

## ПАЗИТОЛОГИЯ / PARASITOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.122.96>ВОЗДЕЙСТВИЕ ПАЗИТАРНЫХ АГЕНТОВ ТИПА *NEMATHELMINTHES* И *APICOMPLEXA* НА ПРОЦЕСС ЭКСПРЕССИИ ПРОТОНКОГЕНОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Научная статья

Пашинская Е.С.<sup>1,\*</sup>, Поляржин В.В.<sup>2</sup><sup>1</sup>ORCID : 0000-0002-5473-4240;<sup>2</sup>ORCID : 0000-0002-3508-9995;<sup>1,2</sup> Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

\* Корреспондирующий автор (paschinskaya.cat[at]yandex.ru)

**Аннотация**

В статье представлены результаты оригинальных исследований, посвященных изучению влияния паразитарных агентов на примере круглых червей и одноклеточных организмов на процесс экспрессии протоонкогенов в организме хозяина. Проведено изучение изменения силы экспрессии сурвивина (*BIRC5*) в сравнении с генами референсами - *ACTIN-β* (*ACTB*) и *GAPDH* при воспроизведении экспериментальной глиомы *in situ* у экспериментальных животных.

В результате выявлено, что биологические факторы паразитарного характера повышают силу экспрессии сурвивина (*BIRC5*) в тканях глиомы, что может стать причиной агрессивного течения blastomогенных процессов у млекопитающих. Разработка новых подходов к нейтрализации воздействия паразитарных агентов на молекулярно-генетическом уровне может увеличить положительный эффект таргетной терапии онкологических процессов.

**Ключевые слова:** глиома, экспрессия, протоонкогены, крысы, трихинелла, токсоплазма.

## EFFECTS OF NEMATHELMINTHES- AND APICOMPLEXA TYPE PARASITIC AGENTS ON THE EXPRESSION PROCESS OF PROTONCOGENES IN THE EXPERIMENT

Research article

Pashinskaya E.S.<sup>1,\*</sup>, Pobyarzhin V.V.<sup>2</sup><sup>1</sup>ORCID : 0000-0002-5473-4240;<sup>2</sup>ORCID : 0000-0002-3508-9995;<sup>1,2</sup> Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

\* Corresponding author (paschinskaya.cat[at]yandex.ru)

**Abstract**

The article presents the results of original studies dedicated to the influence of parasitic agents on the expression process of protooncogenes in the host organism, using threadworms and unicellular organisms as examples. Changes in the strength of expression of survivin (*BIRC5*) in comparison with the reference genes, *ACTIN-β* (*ACTB*) and *GAPDH*, when reproducing experimental glioma *in situ* in experimental animals were studied.

As a result, it was revealed that biological factors of parasitic nature increase the strength of expression of surfvine (*BIRC5*) in glioma tissues, which can cause aggressive course of blastomogenic processes in mammals. Development of new approaches to neutralize the impact of parasitic agents at the molecular-genetic level can increase the positive effect of target therapy of oncological processes.

**Keywords:** glioma, expression, protooncogenes, rats, trichina, toxoplasma.

**Введение**

Известно, что паразитарные заболевания распространены повсеместно. Причиной таковых являются одноклеточные и многоклеточные паразиты и их воздействие на организм хозяина. Проблема борьбы с паразитами имеет важное биологическое, медицинское и социально-экономическое значение. Влияние гельминтов и протист, как паразитарных агентов биологического характера, характеризуется довольно сложными патологическими проявлениями различной степени тяжести [1], [2]. В проведенных исследованиях, посвященных оценке воздействия паразитов на организм хозяина, отмечается, что они могут синтезировать антигены хозяина для ослабления иммунного ответа, а также изменять процесс синтеза белка в зависимости от особенностей протеиногенеза у промежуточного и окончательного хозяев с образованием общих белковых антигенов [3]. За счет этого возможно угнетение функциональной и пролиферативной активности клеток лимфоидной ткани, что приводит к развитию вторичных иммунных дефицитов и способствует резкому изменению характера взаимоотношений в системе хозяин-паразит. При этом происходит супрессия иммунитета, подавление защитных свойств организма человека.

В настоящее время экспериментально показана способность некоторых паразитов, стимулировать развитие новообразований за счет механического воздействия. Установлено, что при описторхозе и клонорхозе чаще развивается рак печени [4], а у пациентов с мочеполовым шистосомозом в мочевом пузыре нередко образуются папилломы и возникает рак. Вопрос о влиянии паразитов на молекулярно-генетическом уровне до сих пор остается неизученным.

Известно, что абиотические и биотические факторы могут воздействовать на наследственный аппарат клетки [5], в результате чего может повреждаться ДНК или РНК, которые влияют на процесс деления клеток, апоптоз [6]. В

процессе такого влияния за счет нарушения белкового синтеза путем воздействия на онкосупрессоры образуются «некачественные» клетки, которые могут дать начало запуску канцерогенных процессов [7], [8].

В балансе между пролиферацией и программируемой смертью клетки большую роль играют белки семейства IAP [9]. Одним из таких белков является сурвивин (*BIRC5*) [10]. Он участвует в контроле клеточного деления, регуляции апоптоза, ангиогенезе [11]. Избыточная экспрессия сурвивина вызывает резистентность опухолевых клеток к противоопухолевым агентам и ионизирующим излучениям [12]. Высокий уровень синтеза сурвивина в опухолях коррелирует с их прогрессией и считается негативным прогностическим фактором для некоторых опухолей [13]. Снижение или полная блокировка синтеза сурвивина способствует увеличению уровня апоптоза, что, в свою очередь, уменьшает потенциал роста опухоли и восстанавливает чувствительность опухолевых клеток к химиотерапии [14].

Таким образом, изучение эффекта многоклеточных или одноклеточных представителей паразитов во время сформированного онкогенного процесса в эксперименте покажет, является ли значимой и нужной разработка новых направлений и подходов к нейтрализации воздействия паразитарных агентов на молекулярно-генетическом уровне с целью достижения положительного эффекта лечения онкологических процессов.

Целью настоящего исследования служило изучение и анализ воздействия паразитарных агентов на процесс экспрессии протоонкогенов в эксперименте при сформированном онкологическом процессе.

### Методы и принципы исследования

Для достижения поставленной цели было воспроизведено 3 серии эксперимента. В качестве контроля (незараженные животные с глиомой) использовали 40 самок крыс линии Wistar, которых разделяли на 4 группы по 10 особей в каждой. Животным проводили подкожное введение опухолевых клеток крысиной глиомы С6 для воспроизведения опухоли по разработанному нами способу [15]. Самок крыс умерщвляли под воздействием эфирного наркоза на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е сутки развития опухоли и проводили забор материала (опухоль) для определения экспрессии протоонкогена сурвивина (*BIRC5*) в сравнении с генами референсами - *ACTIN-β* (*ACTB*) и *GAPDH*. Результаты использовали как «контроль с опухолью».

Во второй серии изучали воздействие гельминтов на примере трихинелл на процесс экспрессии протоонкогенов во время развития крысиной глиомы С6 in situ [15]. Крыс линии Wistar (40 голов) разделяли на 4 группы по 10 особей в каждой. На 7-е сутки после введения опухолевых клеток, самок четырех групп заражали в дозе 10 личинок на 1 г массы тела. Убой животных осуществляли путем дислокации шейных позвонков под воздействием эфирного наркоза по графику (7-е, 14-е, 21-е, 28-е сутки развития паразита, что соответствовало 14-м, 21-м, 28-м, 35-м суткам развития опухоли).

В третьей серии эксперимента осуществляли изучение роли одноклеточных паразитов с использованием токсоплазм в изменении экспрессии протоонкогенов сурвивина (*BIRC5*) при сформированном экспериментальном канцерогенном процессе, в тканях 40 самок крыс. Животных заражали перорально в дозе 25 тахизоитов токсоплазм на 1 г массы тела животного на 7-е сутки после введения опухолевых клеток глиомы С6 in situ. Забор материала (опухоль) осуществляли по графику: на 14-е сутки развития глиомы (7-е сутки после инвазии), 21-е сутки развития опухоли (14-е сутки после инвазии), 28-е сутки развития опухоли (21-е сутки после инвазии), 35-е сутки развития глиомы (28-е сутки после инвазии).

Анализ экспрессии проводился Real-Time PCR программой qbase+. Результат нормализованной экспрессии рассчитывали с учетом соотношения анализируемого гена (*BIRC5*) к референсным генам *ACTIN-β* (*ACTB*) и *GAPDH*.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0. Результаты в тексте отображали в виде средней и ДИ. Различия считали достоверными при уровне значимости менее 0,05 ( $p < 0,05$ ).

### Основные результаты

В опухолевом материале животных серии «контроль с опухолью», экспрессия сурвивина (*BIRC5*) составила: на 14-е сутки - 0,48 относительных единиц (95% ДИ: 0,35-0,66), на 21-е сутки - 0,45 (95% ДИ: 0,33-0,62), к 28-м суткам - 0,45 (95% ДИ: 0,34-0,60), а 35-м суткам - 0,35 (95% ДИ: 0,23-0,54) относительных единиц.

В опухолевой ткани животных, инвазированных в дозе 10 личинок *T. spiralis* на 1 грамм массы тела животного сила экспрессии сурвивина (*BIRC5*) на 7-е сутки составила 0,72 относительных единиц (95% ДИ: 0,56-0,91), на 14-е сутки - 0,70 (95% ДИ: 0,60-0,81), на 21-е - 0,68 (95% ДИ: 0,58-0,80), на 28-е - 0,66 (95% ДИ: 0,55-0,78) относительных единиц. Полученные результаты достоверно превышали экспрессию в ткани глиомы самок крыс первой серии эксперимента на всех сроках наблюдения ( $p = 0,019-0,049$ ).

В образцах третьей серии инвазия в дозе 25 тахизоитов токсоплазм на 1 г массы тела животного в тканях опухоли на 14-е сутки ее развития (7-е сутки после инвазии) была зафиксирована экспрессия сурвивина (*BIRC5*) на уровне 0,65 относительных единиц (95% ДИ: 0,607-0,698), на 21-е сутки развития опухоли (14-е сутки после инвазии) – 0,66 относительных единиц (95% ДИ: 0,639-0,696), на 28-е сутки развития опухоли (21-е сутки после инвазии) - 0,51 относительных единиц (95% ДИ: 0,438-0,591), на 35-е сутки развития глиомы (28-е сутки после инвазии) - 0,53 относительных единиц (95% ДИ: 0,399-0,675), что превышало результаты первой серии («контроль с опухолью») на всех этапах паразитирования токсоплазм ( $p = 0,0173$ ).

Анализ полученных данных при сравнении изменения силы экспрессии между сериями показал, что при заражении животных трихинеллой и токсоплазмой экспрессия сурвивина (*BIRC5*) показывает рост при сравнении с контрольной группой. Сравнение результатов, полученных в сериях №2 и №3 достоверных отличий не показало.

### Заключение

При анализе литературных источников аналогичных исследований не найдено. Полученный в эксперименте результат говорит о том, что паразитирование гельминтов типа *Nematelminthes* класса *Nematoda* и паразитических представителей типа *Apicomplexa* класса *Sporozoa* может служить биологическим фактором, способным привести к

активации, усилению экспрессии протоонкогенов, что в свою очередь вызовет интенсивный синтез онкобелков, а также прогрессию процесса канцерогенеза.

### Конфликт интересов

Не указан.

### Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

### Conflict of Interest

None declared.

### Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

### Список литературы / References

1. Midha A. Reciprocal interactions between nematodes and their microbial environments // A. Midha, J. Schlosser, S. Hartmann // *Front Cell. Infect. Microbiol.* – 2017. – Vol. 7. – P. 144.
2. Biological agents : IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans / WHO, International Agency for Research on Cancer. – Lion, 2012. – Vol. 100B. – 499 p.
3. Ding J. Trichinella spiralis: inflammation modulator / J. Ding et al. // *J. Helminthol.* – 2020. – Vol. 94. – e193.
4. Choi B.I. Clonorchiasis and cholangiocarcinoma: etiologic relationship and imaging diagnosis / B.I. Choi et al. // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2004. – Vol. 17. – № 3. – P. 540–552.
5. Harari D. Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer / D. Harari, Y. Yarden // *Oncogene.* – 2000. – Vol. 19. – № 53. – P. 6102–6114.
6. Otto G. Oncogenesis by phase separation / G. Otto // *Nat. Rev. Genet.* – 2021. – Vol. 22. – № 9. – P. 551.
7. Trézéguet V. Immuno-Metabolic Modulation of Liver Oncogenesis by the Tryptophan Metabolism / V. Trézéguet, H. Fatrouni, A.J. Merched // *Cells.* – 2021. – Vol. 10. – № 12. – 3469.
8. Lam S.Y. The gastrointestinal microbiota and its role in oncogenesis / S.Y. Lam et al. // *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 31. – № 6. – P. 607–618.
9. Du C. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition / C. Du et al. // *Cell.* – 2000. – Vol. 102. – № 1. – P. 33–42.
10. Khan Z. Survivin, a molecular target for therapeutic interventions in squamous cell carcinoma / Z. Khan et al. // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2017. – Vol. 22. – P. 8.
11. Santarelli A. Survivin-Based treatment strategies for squamous cell carcinoma / A. Santarelli et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018 Mar. – Vol. 19. – № 4. – P. 971.
12. Conde M. Chromosomal instability induced by increased BIRC5/Survivin levels affects tumorigenicity of glioma cells / M. Conde et al. // *BMC Cancer.* – 2017 Dec. – Vol. 17. – № 1. – P. 889.
13. Wang X. Honokiol Radiosensitizes Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck by Downregulation of Survivin / X. Wang et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2018 Feb. – Vol. 24. – № 4. – P. 858–869.
14. Ejarque M. Survivin, a key player in cancer progression, increases in obesity and protects adipose tissue stem cells from apoptosis / M. Ejarque et al. // *Cell. DeathDis.* – 2017 May. – Vol. 8. – № 5. – e2802.
15. Пашинская Е. С. Способ воспроизведения экспериментальной крысиной глиомы C6 insitu / Е. С. Пашинская, В. В. Поляржин // *Мед.-биол. проблемы жизнедеятельности.* 2019. № 2 (22). С. 50–54.

