

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ ТОКСОПЛАЗМОЗЕ

Учреждение образования
«Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,
Витебск, Республика Беларусь

paschinskaya.cat@yandex.ru

Цель исследования – изучить изменение экспрессии генов в тканях крыс при токсоплазмозе.

Материалы и методы. Эксперимент был проведен на 70 самках крыс линии Wistar массой 170-220 грамм. Для достижения поставленной цели проводили определение 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* путем ПЦР-анализа в тканях 10 здоровых самок крыс и 60 зараженных токсоплазмой.

Результаты. Токсоплазма повышает экспрессию сурвивина (*BIRC5*) в ткани легких до 0,013 относительных единиц, печени – до 0,038 относительных единиц, селезенки – до 0,061 относительных единиц, головного мозга – до 0,050 относительных единиц.

Экспрессия *VEGF* в легких возрастает до 0,034 относительных единиц, в печени – до 0,041 относительных единиц, в селезенке – до 0,063 относительных единиц, в тканях головного мозга – до 0,080 относительных единиц.

Отмечен рост экспрессии в ткани легких *ErbB-2/HER2-Neu* до 0,436 относительных единиц, печени – до 0,259 относительных единиц, в селезенке – до 0,271 относительных единиц, в головном мозге – до 0,131 относительных единиц.

Экспрессия *GLI* в тканях легких после заражения токсоплазмами возрастает до 0,113 относительных единиц, в печени – до 0,188, в селезенке – до 0,388 относительных единиц, в тканях головного мозга – до 0,459 относительных единиц.

Выявлен рост экспрессии антионкогена *TP53* в тканях легких до 0,171 относительных единиц, печени – до 0,295, селезенки – до 0,408, головного мозга – до 0,259 относительных единиц.

Заключение. Показано, что токсоплазма может вызывать увеличение экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) с одновременным усилением работы антионкогена *TP53*.

Ключевые слова: токсоплазма, экспрессия, протоонкогены, крысы.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Работа выполнена в рамках НИР «Разработка и совершенствование методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней человека» (2019-2023 гг.).

Введение. Токсоплазмоз – оппортунистическое заболевание, причиной которого является паразитирование токсоплазм, распространено повсеместно. Оно характеризуется широкой вариабельностью клинической картины и полиморфностью проявлений.

В зависимости от механизма инвазирования, различают приобретенный и врожденный токсоплазмоз. Приобретенный токсоплазмоз в большинстве случаев приходится на детский и юношеский возраст человека, однако у взрослых также регистрируется. Многие авторы подчеркивают, что за счет недостаточной иммунологической зрелости организма у детей регистрируются более часто острые формы токсоплазмоза, чем у взрослых. Однако это не значит, что на латентное или хроническое течение токсоплазмоза не стоит обращать внимания. Оно опасно своим мутагенным действием на инвазированный организм и формированием аутоиммунного процесса с проявлением в легкой, среднетяжелой и тяжелой форме, с острым или хроническим течением [1, 2].

Анализ проведенных исследований, посвященных оценке влияния одноклеточных на организм хозяина, показывает, что важную роль в паразитохозяинных взаимоотношениях играет способность токсоплазм подавлять иммунный ответ на всех этапах паразитирования (развитие острой и хронической форм токсоплазмоза), что может негативно влиять на различные процессы на молекулярно-генетическом, клеточном уровнях. Показано, что некоторые простейшие могут способствовать развитию процессов бластомогенеза [3, 4].

Что касается токсоплазм, в зарубежной научной литературе встречаются сообщения о том, что этот паразит довольно часто выявляется при онкологических заболеваниях. Однако механизмы канцерогенного воздействия паразита изучены не достаточно.

Цель исследования – изучить изменение экспрессии генов в тканях крыс при токсоплазмозе.

Материал и методы исследования. Эксперимент был проведен на 70 самках линии Wistar массой 170-220 грамм. Крысы содержались в стандартных условиях вивария. Манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с рекомендациями Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, нормативной документацией «ВГМУ», требованиями биомедицинской этики.

Для достижения поставленной цели проводили определение 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* путем ПЦР-анализа в тканях 10 здоровых самок крыс (интактный контроль, первая серия). Забор материала у этих животных (печень, селезенка, легкие, головной мозг) проводили однократно после умерщвления 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 самок крыс в зависимости от срока развития паразитоза. 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 («чистая инвазия») и проводили забор биоптатов печени, селезенки, легких, головного мозга.

