP53* У КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ПАШИНСКАЯ Е.С.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №3. – С. 25-33.

THE EFFECT OF TOXOPLASMAS ON THE CHANGES IN THE EXPRESSION OF *BIRC5*, *ERBB-2/HER2-NEU*, *GLI*, *VEGF* PROTOONCOGENES AND THE ANTI-ONCOGENE *TP53* IN RATS IN THE EXPERIMENT

PASHINSKAYA E.S.

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2021;20(3):25-33.

Резюме.

Цель – изучить влияние токсоплазм на изменение экспрессии протоонкогенов *BIRC5*, *ERBB-2/HER2-NEU*, *GLI*, *VEGF*, антионкогена *TP53* у крыс в эксперименте в зависимости от дозы заражения и сроков развития паразита. Материал и методы. Опыт проводили на самках крыс линии Wistar с целью определения изменения экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI 1*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и антионкогена *TP53* в сравнении с генами референсами - β -актином (*ACTB*) и *GAPDH* путем ПЦР-анализа в тканях 10 здоровых и 120 инвазированных в разных дозах животных.

Статистическое сравнение результатов всех групп проводили с данными серии «контроль» (здоровые животные, биоптаты легких, печени, селезенки, головного мозга). Результаты, полученные у экспериментальных групп – доза заражения 25 тахизоитов токсоплазм на 1 г массы тела животного (5000 тахизоитов на самку) и доза заражения 50 тахизоитов токсоплазм на 1 г массы тела животного (10000 тахизоитов на самку), также сравнивали между собой.

Результаты. Выявлено, что токсоплазма вызывает зависимое от дозы заражения увеличение экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и изменение силы экспрессии антионкогена *TP53* на всех сроках развития паразита.

Заключение. Экспериментальный токсоплазмоз изменяет экспрессию протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и антионкогена *TP53* в тканях промежуточного хозяина.

Ключевые слова: токсоплазма, *BIRC5*, *ErbB-2/HER2-Neu*, *GLI*, *VEGF*, *TP53*, крыса.

Abstract.

Objectives. To study the effect of toxoplasmas on the changes in the expression of protooncogenes *BIRC5*, *ERBB-2/HER2-NEU*, *GLI*, *VEGF* and the anti-oncogene *TP53* in rats in an experiment depending on the infection dose and the period of parasite development.

Material and methods. The experiment was conducted on female Wistar rats to determine changes in the expression of the protooncogenes survivin (*BIRC5*), epidermal growth factor (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI 1*, vascular endothelial growth factor (*VEGF*) and the anti-oncogene *TP53* in comparison with the reference genes β -actin (*ACTB*) and *GAPDH* by means of PCR analysis in the tissues of 10 healthy and 120 animals invaded at different doses.

Statistical comparison of the results of all groups was drawn with the data of the «control» series (healthy animals, biopsies of the lungs, liver, spleen, brain). The results obtained in the experimental groups were as follows: the infection

dose of 25 toxoplasma tachyzoites per 1 g of the animal body weight (5000 tachyzoites per female) and the infection dose of 50 toxoplasma tachyzoites per 1 g of the animal body weight (10000 tachyzoites per female), then they were also compared with each other.

Statistical processing of the obtained data was carried out using the program Statistica 10.0. The differences were considered to be reliable at a significance level of less than 0.05 ($p < 0.05$).

Results. Toxoplasma was found to cause an infection dose-dependent increase in the expression of the protooncogenes survivin (*BIRC5*), epidermal growth factor (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, vascular endothelial growth factor (*VEGF*) and a change in the strength expression of the anti-oncogene *TP53* at all stages of the parasite development.

Conclusions. Experimental toxoplasmosis alters the expression of the protooncogenes survivin (*BIRC5*), epidermal growth factor (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, vascular endothelial growth factor (*VEGF*), and the anti-oncogene *TP53* in the tissues of the intermediate host.

Key words: *toxoplasma*, *BIRC5*, *ErbB-2/HER2-Neu*, *GLI*, *VEGF*, *TP53*, *rat*.

Известно, что онкологические заболевания могут возникать как у взрослых, так и у детей. По частоте выявления лидируют рак легких, желудка, толстой кишки, печени, молочной железы, лейкозы, рак головного мозга [1-4].

В зарубежной литературе встречаются статьи, в которых авторы показывают роль протист в канцерогенезе. Показано, что *Trichomonas vaginalis* может принимать участие в развитии рака простаты, шейки матки [5, 6].

Выявлено, что у детей с онкологическими заболеваниями, проходящих химиотерапию, фиксируются криптоспоридии, лямблии, *Entamoeba coli* и *Chilomastix mesnili*, что осложняет успешное лечение [7-9].

Кроме того, встречаются сообщения, в которых говорится о взаимосвязи между криптоспоридиозом и развитием колоректальной аденокарциномы [10, 11].

Лимфома Беркитта чаще всего встречается у детей, живущих в местах, эндемичных по малярии.

Среди пациентов со злокачественными опухолями пищеварительного тракта, гематологическими и гинекологическими злокачественными новообразованиями выявлено, что процент встречаемости антител IgG к *T. gondii* значительно выше у людей с онкологией, чем у здоровых [12-14].

Известно, что паразит негативно влияет на нейрональные стволовые и моноцитарные клетки, что сопровождается нарушением гомеостаза организма [12, 14].

Таким образом, можно сделать вывод, что одноклеточные паразиты играют весомую роль в развитии хронических форм заболеваний, а возникающие при этом процессы могут приводить

к агрессивным последствиям. Однако вопрос о том, могут ли токсоплазмы быть инициаторами бластомогенеза за счет их воздействия на молекулярно-генетическом уровне, остается открытым.