### Список литературы на английском языке / References in English

1. Midha A. Reciprocal interactions between nematodes and their microbial environments // A. Midha, J. Schlosser, S. Hartmann // *Front Cell. Infect. Microbiol.* – 2017. – Vol. 7. – P. 144.
2. Biological agents : IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans / WHO, International Agency for Research on Cancer. – Lion, 2012. – Vol. 100B. – 499 p.
3. Ding J. Trichinella spiralis: inflammation modulator / J. Ding et al. // *J. Helminthol.* – 2020. – Vol. 94. – e193.
4. Choi B.I. Clonorchiasis and cholangiocarcinoma: etiologic relationship and imaging diagnosis / B.I. Choi et al. // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2004. – Vol. 17. – № 3. – P. 540–552.
5. Harari D. Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer / D. Harari, Y. Yarden // *Oncogene.* – 2000. – Vol. 19. – № 53. – P. 6102–6114.
6. Otto G. Oncogenesis by phase separation / G. Otto // *Nat. Rev. Genet.* – 2021. – Vol. 22. – № 9. – P. 551.
7. Trézéguet V. Immuno-Metabolic Modulation of Liver Oncogenesis by the Tryptophan Metabolism / V. Trézéguet, H. Fatrouni, A.J. Merched // *Cells.* – 2021. – Vol. 10. – № 12. – 3469.
8. Lam S.Y. The gastrointestinal microbiota and its role in oncogenesis / S.Y. Lam et al. // *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 31. – № 6. – P. 607–618.
9. Du C. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition / C. Du et al. // *Cell.* – 2000. – Vol. 102. – № 1. – P. 33–42.
10. Khan Z. Survivin, a molecular target for therapeutic interventions in squamous cell carcinoma / Z. Khan et al. // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2017. – Vol. 22. – P. 8.
11. Santarelli A. Survivin-Based treatment strategies for squamous cell carcinoma / A. Santarelli et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018 Mar. – Vol. 19. – № 4. – P. 971.

12. Conde M. Chromosomal instability induced by increased BIRC5/Survivin levels affects tumorigenicity of glioma cells / M. Conde et al. // *BMC Cancer*. – 2017 Dec. – Vol. 17. – № 1. – P. 889.
13. Wang X. Honokiol Radiosensitizes Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck by Downregulation of Survivin / X. Wang et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2018 Feb. – Vol. 24. – № 4. – P. 858–869.
14. Ejarque M. Survivin, a key player in cancer progression, increases in obesity and protects adipose tissue stem cells from apoptosis / M. Ejarque et al. // *Cell. DeathDis.* – 2017 May. – Vol. 8. – № 5. – e2802.
15. Pashinskaya E.S. Sposob vosproizvedeniya eksperimental'noj krysinoj gliomy S6 insitu [Method of reproduction of experimental rat glioma C6 insitu] / E.S. Pashinskaya, V.V. Pobyarzhin // *Mediko-biologicheskie problemy zhiznedeyatel'nosti* [Medical and biological life problems]. 2019. № 2 (22). P. 50–54. [in Russian]