Выделение РНК осуществляли колоночным методом с применением комплекта ReliaPrep RNA Cell Miniprep System (Promega Corporation, USA). Качество выделенной РНК оценивали спектрофотометрически. Обратная транскрипция выполнялась с использованием M-MuLV RT (New England BioLabs Inc, USA). Праймеры, специфичные генам, были подготовлены с помощью Primer3 и базы NCBI Nucleotide. Амплификация проводилась на термоциклере Real-Time PCR Detection System CFX96 (Bio-Rad, США), с использованием ПЦР-смеси qPCRMix-HS SYBR (Евроген, РФ). Сравнительная экспрессия изучаемых генов была проведена после нормализации каждого из образцов к уровню контрольных генов *GAPDH* и

ACTIN- β . Анализ экспрессии проводился программой qbase+ и CFX Maestro.

Статистическое сравнение проводили с данными, полученными в первой серии – «контроль» (здоровые животные, биоптаты легких, печени, селезенки, головного мозга).

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью программы Statistica 10.0. Проводился расчет средней (*M*), медиана (*Me*), мах (*Min-Max*), межквартильного интервала (15-й и 85-й процентиля), а также 95% доверительного интервала (*ДИ*, *CI*) для медианы и средней. Полученный результат фиксировали в виде средней и *ДИ* (*M* (95% *CI*)).

Для получения достоверного результата использовали U-тест Манна-Уитни (Mann-Whitney) или дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis ANOVA). Различия считали достоверными при уровне значимости менее 0,05 ($p < 0,05$).

Результаты исследования. У контрольных животных (здоровые) 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 (*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 (*BIRC*) 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 четвертой серии показал, что на 7-е сутки после заражения активность исследуемого гена 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 «чистой инвазии» 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 (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.

Обсуждение полученных результатов. Результаты проведенного исследования показывают, что токсоплазма может вызывать увеличение экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) с одновременным усилением работы антионкогена *TP53*.

Известно, что экспрессия *VEGF* может привести к инициации генетической программы ангиогенеза, включающей синтез и секрецию дополнительных ангиогенных факторов по принципу положительной обратной связи [5].

В свою очередь, белок сурвивин (кодируется геном *BIRC5*) – член семейства IAP белков, участвует в контроле клеточного деления, регуляции апоптоза, ангиогенезе [6]. Сурвивин селективно образовывается в наиболее распространенных опухолях человека и вызывает резистентность опухолевых клеток к противоопухолевым агентам и ионизирующим излучениям.

GLI не экспрессируется в большинстве тканей в постнатальном периоде развития, но его мРНК присутствует в эмбриональных клетках. Важную роль экспрессия *GLI* играет в туморогенезе. Гиперэкспрессия этого гена отмечена при базальноклеточном раке и медуллобластоме, глиобластоме и рабдомиосаркоме, меланоме, раке желудочно-кишечного тракта, толстой кишки, молочной железы, легких, печени, простаты и поджелудочной железы [7].

Ген *HER2*, известный также как *c-erbB-2* или *HER2/neu*, является представителем семейства рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR). Группа ученых показала, что гиперэкспрессия *HER 2/neu* характерна для рака предстательной железы, желудка, поджелудочной железы [8].

Среди генов-супрессоров самым известным является антионкоген *TP53*. В нормальной клетке p53 пассивен, но при чрезвычайных событиях активируется и играет роль «стража генома» – активирует систему репарации ДНК. Если ДНК повреждена, p53 задерживает митоз делящихся клеток, блокируя переход из G1-фазы в S-фазу и предоставляя системе репарации время устранить

повреждения. Однако если же устранить повреждение ДНК не удастся, p53 включает программу гибели клеток – апоптоз [9].

Вывод. Инвазия токсоплазмами самок крыс в дозе 25 тахизоитов токсоплазм на 1 г массы тела животного (5000 тахизоитов на самку) приводит к росту экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*), эпидермального фактора роста (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, фактора роста эндотелия сосудов (*VEGF*) и активации антионкогена *TP53* в тканях легких, печени, селезенки, головного мозга на всех сроках наблюдения.