Цель – изучить влияние токсоплазм на изменение экспрессии протоонкогенов *BIRC5*, *ERBB-2/HER2-NEU*, *GLI*, *VEGF* и антионкогена *TP53* у крыс в эксперименте в зависимости от дозы заражения и сроков развития паразита.

Материал и методы

Для достижения поставленной цели проводили определение экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI 1*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и антионкогена *TP53* в сравнении с генами референсами – β -актином (*ACTB*) и *GAPDH* путем ПЦР-анализа в тканях 10 здоровых самок крыс (интактный контроль, первая серия). Забор материала (печень, селезенка, легкие, головной мозг) проводили после умерщвления животных под воздействием эфирного наркоза.

Серию номер два проводили с целью выяснения роли паразита в канцерогенных процессах путем оценки изменения экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI 1*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и антионкогена *TP53* в сравнении с генами референсами β -актином (*ACTB*) и *GAPDH* в тканях 60 перорально инвазированных крыс. Самок заражали в дозе 25 тахизоитов токсоплазм на 1 г массы тела животного (5000 тахизоитов на самку). Животных выводили из эксперимента под воздействием эфирного наркоза на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е, 42-е сутки после

заражения и проводили забор биоптатов печени, селезенки, легких, головного мозга.

Изучение роли *T. gondii* в изменении экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и антионкогена *TP53* в сравнении с генами референсами β -актином (*ACTB*) и *GAPDH* в тканях 60 зараженных перорально самок крыс (третья серия). Крыс инвазировали в дозе 50 тахизоитов на 1 г массы тела животного (10000 тахизоитов на самку). Из эксперимента животных выводили под воздействием эфирного наркоза на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е, 42-е сутки после заражения и проводили забор материала (печень, селезенка, легкие, головной мозг).

Статистическое сравнение результатов всех групп проводили с данными серии «контроль» (здоровые животные, биоптаты легких, печени, селезенки, головного мозга). Результаты, полученные у экспериментальных групп – доза заражения 25 тахизоитов токсоплазм на 1 г массы тела животного (5000 тахизоитов на самку) и доза заражения 50 тахизоитов токсоплазм на 1 г массы тела животного (10000 тахизоитов на самку), также сравнивали между собой.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программы Statistica 10.0. Для получения достоверного результата использовали U-тест Манна-Уитни (Mann-Whitney) или дисперсионный анализ Краскала-Уоллиса (Kruskal-Wallis ANOVA). Различия считали достоверными при уровне значимости менее 0,05 ($p < 0,05$).

Результаты

У контрольных животных (здоровые, серия №1) в тканях лёгких, печени, селезенки, мозга экспрессии гена *BIRC5*, *GLI*, *VEGF*, *ErbB-2/HER2-Neu* не выявлено. Уровень экспрессии *TP53* в лёгких составил 0,034 относительных единицы (95% ДИ: 0,022-0,046), в печени – 0,032 (95% ДИ: 0,020-0,044), в селезенке – 0,035 (95% ДИ: 0,025-0,045), в головном мозге – 0,035 (95% ДИ: 0,024-0,046) относительных единиц.

В биоптатах второй серии (инвазия в дозе 25 тахизоитов токсоплазм на 1 г массы тела животного, 5000 тахизоитов на самку, легкие, печень, селезенка, головной мозг), забранных на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е, 42-е сутки развития паразита, была зафиксирована экспрессия сурвивина

на (*BIRC5*) на следующих уровнях: в ткани легких на 7-е сутки – 0,006 относительных единиц (95% ДИ: 0,003-0,009), на 14-е сутки – 0,007 относительных единиц (95% ДИ: 0,003-0,0120), на 21-е сутки – 0,008 (95% ДИ: 0,001-0,0150), 28-е сутки – 0,009 (95% ДИ: 0,002-0,015), 35-е сутки – 0,013 (95% ДИ: 0,007-0,019), 42-е сутки – 0,007 (95% ДИ: 0,004-0,009) относительных единиц.

В печени животных анализируемой группы уровень *BIRC5* составил на 7-е сутки 0,006 относительных единиц (95% ДИ: 0,002-0,009), на 14-е сутки – 0,017 (95% ДИ: 0,001-0,033), на 21-е сутки – 0,012 (95% ДИ: 0,002-0,022), на 28-е – 0,015 (95% ДИ: 0,004-0,027), на 35-е сутки – 0,038 (95% ДИ: 0,0307-0,0457), 42-е сутки – 0,015 (95% ДИ: 0,002-0,031) относительных единиц.

В селезенке экспрессия сурвивина на 7-е сутки эксперимента достигла 0,033 относительных единиц (95% ДИ: 0,013-0,053), на 14-е сутки – 0,058 (95% ДИ: 0,043-0,074), на 21-е сутки – 0,060 (95% ДИ: 0,046-0,075), 28-е сутки – 0,043 (95% ДИ: 0,028-0,058), на 35-е сутки – 0,055 (95% ДИ: 0,040-0,069), на 42-е сутки – 0,061 (95% ДИ: 0,050-0,071) относительных единиц.

Анализ результатов изучаемого показателя выявил экспрессию сурвивина в головном мозге крыс четвертой серии на следующем уровне: 7-е сутки – 0,020 (95% ДИ: 0,003-0,037) относительных единиц, к 14-м суткам – 0,025 (95% ДИ: 0,008-0,043), к 21-м суткам – 0,029 (95% ДИ: 0,013-0,046), к 28-м – 0,038 (95% ДИ: 0,023-0,052), к 35-м суткам – 0,028 (95% ДИ: 0,019-0,036), к 42-м суткам – 0,050 (95% ДИ: 0,028-0,071) относительных единиц.