Перспективы дальнейших исследований. В дальнейшем планируется исследовать дозоза-

висимый эффект токсоплазм, а также выяснить роль паразита в прогрессии канцерогенных процессов у млекопитающих с применением разработанной авторской экспериментальной опухолевой модели.

Благодарности: Автор выражает благодарность научному консультанту доктору медицинских наук, профессору, заслуженному деятелю науки Республики Беларусь Семенову Валерию Михайловичу

Acknowledgements: The author expresses gratitude to the scientific consultant, Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Scientist of the Republic of Belarus Valery Mikhailovich Semyonov

References

1. Goncharov DB. The significance of *Toxoplasma gondii* persistence in human clinical pathology. *Microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2006; 4: 92-97.
2. Vasiliev VV. Toxoplasmosis: modern scientific and practical approaches. *Vestn. infectology and parasitology*. ISSN 1609-9877. Available from: <http://www.infectology.ru/mnenie/toxoplasmos2.aspx>. Date of access: 19.01.2021
3. Jeske S, Bianchi TF, Moura MQ, Baccega B, Pinto NB, Berne MEA, et al. Intestinal parasites in cancer patients in the South of Brazil. *Braz J Biol*. 2018; 78(3): 574-578.
4. Toychiev A, Abdujapparov S, Imamov A, Navruzov B, Davis N, Badalova N, et al. Intestinal helminths and protozoan infections in patients with colorectal cancer: prevalence and possible association with cancer pathogenesis. *Parasitol Res*. 2018; 117(12): 3715-3723. doi: 10.1007/s00436-018-6070-9
5. Rosen LS. Clinical experience with angiogenesis signaling inhibitors: focus on vascular endothelial growth factor (*VEGF*) blockers. *Cancer Control*. 2002; 9: 36-44. doi: 10.1177/107327480200902S05
6. Khan Z, Khan AA, Yadav H, Prasad GBKS, Bisen PS. Survivin, a molecular target for therapeutic interventions in squamous cell carcinoma. *Cell Mol Biol Lett*. 2017; 22: 8. doi: 10.1186/s11658-017-0038-0
7. Santarelli A, Mascitti M, Lo Russo L, Sartini D, Troiano G, Emanuelli M, et al. Survivin-Based treatment strategies for squamous cell carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(4): 971. doi: 10.3390/ijms19040971
8. Fauquette V, Perrais M, Cerulis S, Jonckheere N, Ducourouble M-P, Aubert J-P, et al. The antagonistic regulation of human *MUC4* and *ErbB-2* genes by the Ets protein *PEA3* in pancreatic cancer cells: implications for the proliferation/differentiation balance in the cells. *Biochem J*. 2005; 386(Pt 1): 35-45. doi: 10.1042/BJ20040706
9. Soussi T, Wiman KG. *TP53*: an oncogene in disguise. *Cell Death Differ*. 2015; 22(8): 1239-49. doi: 10.1038/cdd.2015.53

УДК 616.993.192.1:577.218

ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ В ТКАНИНАХ ЩУРІВ ПРИ ТОКСОПЛАЗМОЗІ

Пашинська О. С.

Резюме. Мета – вивчити зміни експресії генів в тканинах щурів при токсоплазмозі.

Матеріали та методи. Експеримент був проведений на 70 самках щурів лінії Wistar масою 170-220 грам. Для досягнення поставленої мети проводили визначення експресії протоонкогенів сурвівіна (*BIRC5*), епідермального фактора росту (*ErbB-2 / HER2-Neu*), *GLI*, фактора росту ендотелію судин (*VEGF*) та антионкогена *TP53* в порівнянні з генами референс β-актином (*ACTB*) та *GAPDH* шляхом ПЛР-аналізу в тканинах 10 здорових самок щурів і 60 заражених токсоплазмою.

Результати. Токсоплазма підвищує експресію сурвівіна (*BIRC5*) в тканині легенів до 0,013 відносних одиниць, печінки – до 0,038 відносних одиниць, селезінки – до 0,061 відносних одиниць, головного мозку – до 0,050 відносних одиниць.