Сравнение с данными здоровых животных (контроль) показало достоверный рост экспрессии изучаемого гена (*BIRC5*) на всех сроках развития паразитоза в легких, печени, селезенке и головном мозге ($p=0,0051$). Внутригрупповой анализ достоверных отличий не выявил.

Результат экспрессии *VEGF* в легких самок крыс второй серии показал, что на 7-е сутки после заражения активность исследуемого гена в тканях легких составила 0,016 (95% ДИ: 0,006-0,025) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,023 (95% ДИ: 0,003-0,043), на 21-е сутки – 0,023 (95% ДИ: 0,014-0,032), на 28-е сутки – 0,028 (95% ДИ: 0,008-0,048), на 35-е сутки – 0,034 (95% ДИ: 0,019-0,050), на 42-е сутки – 0,023 (95% ДИ: 0,010-0,036) относительных единиц.

В печени уровень *VEGF* составил на 7-е сутки 0,041 (95% ДИ: 0,022-0,060) относительных

единиц, на 14-е сутки – 0,041 (95% ДИ: 0,031-0,050), на 21-е сутки – 0,032 (95% ДИ: 0,026-0,037), на 28-е сутки – 0,035 (95% ДИ: 0,022-0,049), на 35-е сутки – 0,033 (95% ДИ: 0,026-0,040), на 42-е сутки – 0,022 (95% ДИ: 0,013-0,032) относительных единиц.

В биоптатах селезенки экспрессия исследуемого гена была на 7-е сутки – 0,045 (95% ДИ: 0,034-0,056) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,063 (95% ДИ: 0,048-0,078), на 21-е сутки – 0,036 (95% ДИ: 0,028-0,044), на 28-е сутки – 0,019 (95% ДИ: 0,007-0,031), на 35-е сутки – 0,020 (95% ДИ: 0,012-0,028), на 42-е сутки – 0,012 (95% ДИ: 0,006-0,018) относительных единиц.

Уровень экспрессии *VEGF* в тканях головного мозга к 7-м суткам эксперимента составил 0,023 (95% ДИ: 0,016-0,031) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,080 (95% ДИ: 0,029-0,132), на 21-е сутки – 0,057 (95% ДИ: 0,043-0,070), на 28-е сутки – 0,036 (95% ДИ: 0,023-0,050), на 35-е сутки – 0,028 (95% ДИ: 0,021-0,036), на 42-е сутки – 0,023 (95% ДИ: 0,019-0,028) относительных единиц.

Анализ данных показал, что экспрессия *VEGF* достоверно превышает результаты здоровых животных на всех сроках развития паразита как в легких, печени, селезенке, так и в головном мозге ($p=0,0051$). Внутригрупповой анализ достоверных отличий не выявил.

Экспрессия в ткани легких *ErbB-2/HER2-Neu* на 7-е сутки развития паразита составила 0,160 относительных единиц (95% ДИ: 0,094-0,225), на 14-е сутки – 0,225 относительных единиц (95% ДИ: 0,152-0,297), на 21-е сутки – 0,287 (95% ДИ: 0,239-0,335), 28-е сутки – 0,276 (95% ДИ: 0,220-0,331), 35-е сутки – 0,326 (95% ДИ: 0,252-0,400), 42-е сутки – 0,436 (95% ДИ: 0,338-0,534) относительных единиц.

В биоптатах печени экспериментальных животных уровень выраженности *ErbB-2/HER2-Neu* на 7-е сутки был 0,179 относительных единиц (95% ДИ: 0,114-0,244), на 14-е сутки – 0,259 (95% ДИ: 0,219-0,298), на 21-е – 0,226 (95% ДИ: 0,166-0,286), 28-е сутки – 0,185 (95% ДИ: 0,144-0,225), на 35-е сутки – 0,169 (95% ДИ: 0,103-0,234), на 42-е сутки – 0,129 (95% ДИ: 0,076-0,182) относительных единиц.

Уровень экспрессии исследуемого гена в селезенке крыс к 7-м суткам после инвазии составил 0,190 (95% ДИ: 0,139-0,240) относительных единиц, к 14-м – 0,271 (95% ДИ: 0,192-0,349), к 21-м – 0,295 (95% ДИ: 0,210-0,380), к 28-м – 0,226 (95% ДИ: 0,172-0,280), к 35-м суткам – 0,224

(95% ДИ: 0,137-0,312), к 42-м – 0,260 (95% ДИ: 0,182-0,338) относительных единиц.

Результаты исследования показали, что экспрессия в головном мозге *ErbB-2/HER2-Neu* на 7-е сутки составила 0,131 (95% ДИ: 0,092-0,171) относительных единиц, на 14-е – 0,133 (95% ДИ: 0,069-0,196), на 21-е – 0,042 (95% ДИ: 0,019-0,065), на 28-е – 0,023 (95% ДИ: 0,008-0,037), 35-е – 0,018 (95% ДИ: 0,007-0,029), на 42-е – 0,016 (95% ДИ: 0,006-0,025) относительных единиц.

Выявлено, что экспрессия *ErbB-2/HER2-Neu* достоверно выше результатов экспрессии здоровых животных на всех сроках развития токсоплазм во всех изучаемых органах ($p=0,0051$). Внутригрупповой анализ достоверных отличий не выявил.

Экспрессия *GLI* в тканях легких животных к 7-м суткам после заражения токсоплазмами составила 0,105 (95% ДИ: 0,080-0,131) относительных единиц, к 14-м – 0,109 (95% ДИ: 0,099-0,120), к 21-м – 0,091 (95% ДИ: 0,072-0,110), к 28-м – 0,108 (95% ДИ: 0,091-0,125) относительных единиц, к 35-м суткам – 0,113 (95% ДИ: 0,102-0,123), к 42-м суткам – 0,112 (95% ДИ: 0,099-0,124) относительных единиц.

В свою очередь, уровень экспрессии изучаемого протоонкогена в печени крыс находился на отметке 0,188 (95% ДИ: 0,146-0,229) относительных единиц на 7-е сутки эксперимента, на 14-е сутки – 0,162 (95% ДИ: 0,093-0,232) относительных единиц, на 21-е сутки – 0,115 (95% ДИ: 0,060-0,171), на 28-е сутки – 0,129 (95% ДИ: 0,098-0,161), на 35-е сутки – 0,108 (95% ДИ: 0,101-0,114), на 42-е сутки – 0,082 (95% ДИ: 0,054-0,109) относительных единиц.

Сравнительный анализ показал, что в селезенке показатель выраженности гена на 7-е сутки исследования был равен 0,388 (95% ДИ: 0,300-0,476) относительных единиц, на 14-е – 0,338 (95% ДИ: 0,232-0,444), на 21-е сутки – 0,297 (95% ДИ: 0,158-0,435) относительных единиц, на 28-е сутки – 0,308 (95% ДИ: 0,140-0,476), на 35-е сутки – 0,226 (95% ДИ: 0,131-0,322), на 42-е сутки – 0,124 (95% ДИ: 0,082-0,166) относительных единиц.

В тканях головного мозга экспрессия *GLI* к 7-м суткам после заражения составила 0,308 (95% ДИ: 0,234-0,382) относительных единиц, к 14-м суткам – 0,342 (95% ДИ: 0,264-0,421), к 21-м – 0,325 (95% ДИ: 0,181-0,470) относительных единиц, к 28-м суткам – 0,459 (95% ДИ: 0,325-0,594) относительных единиц, к 35-м суткам – 0,339 (95% ДИ: 0,264-0,414), к 42-м суткам – 0,199 (95% ДИ:

0,147-0,251) относительных единиц.

Выявлено достоверное отличие от группы контроля на всех сроках развития паразита ($p=0,0051$). В свою очередь, отличий внутри экспериментальной группы в зависимости от стадии развития токсоплазм не выявлено.

Экспрессия антионкогена *TP53* в тканях легких к 7-м суткам после инвазии экспериментальных самок составила 0,140 (95% ДИ: 0,104-0,175) относительных единиц, к 14-м суткам – 0,171 (95% ДИ: 0,128-0,213), к 21-м суткам – 0,159 (95% ДИ: 0,126-0,193), к 28-м суткам – 0,166 (95% ДИ: 0,124-0,208), к 35-м суткам – 0,154 (95% ДИ: 0,120-0,189), к 42-м суткам – 0,160 (95% ДИ: 0,118-0,202) относительных единиц.

В тканях печени экспрессия исследуемого антионкогена на 7-е сутки после заражения была 0,190 (95% ДИ: 0,139-0,240) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,271 (95% ДИ: 0,192-0,349) относительных единиц, на 21-е – 0,295 (95% ДИ: 0,210-0,380), на 28-е сутки – 0,226 (95% ДИ: 0,172-0,280), на 35-е сутки – 0,224 (95% ДИ: 0,137-0,312), на 42-е сутки – 0,260 (95% ДИ: 0,182-0,338) относительных единиц.

В селезенке уровень экспрессии *TP53* на 7-е сутки достиг 0,399 (95% ДИ: 0,327-0,470) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,399 (95% ДИ: 0,327-0,470), на 21-е сутки – 0,389 (95% ДИ: 0,327-0,470), на 28-е – 0,386 (95% ДИ: 0,291-0,481), на 35-е – 0,408 (95% ДИ: 0,325-0,490), на 42-е сутки – 0,327 (95% ДИ: 0,225-0,429) относительных единиц.

Экспрессия антионкогена *TP53* в головном мозге крыс к 7-м суткам отмечена на уровне 0,149 (95% ДИ: 0,100-0,197) относительных единиц, к 14-м – 0,219 (95% ДИ: 0,181-0,256), к 21-м – 0,259 (95% ДИ: 0,177-0,340), к 28-м суткам – 0,190 (95% ДИ: 0,139-0,240), к 35-м суткам – 0,190 (95% ДИ: 0,139-0,240), к 42-м суткам – 0,242 (95% ДИ: 0,174-0,311) относительных единиц.

Выявлено достоверное отличие экспрессии антионкогена в сторону увеличения во всех изучаемых органах в сравнении с контрольной группой ($p=0,0051$). Сила экспрессии при внутригрупповом сравнении достоверно не отличалась.

В образцах третьей серии (инвазия в дозе 50 тахизоитов токсоплазм на 1 г массы тела животного, 10000 тахизоитов на самку, легкие, печень, селезенка, головной мозг), забранных на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е, 42-е сутки развития паразита, была зафиксирована экспрессия сурвивина (*BIRC5*) на следующих уровнях: в ткани легких на 7-е сутки – 0,055 относительных единиц

(95% ДИ: 0,034-0,075), на 14-е сутки – 0,041 относительных единиц (95% ДИ: 0,025-0,057), на 21-е сутки – 0,049 (95% ДИ: 0,031-0,067), 28-е сутки – 0,039 (95% ДИ: 0,027-0,052), 35-е сутки – 0,032 (95% ДИ: 0,024-0,040), 42-е сутки – 0,035 (95% ДИ: 0,024-0,046) относительных единиц.

В тканях печени животных анализируемой группы уровень *BIRC5* составил на 7-е сутки 0,032 относительных единиц (95% ДИ: 0,008-0,056), на 14-е сутки – 0,050 (95% ДИ: 0,026-0,075), на 21-е сутки – 0,033 (95% ДИ: 0,026-0,040), на 28-е – 0,076 (95% ДИ: 0,067-0,084), на 35-е сутки – 0,068 (95% ДИ: 0,050-0,085), 42-е сутки – 0,061 (95% ДИ: 0,045-0,076) относительных единиц.

В селезенке экспрессия сурвивина на 7-е сутки эксперимента достигла 0,416 относительных единиц (95% ДИ: 0,292-0,539), на 14-е сутки – 0,601 (95% ДИ: 0,509-0,693), на 21-е сутки – 0,594 (95% ДИ: 0,533-0,654), 28-е сутки – 0,648 (95% ДИ: 0,579-0,717), на 35-е сутки – 0,690 (95% ДИ: 0,629-0,751), на 42-е сутки – 0,577 (95% ДИ: 0,513-0,641) относительных единиц.

Анализ результатов изучаемого показателя выявил экспрессию сурвивина в головном мозге крыс четвертой серии на следующем уровне: 7-е сутки – 0,176 (95% ДИ: 0,081-0,270) относительных единиц, к 14-м суткам – 0,356 (95% ДИ: 0,266-0,447), к 21-м суткам – 0,467 (95% ДИ: 0,424-0,509), к 28-м – 0,472 (95% ДИ: 0,360-0,584), к 35-м суткам – 0,571 (95% ДИ: 0,476-0,667), к 42-м суткам – 0,570 (95% ДИ: 0,438-0,702) относительных единиц.

Сравнение с данными здоровых животных (контроль) показало достоверный рост экспрессии изучаемого гена (*BIRC5*) на всех сроках развития паразитоза в легких, печени, селезенке и головном мозге ($p=0,0051$). Выявлено, что экспрессия *BIRC5* в легких, печени, селезенке и головном мозге превышала данные животных второй серии (зараженные в меньшей дозе) на всех сроках развития токсоплазм ($p=0,0002$). Внутригрупповой анализ достоверных отличий не выявил.

Результат экспрессии *VEGF* в легких самок крыс третьей серии показал, что на 7-е сутки после заражения активность исследуемого гена в тканях легких составила 0,266 (95% ДИ: 0,175-0,357) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,287 (95% ДИ: 0,081-0,493), на 21-е сутки – 0,230 (95% ДИ: 0,140-0,321), на 28-е сутки – 0,184 (95% ДИ: 0,143-0,226), на 35-е сутки – 0,129 (95% ДИ: 0,110-0,148), на 42-е сутки – 0,092 (95% ДИ: 0,070-0,114) относительных единиц.

В печени уровень *VEGF* составил на 7-е сутки 0,431 (95% ДИ: 0,258-0,605) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,407 (95% ДИ: 0,309-0,504), на 21-е сутки – 0,316 (95% ДИ: 0,260-0,373), на 28-е сутки – 0,242 (95% ДИ: 0,163-0,322), на 35-е сутки – 0,159 (95% ДИ: 0,106-0,212), на 42-е сутки – 0,091 (95% ДИ: 0,055-0,126) относительных единиц.

В биоптатах селезенки экспрессия исследуемого гена была на 7-е сутки 0,515 (95% ДИ: 0,406-0,623) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,606 (95% ДИ: 0,424-0,788), на 21-е сутки – 0,371 (95% ДИ: 0,301-0,440), на 28-е сутки – 0,262 (95% ДИ: 0,199-0,325), на 35-е сутки – 0,139 (95% ДИ: 0,111-0,167), на 42-е сутки – 0,131 (95% ДИ: 0,100-0,162) относительных единиц.

Уровень экспрессии *VEGF* в тканях головного мозга к 7-м суткам эксперимента составил 0,338 (95% ДИ: 0,169-0,508) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,553 (95% ДИ: 0,410-0,696), на 21-е сутки – 0,376 (95% ДИ: 0,321-0,432), на 28-е сутки – 0,292 (95% ДИ: 0,206-0,377), на 35-е сутки – 0,233 (95% ДИ: 0,165-0,301), на 42-е сутки – 0,165 (95% ДИ: 0,044-0,286) относительных единиц.

При анализе данных показано, что экспрессия *VEGF* достоверно превышает результаты здоровых животных на всех сроках развития паразита как в легких, печени, селезенке, так и в головном мозге ($p=0,0051$). В свою очередь, выявлено, что экспрессия гена достоверно возросла во всех изучаемых органах на всех изучаемых сроках развития паразита по сравнению с серией №2 ($p=0,000157$). Внутригрупповой анализ достоверных отличий не показал.

Экспрессия в ткани легких *ErbB-2/HER2-Neu* на 7-е сутки развития паразита составила 0,235 относительных единиц (95% ДИ: 0,180-0,290), на 14-е сутки – 0,315 относительных единиц (95% ДИ: 0,262-0,367), на 21-е сутки – 0,376 (95% ДИ: 0,320-0,433), 28-е сутки – 0,377 (95% ДИ: 0,326-0,428), 35-е сутки – 0,468 (95% ДИ: 0,433-0,504), 42-е сутки – 0,546 (95% ДИ: 0,503-0,589) относительных единиц.

В печени экспериментальных животных уровень *ErbB-2/HER2-Neu* на 7-е сутки был 0,308 относительных единиц (95% ДИ: 0,266-0,350), на 14-е сутки – 0,396 (95% ДИ: 0,360-0,432), на 21-е – 0,536 (95% ДИ: 0,466-0,606), 28-е сутки – 0,398 (95% ДИ: 0,326-0,471), на 35-е сутки – 0,318 (95% ДИ: 0,196-0,440), на 42-е сутки – 0,357 (95% ДИ: 0,280-0,434) относительных единиц.

Уровень экспрессии исследуемого гена в селезенке крыс к 7-м суткам после инвазии соста-

вил 0,272 (95% ДИ: 0,232-0,312) относительных единиц, к 14-м – 0,327 (95% ДИ: 0,274-0,380), к 21-м – 0,406 (95% ДИ: 0,332-0,479), к 28-м – 0,453 (95% ДИ: 0,393-0,512), к 35-м суткам – 0,422 (95% ДИ: 0,383-0,462), к 42-м – 0,440 (95% ДИ: 0,399-0,480) относительных единиц.

Выявлено, что экспрессия в головном мозге *ErbB-2/HER2-Neu* на 7-е сутки составила 0,233 (95% ДИ: 0,175-0,291) относительных единиц, на 14-е – 0,244 (95% ДИ: 0,157-0,330), на 21-е – 0,184 (95% ДИ: 0,154-0,215), на 28-е – 0,142 (95% ДИ: 0,105-0,180), 35-е – 0,152 (95% ДИ: 0,115-0,189), на 42-е – 0,152 (95% ДИ: 0,113-0,190) относительных единиц.

Выявлено, что экспрессия *ErbB-2/HER2-Neu* достоверно выше результатов экспрессии здоровых животных на всех сроках развития токсоплазм во всех изучаемых органах ($p=0,0051$). Зафиксирован достоверный рост экспрессии гена во всех изучаемых биоптатах (легкие, печень, селезенка, мозг) по сравнению с данными, полученными у крыс, зараженных в меньшей дозе ($p=0,0413$). При проведении внутригруппового анализа достоверных отличий не выявлено.

В тканях легких животных экспрессия *GLI* к 7-м суткам после заражения токсоплазмами составила 0,185 (95% ДИ: 0,149-0,222) относительных единиц, к 14-м – 0,220 (95% ДИ: 0,148-0,293), к 21-м – 0,384 (95% ДИ: 0,310-0,458), к 28-м – 0,378 (95% ДИ: 0,301-0,455) относительных единиц, к 35-м суткам – 0,493 (95% ДИ: 0,420-0,565), к 42-м суткам – 0,632 (95% ДИ: 0,578-0,685) относительных единиц.

Уровень экспрессии изучаемого протоонкогена в печени крыс находился на отметке 0,308 (95% ДИ: 0,243-0,373) относительных единиц на 7-е сутки эксперимента, на 14-е сутки – 0,382 (95% ДИ: 0,302-0,463) относительных единиц, на 21-е сутки – 0,560 (95% ДИ: 0,473-0,647), на 28-е сутки – 0,602 (95% ДИ: 0,497-0,707), на 35-е сутки – 0,518 (95% ДИ: 0,447-0,590), на 42-е сутки – 0,665 (95% ДИ: 0,548-0,781) относительных единиц.

Сравнительный анализ показал, что в селезенке показатель выраженности гена на 7-е сутки исследования был равен 0,478 (95% ДИ: 0,401-0,555) относительных единиц, на 14-е – 0,518 (95% ДИ: 0,453-0,583), на 21-е сутки – 0,460 (95% ДИ: 0,348-0,572) относительных единиц, на 28-е сутки – 0,498 (95% ДИ: 0,412-0,585), на 35-е сутки – 0,520 (95% ДИ: 0,433-0,608), на 42-е сутки – 0,432 (95% ДИ: 0,334-0,529) относительных единиц.

В тканях головного мозга экспрессия *GLI* к

7-м суткам после заражения составила 0,518 (95% ДИ: 0,446-0,590) относительных единиц, к 14-м суткам – 0,434 (95% ДИ: 0,246-0,442), к 21-м – 0,453 (95% ДИ: 0,218-0,547) относительных единиц, к 28-м суткам – 0,559 (95% ДИ: 0,232-0,694) относительных единиц, к 35-м суткам – 0,439 (95% ДИ: 0,126-0,514), к 42-м суткам – 0,399 (95% ДИ: 0,247-0,451) относительных единиц.

Выявлено достоверное отличие от интактных животных на всех сроках развития паразита ($p=0,0051$). Отмечался достоверный рост экспрессии *GLI* во всех изучаемых органах при сравнении с данными группы крыс (вторая серия), зараженных в меньшей дозе. В свою очередь, отличий внутри экспериментальной группы в зависимости от стадии развития токсоплазм не выявлено.

Экспрессия антионкогена *TP53* в тканях легких к 7-м суткам после инвазии экспериментальных самок в дозе 50 тахизоитов на 1 г массы тела составила 0,214 (95% ДИ: 0,172-0,256) относительных единиц, к 14-м суткам – 0,241 (95% ДИ: 0,187-0,294), к 21-м суткам – 0,115 (95% ДИ: 0,097-0,133), к 28-м суткам – 0,094 (95% ДИ: 0,062-0,126), к 35-м суткам – 0,082 (95% ДИ: 0,044-0,119), к 42-м суткам – 0,039 (95% ДИ: 0,011-0,066) относительных единиц.

В тканях печени экспрессия исследуемого антионкогена на 7-е сутки после заражения была 0,126 (95% ДИ: 0,092-0,160) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,164 (95% ДИ: 0,123-0,205) относительных единиц, на 21-е – 0,137 (95% ДИ: 0,123-0,151), на 28-е сутки – 0,123 (95% ДИ: 0,110-0,136), на 35-е сутки – 0,115 (95% ДИ: 0,088-0,142), на 42-е сутки – 0,131 (95% ДИ: 0,111-0,151) относительных единиц.

В селезенке уровень экспрессии *TP53* на 7-е сутки достиг 0,512 (95% ДИ: 0,435-0,590) относительных единиц, на 14-е сутки – 0,636 (95% ДИ: 0,573-0,698), на 21-е сутки – 0,673 (95% ДИ: 0,601-0,745), на 28-е – 0,416 (95% ДИ: 0,365-0,467), на 35-е – 0,346 (95% ДИ: 0,301-0,391), на 42-е сутки – 0,236 (95% ДИ: 0,187-0,284) относительных единиц.

Экспрессия антионкогена *TP53* в головном мозге крыс к 7-м суткам отмечена на уровне 0,218 (95% ДИ: 0,173-0,262) относительных единиц, к 14-м – 0,292 (95% ДИ: 0,254-0,330), к 21-м – 0,364 (95% ДИ: 0,296-0,431), к 28-м суткам – 0,118 (95% ДИ: 0,118-0,137), к 35-м суткам – 0,107 (95% ДИ: 0,089-0,126), к 42-м суткам – 0,073 (95% ДИ: 0,038-0,107) относительных единиц.

Выявлено достоверное отличие экспрессии

антионкогена в сторону увеличения в сравнении с контрольной группой в тканях легких на 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки после инвазии. В свою очередь, к 35-м и 42-м суткам отмечалось снижение уровня экспрессии до уровня интактных животных ($p\leq 0,05$).

Сила экспрессии при внутригрупповом сравнении достоверно снижалась начиная с 21-х суток (28-е, 35-е и 42-е сутки включительно) и была меньше, чем у животных, зараженных в дозе 25 тахизоитов на 1 г массы тела животного ($p\leq 0,05$).

В печени экспрессия *TP53* достоверно превышала контрольные показатели на всех этапах развития паразита ($p\leq 0,05$). Сравнение с данными, полученными при проведении второй серии, выявило достоверное снижение силы экспрессии, начиная с 14-х суток, включая оставшиеся сроки наблюдения ($p\leq 0,05$).

Внутригрупповое сравнение отличий не выявило.

В селезенке уровень *TP53* показал достоверный рост по сравнению с контролем и данными второй серии на всех этапах развития токсоплазм ($p\leq 0,05$). С 35-х суток отмечалось постепенное снижение экспрессии по сравнению с результатами, полученными у животных, зараженных в меньшей дозе и внутри изучаемой группы ($p\leq 0,05$).

Сила экспрессии изучаемого гена в мозге экспериментальных животных третьей серии была выше контрольных показателей на всех этапах наблюдения, а по сравнению с результатами второй серии отмечался достоверный рост с 7-х по 21-е сутки после инвазии ($p\leq 0,05$). В свою очередь, снижение силы экспрессии внутри группы происходило с 28-х суток (включая 35-е и 42-е сутки). Она была ниже по сравнению с данными животных, инвазированных в более низкой дозе ($p\leq 0,05$).

Обсуждение

В ходе эксперимента выявлено, что у инвазированных крыс наблюдался рост экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) в печени, селезенке, легких, головном мозге с четко выраженным дозозависимым эффектом. Это можно объяснить тем, что паразитарные метаболиты являются аддуктами биологического характера,

способными связываться с молекулой ДНК и тем или иным образом влиять на процессы синтеза различных белков. В эксперименте доказано, что токсоплазма может влиять на процесс активации экспрессии протоонкогенов на всех этапах своего паразитирования, а это, в свою очередь, может стать толчком к нарушению митотического цикла и запуску бластомагенеза.

Параллельное изменение экспрессии антионкогена *TP53* со снижением его уровня может дать возможность клеткам с поврежденным наследственным аппаратом не уничтожаться апоптотически, а развиваться, что приведет к развитию или усугублению негативного паразитарного эффекта.

Заключение

Токсоплазма вызывает зависимое от дозы заражения увеличение экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и изменение силы экспрессии антионкогена *TP53* на всех сроках развития паразита.

Литература

1. Presentation of childhood CNS tumours: a systematic review and meta-analysis / S. Wilne [et al.] // *Lancet Oncol.* – 2007 Aug. – Vol. 8, N 8. – P. 685–695.
2. Rutkowski, S. Timely identification of suspected paediatric CNS tumours / S. Rutkowski // *Lancet Oncol.* – 2007 Aug. – Vol. 8, N 8. – P. 664.
3. Goldman, R. D. Improving diagnosis of pediatric central nervous system tumours: aiming for early detection / R. D. Goldman, S. Cheng, D. D. Cochrane // *CMAJ.* – 2017 Mar. – Vol. 189, N 12. – P. E459–E463.
4. Cancer and central nervous system tumor surveillance in

- pediatric neurofibromatosis 1 / D. G. R. Evans [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2017 Jun. – Vol. 23, N 12. – P. e46–e53.
5. Trichomonas vaginalis infection and prostate-specific antigen concentration: Insights into prostate involvement and prostate disease risk / M. E. Langston [et al.] // *Prostate.* – 2019 Oct. – Vol. 79, N 14. – P. 1622–1628.
6. Inflammatory mediators of prostate epithelial cells stimulated with Trichomonas vaginalis promote proliferative and invasive properties of prostate cancer / I.-H. Han [et al.] // *Prostate.* – 2019 Jul. – Vol. 79, N 10. – P. 1133–1146. *Prostate.* 2019 Jul;79(10):1133-1146. doi: 10.1002/pros.23826. Epub 2019 May 2.
7. Trichomonas vaginalis infection-associated risk of cervical cancer: A meta-analysis / S. Yang [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2018 Sep. – Vol. 228. – P. 166–173.
8. Cryptosporidium infection in children with cancer undergoing chemotherapy: how important is the prevention of opportunistic parasitic infections in patients with malignancies? / R. Berahmat [et al.] // *Parasitol. Res.* – 2017 Sep. – Vol. 116, N 9. – P. 2507–2515.
9. Avian haemosporidian parasites (Haemosporida): a comparative analysis of different polymerase chain reaction assays in detection of mixed infections / R. Bernotiene [et al.] // *Exp. Parasitol.* – 2016 Apr. – Vol. 163. – P. 31–37.
10. Chun-Yun, L. Investigation on Toxoplasma gondii infections among patients with malignant tumors of the digestive tract in Hainan Province / L. Chun-Yun // *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi.* – 2019 Sep. – Vol. 31, N 4. – P. 427–430.
11. Toxoplasma gondii in cancer patients receiving chemotherapy: seroprevalence and interferon gamma level / I. A. Mona [et al.] // *J. Parasit Dis.* – 2019 Sep. – Vol. 43, N 3. – P. 464–471.
12. Xi-Ming, Q. Seroepidemiological survey of Toxoplasma gondii infection in patients with gynecological malignant tumors / Q. Xi-Ming, S. Guo-Qiang, W. Xiao-Ming // *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi.* – 2019 Feb. – Vol. 19. – Vol. 30, N 6. – P. 682–684.
13. Toxoplasma modulates signature pathways of human epilepsy / H. M. Ngô [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, N 1. – P. 11496.
14. High Toxoplasma gondii Seropositivity among Brain Tumor Patients in Korea / B.-K. Jung [et al.] // *Korean J. Parasitol.* – 2016 Apr. – Vol. 54, N 2. – P. 201–204.

Поступила 01.03.2021 г.

Принята в печать 15.06.2021 г.

References

1. Wilne S, Collier J, Kennedy C, Koller K, Grundy R, Walker D. Presentation of childhood CNS tumours: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2007 Aug;8(8):685-95. doi: 10.1016/S1470-2045(07)70207-3
2. Rutkowski S. Timely identification of suspected paediatric CNS tumours. *Lancet Oncol.* 2007 Aug;8(8):664. doi: 10.1016/S1470-2045(07)70212-7
3. Goldman RD, Cheng S, Cochrane DD. Improving diagnosis of pediatric central nervous system tumours: aiming for early detection. *CMAJ.* 2017 Mar;189(12):E459-E463. doi: 10.1503/cmaj.160074
4. Evans DGR, Salvador H, Chang VY, Erez A, Voss SD,

- Schneider KW, et al. Cancer and central nervous system tumor surveillance in pediatric neurofibromatosis 1. *Clin Cancer Res.* 2017 Jun;23(12):e46-e53. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0589
5. Langston ME, Bhalla A, Alderete JF, Nevin RL, Pakpahan R, Hansen J, et al. Trichomonas vaginalis infection and prostate-specific antigen concentration: Insights into prostate involvement and prostate disease risk. *Prostate.* 2019 Oct;79(14):1622-1628. doi: 10.1002/pros.23886
6. Han I-H, Kim J-H, Jang K-S, Ryu J-S. Inflammatory mediators of prostate epithelial cells stimulated with Trichomonas vaginalis promote proliferative and invasive properties of prostate cancer. *Prostate.* 2019 Jul;79(10):1133-1146. doi: 10.1002/pros.23826

7. Yang S, Zhao W, Wang H, Wang Y, Li J, Wu X. Trichomonas vaginalis infection-associated risk of cervical cancer: A meta-analysis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2018 Sep;228:166-173. doi: 10.1016/j.ejogrb.2018.06.031
8. Berahmat R, Mahami-Oskouei M, Rezamand A, Spotin A, Aminisani N, Ghoyounchi R, et al. Cryptosporidium infection in children with cancer undergoing chemotherapy: how important is the prevention of opportunistic parasitic infections in patients with malignancies? Parasitol Res. 2017 Sep;116(9):2507-2515. doi: 10.1007/s00436-017-5560-5
9. Bernotienė R, Palinauskas V, Iezhova T, Murauskaitė D, Valkiūnas G. Avian haemosporidian parasites (Haemosporida): a comparative analysis of different polymerase chain reaction assays in detection of mixed infections. Exp Parasitol. 2016 Apr;163:31-7. doi: 10.1016/j.exppara.2016.01.009
10. Chun-Yun L. Investigation on Toxoplasma gondii infections among patients with malignant tumors of the digestive tract in Hainan Province. Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi. 2019 Sep;31(4):427-430. doi: 10.16250/j.32.1374.2019231
11. Mona IA, Wegdan MAEW, Doaa AH, Hassan A. Toxoplasma gondii in cancer patients receiving chemotherapy: seroprevalence and interferon gamma level. J Parasit Dis. 2019 Sep;43(3):464-471. doi: 10.1007/s12639-019-01111-9
12. Xi-Ming Q, Guo-Qiang S, Xiao-Ming W. Seroepidemiological survey of Toxoplasma gondii infection in patients with gynecological malignant tumors. Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi. 2019 Feb;30(6):682-684. doi: 10.16250/j.32.1374.2019036
13. Ngô HM, Zhou Y, Lorenzi H, Wang K, Kim T-K, Zhou Y, et al. Toxoplasma modulates signature pathways of human epilepsy. Sci Rep. 2017;7(1):11496. doi: 10.1038/s41598-017-10675-6
14. Jung B-K, Song H, Kim M-J, Cho J, Shin E-H, Chai J-Y. High Toxoplasma gondii Seropositivity among Brain Tumor Patients in Korea. Korean J Parasitol. 2016 Apr;54(2):201-4. doi: 10.3347/kjp.2016.54.2.201

Submitted 01.03.2021

Accepted 15.06.2021

Сведения об авторах:

Пашинская Е.С. – к.б.н., доцент кафедры биологии и фармацевтической ботаники, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Pashinskaya E.S. – Candidate of Biological Sciences, associate professor of the Chair of Biology & Pharmaceutical Botany, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет, кафедра биологии и фармацевтической ботаники. E-mail: paschinskaya.cat@yandex.ru – Пашинская Екатерина Сергеевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Biology & Pharmaceutical Botany. E-mail: paschinskaya.cat@yandex.ru – Ekaterina S. Pashinskaya.