Експресія *VEGF* в легенях зростає до 0,034 відносних одиниць, в печінці – до 0,041 відносних одиниць, в селезінці – до 0,063 відносних одиниць, в тканинах головного мозку – до 0,080 відносних одиниць.

Відмічено зростання експресії в тканині легенів *ErbB-2 / HER2-Neu* до 0,436 відносних одиниць, печінки – до 0,259 відносних одиниць, в селезінці – до 0,271 відносних одиниць, в головному мозку – до 0,131 відносних одиниць.

Експресія *GLI* в тканинах легенів після зараження токсоплазмами зросла до 0,113 відносних одиниць, в печінці – до 0,188, в селезінці – до 0,388 відносних одиниць, в тканинах головного мозку – до 0,459 відносних одиниць.

Виявлено зростання експресії антионкогена *TP53* в тканинах легенів до 0,171 відносних одиниць, печінки – до 0,295, селезінки – до 0,408, головного мозку – до 0,259 відносних одиниць.

Висновок. Показано, що токсоплазма може викликати збільшення експресії протоонкогенів сурвівіна (*BIRC5*), епідермального фактора росту (*ErbB-2 / HER2-Neu*), *GLI*, фактора росту ендотелія судин (*VEGF*) з одночасним посиленням роботи антионкогена *TP53*.

Ключові слова: токсоплазма, експресія, протоонкогени, щури.

UDC 616.993.192.1:577.218

Changes in Gene Expression in Rat Tissues during Toxoplasmosis

Pashinskaya E. S.

Abstract. *The purpose of the study is to study changes in gene expression in rat tissues during toxoplasmosis.*

Materials and methods. The experiment was conducted on 70 Wistar females weighing 170-220 grams. To achieve this goal, the expression of the proto-oncogenes survivin (*BIRC5*), epidermal growth factor (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI*, vascular endothelial growth factor (*VEGF*) and anti-oncogene *TP53* was determined in comparison with the reference genes β -actin (*ACTB*) and *GAPDH* by PCR analysis in the tissues of 10 healthy female rats and 60 infected with toxoplasma.

RNA isolation was performed by the column method using the ReliaPrep RNA Cell Miniprep System (Promega Corporation, USA). The quality of the isolated RNA was evaluated spectrophotometrically. Reverse transcription was performed using M-MuLV RT (New England BioLabs Inc, USA). Primers specific to the genes were prepared using Primer3 and the NCBI Nucleotide database. Amplification was performed on a Real-Time PCR Detection System CFX96 thermal cycler (Bio-Rad, USA), using a qPCRMix-HS SYBR PCR mixture (Eurogen, Russia). Comparative expression of the studied genes was carried out after normalization of each of the samples to the level of the control genes *GAPDH* and *ACTIN- β* . Expression analysis was performed by qbase+ and CFX Maestro. Statistical processing of the obtained data was carried out using the program Statistica 10.0.

Results and discussion. Toxoplasma increases the expression of survivin (*BIRC5*) in lung tissue to 0.013 relative units, in liver – to 0.038 relative units, in spleen – to 0.061 relative units, and in brain – to 0.050 relative units.

VEGF expression in lungs increased to 0.034 relative units, in liver – to 0.041 relative units, in spleen – to 0.063 relative units, in brain tissues – to 0.080 relative units.

There was an increase in the expression of *ErbB-2/HER2-Neu* in lung tissue to 0.436 relative units, in liver – to 0.259 relative units, in spleen – to 0.271 relative units, and in brain – to 0.131 relative units.

GLI expression in lung tissues after toxoplasma infection increased to 0.113 relative units, in liver – to 0.188 relative units, in spleen – to 0.388 relative units, and in brain tissues – to 0.459 relative units.

An increase in the expression of the anti-oncogene *TP53* in the tissues of the lungs to 0.171 relative units, liver – to 0.295, spleen – to 0.408, and brain – to 0.259 relative units was revealed.

Conclusion. It has been shown that toxoplasma can cause an increase in the expression of the proto-oncogenes survivin (*BIRC5*), epidermal growth factor (*ErbB-2/HER2-Neu*), *GLI* and vascular endothelial growth factor (*VEGF*) with simultaneous enhancement of the anti-oncogene *TP53*.

Keywords: Toxoplasma gondii, expression of proto-oncogenes, rats.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 19.02.2021 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування