

дее, А. А. Вербицкий; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2010. – 196 с. 4. Зайцев, В. В. Технология производства вакцин против сальмонеллеза телят и поросят : учебно-методическое пособие для студентов, аспирантов, по специальности «Ветеринарная медицина» и работников биопредприятий / В. В. Зайцев, Г. Э. Дремач ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 2004. – 21 с. 5. Медведев, А. П. Совершенствование способа получения сыворотки против сальмонеллеза животных / А. П. Медведев, С. В. Даровских, И. А. Даровских // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практический журнал. – Витебск, 2010. – Т. 46, вып. 2. – С. 156–158. 6. Малашко, В. В. Колибактериоз телят // Ветеринарное дело. – 2013. – № 9. – С. 25–33. 7. Зароза, В. Г. Колибактериоз новорожденных телят / В. Г. Зароза, Г. А. Бурова, В. Г. Буров // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2008. – № 4. – С. 10–17. 8. Шипицын, А. Гипериммунные сыворотки для лечения телят / А. Шипицын // Молочное и мясное скотоводство. – 2004. – № 6. – С. 36–37. 9. Пирожков, М. Эшерихиоз (колибактериоз) поросят / М. Пирожков // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2011. – № 7. – С. 37–39. 10. Колычев, Н. В. Ветеринарная микробиология и иммунология / Н. В. Колычев. – Москва : Колос, 2003. – 432 с. 11. Максимович, В. В. Сальмонеллез свиней : монография / В. В. Максимович. – Минск : Ураджай, 1994. – 160 с. 12. Медведев, А. П. Способ контроля активности сыворотки против сальмонеллеза животных / А. П. Медведев // Совершенствование методов государственного контроля ветпрепаратов. – Москва, 1991. – С. 202–204. 13. Медунцин, Н. В. Вакцинология / Н. В. Медунцин. – Москва : Триада-Х, 1999. – 272 с. 14. Пирожков, М. К. Биологические препараты для специфической профилактики и терапии эшерихиоза животных : автореф. дис. ... докт. вет. наук / М. К. Пирожков. – Москва, 2002. – 48 с.

Статья передана в печать 30.09.2019 г.

УДК 616.995.1:57.081

ИЗМЕНЕНИЕ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ГЛИОМНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ИНДЕКСА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСОПЛАЗМОЗЕ

Пашинская Е.С., Семенов В.М.

УО «Витебский государственный медицинский университет»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Паразитирование простейшего *Toxoplasma gondii* в организме человека, диких и домашних животных вызывает токсоплазмоз. Чаще всего токсоплазма поражает ЦНС, в которой наблюдаются очаговые воспалительные явления, циркуляторные нарушения, связанные с васкулитом сосудов мозга, обструкция ликворных путей, гидро- и микроцефалия. *Toxoplasma gondii* взаимодействует с иммунной системой организма хозяина, вызывая локальный иммунный ответ. Токсоплазма способна влиять на работу более тысячи генов человека, ответственных за нормальные процессы клеточного деления, апоптоз, уничтожение или исправление «некачественных» клеток. В статье описаны результаты исследования, изменения экспрессии GFAP, S-100 и индекса пролиферативной активности Ki-67 в тканях экспериментальной глиомы крыс при токсоплазмозе в зависимости от срока развития инвазии.

Выяснено, что инвазия *T. gondii* в дозе 5000 тахизоитов достоверно повышает индекс пролиферативной активности на 7-е сутки после инвазии в 1,79 раза ($p=0,005$); на 14-е сутки развития токсоплазм - в 2,67 раза ($p=0,005$); на 21-е сутки после заражения - в 1,68 раза ($p=0,005$); на 28-е сутки после инвазии - в 2,97 раза ($p=0,005$); к 35-м суткам после заражения - в 3,01 раза ($p=0,005$); на 42-е сутки развития паразита - в 3,25 раза ($p=0,005$). **Ключевые слова:** *Toxoplasma gondii*, глиома, крыса, GFAP, S-100, Ki-67.

CHANGING OF NEUROSPECIFIC GLIOMA INDICATORS AND INDEX OF PROLIFERATIVE ACTIVITY AT EXPERIMENTAL TOXOPLASMOSIS

Pashinskaya E.S., Semenov V.M.

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Parasitism of the protozoan *Toxoplasma gondii* in humans, wild and domestic animals causes toxoplasmosis. Most often, *Toxoplasma* affects the Central nervous system, in which there are focal inflammatory phenomena, circulatory disorders associated with vasculitis of the brain vessels, obstruction of the liquor pathways, hydro- and microcephaly. *Toxoplasma gondii* interacts with the host's immune system, triggering a local immune response. *Toxoplasma* can affect the work of more than a thousand human genes responsible for normal processes of cell division, apoptosis, destruction or correction of "low-quality" cells. The article describes the results of the study, changes in the expression of GFAP, S-100 and the index of proliferative activity Ki-67 in the tissues of experimental rat glioma in toxoplasmosis, depending on the period of invasion.

We found that invasion of *T. gondii* in a dose of 5000 tachyzoites significantly increases the index of proliferative activity on the 7th day after invasion – 1,79 times ($p=0,005$); on the 14th day of development of *Toxoplasma* – 2,67 times ($p=0,005$); on the 21st day after infection – 1,68 times ($p=0,005$); on the 28th day after infestation – 2,97 times ($p=0,005$); at 35 days after infection – 3,01 times ($p=0,005$); on the 42nd day of development of the parasite – 3,25 times ($p=0,005$). **Keywords:** *Toxoplasma gondii*, glioma, rat, GFAP, S-100, Ki-67.

Введение. Процесс паразитирования простейшего *Toxoplasma gondii* в организме человека, диких и домашних животных вызывает токсоплазмоз. Распространяясь лимфогенным и гематогенным путями, паразит попадает во внутренние органы и оседает в них интра- и экстрацеллюлярно. После диссеминации, споровик образует тканевые цисты, вызывая состояние латентно текущей инвазии. Чаще всего токсоплазма поражает ЦНС, в которой наблюдаются очаговые воспалительные явления, циркуляторные нарушения, связанные с васкулитом сосудов мозга, обструкция ликворных путей и, как итог, гидро- и микроцефалия [1].

Кроме механического воздействия, *Toxoplasma gondii* взаимодействует с иммунной системой организма хозяина, вызывая локальный иммунный ответ. Итогом такого влияния может стать рост уровня нейромодуляторов. Известно, что у человека избыток нейромодуляторов приводит к психозам, проявления которых практически не отличаются от симптомов шизофрении [2].

Известно, что *T. gondii* способна влиять на работу более тысячи генов человека, ответственных за нормальные процессы клеточного деления, апоптоз, уничтожение или исправление «некачественных» клеток [3].

Цель – изучить изменение нейроспецифических глиомных показателей (GFAP, S100) и индекса пролиферативной активности (Ki-67) при экспериментальном токсоплазмозе в зависимости от срока развития инвазии.

Материалы и методы исследований. В эксперименте участвовали 20 самок крыс линии Wistar трехмесячного возраста массой 200 г. Работа с животными велась в соответствии с рекомендациями Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals for Experimental and Other Scientific Purposes: Strasbourg, Council of Europe, 51 pp; 18.03.1986), Директивой Совета ЕЭС от 24.11.1986 (Council Directive on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Animal Used for Experimental and Other Scientific Purposes), рекомендациями FELASA Working Group Report (1994-1996), ТКП 125-2008 и методическими указаниями «Положение о порядке использования лабораторных животных в научно-исследовательских работах и педагогическом процессе УО «Витебский государственный медицинский университет», а также мерами по реализации требований биомедицинской этики.

Крыс делили на 2 группы. Экспериментальную модель глиомы С6 in situ воспроизводили у животных двух групп. Для этого путем инъекции вводили опухолевые клетки крысиной глиомы С6 во внутреннюю область бедра в концентрации 10×10^6 подкожно. Параллельно с этим проводили инъекцию дексаметазона в дозировке 0,001 мл (4,0 мг/мл) на 1 грамм веса животного внутримышечно. Инъекции дексаметазона ставили ежедневно в течение 7 суток после перевивки, а с 8-х суток – с кратностью через сутки в течение 14 суток.

Убой животных осуществляли путем дислокации шейных позвонков под воздействием эфирного наркоза.

Опухолевый материал животных первой группы эксперимента служил контролем для получения результатов на различных сроках развития опухоли. Забор материала проводили на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е, 42-е и 49-е сутки [4].

Опухолевый материал крыс второй группы использовался для изучения влияния *T. gondii* на изменение нейроспецифических глиомных показателей (GFAP, S 100) и индекса пролиферативной активности (Ki 67) в зависимости от сроков развития инвазии. Самок заражали инвазионной культурой токсоплазм на 7-й день после введения опухолевых клеток крысиной глиомы С6 в дозе 25 тахизоитов на 1 г массы тела животного (5000 тахизоитов на самку). Биоптаты новообразований забирали 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), 42-е сутки развития опухоли (35-е сутки после инвазии) и 49-е сутки развития глиомы (42-е сутки после инвазии) [4].

Срезы глиомы С6, полученные от экспериментальных крыс, фиксировали в забуференном формалине на 24 часа, после чего готовили парафиновые блоки [4]. Далее получали гистологические препараты для обзорного изучения, которые окрашивали гематоксилином и эозином.

Изменение нейроспецифических глиомных показателей (GFAP, S 100) и индекса пролиферативной активности (Ki 67) в зависимости от сроков развития инвазии проводили после изготовления серийных парафиновых срезов с использованием специализированных стекол, обработанных поли-L-лизинном. Для демаскировки антигенов применяли буфер Wuhan Elabscience Biotechnology Incorporated Company, а для иммуногистохимической реакции - систему визуализации 2-step plus Poly-HRP Anti Rabbit/Mouse IgG Detection System (with DAB Solution, Wuhan Elabscience Biotechnology Incorporated Company, Китай, E-IR-R213).

Результат ИГХ-окрашивания фиксировали с применением светового микроскопа Leica DM 2500 в 1000 клетках каждого среза в непересекающихся полях зрения. Учитывали локализацию окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма и/или мембрана), интенсивность окрашивания (в области с максимальной экспрессией) и процент окрашенных клеток [4]. Опухоль считали отрица-

тельной при полном отсутствии окрашивания цитоплазмы или при окрашивании менее 10% клеток (0 баллов); оценивали в 1 балл (1+) - при окрашивании цитоплазмы от 10 до 25% клеток; в 2 балла (2+) – при окрашивании цитоплазмы от 26 до 50% клеток; в 3 балла (3+) – более чем у 50% клеток (GFAP, S 100).

Пролиферативную активность опухоли (Ki-67) рассчитывали как процент положительных ядер в клетках опухоли. Пролиферативную активность считали полностью отрицательной, если в ткани новообразования отсутствовала ядерная экспрессия с антителами или количество окрашенных ядер было менее 10%; положительной - при окраске более 10% опухолевых клеток, оцениваемую в области максимальной экспрессии маркера; опухолью с высокой пролиферативной активностью считали, если экспрессия Ki-67 фиксировалась в более чем 40% клеток; при экспрессии Ki-67 в менее 40% давали оценку низкой пролиферативной активности клеток [4].

Долю окрашенных клеток (Immune reactivity, IRS) выражали как сумму баллов окрашенных клеток и интенсивности их окраски. Позитивной считали опухоль при суммарном балле более или равном 3 [4].

Различия между группами оценивали по критерию Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса, Вилкоксона и считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.

Результаты исследований. После умерщвления самок 1 и 2 групп при визуальном осмотре в области инъекции культуры клеток глиомы крыс С6 выявлены новообразования округлой формы с неровными краями от 2 до 6 см³ с хорошо развитым кровоснабжением. При вскрытии они имели плотную консистенцию, розово-красный цвет и легко отделялись от окружающих тканей. Внутри опухоли имели несколько полостей, заполненных жидкостью. Гистологический анализ показал, что новообразование соответствует глиоме (глиобластоме).

В тканях новообразований первой серии эксперимента, полученных на 14-е, 21-е, 28-е, 35-е, 42-е и 49-е сутки после введения опухолевой культуры С6, экспрессия GFAP составила: к 14-м суткам - 1+ (13,46%; 95% ДИ : 11,48-15,43; IRS=5); к 21-м суткам – 1+ (18,24%; 95 % ДИ : 16,10-20,37; IRS=5); к 28-м суткам – 1+ (12,92%; 95% ДИ : 11,87-13,96; IRS=5); на 35-е сутки – 1+ (14,43%; 95% ДИ : 13,39-15,46; IRS=5); на 42-е и 49-е сутки – по 1+ (15,34%; 95% ДИ : 14,24–16,43; IRS=5) и (14,25%; 95% ДИ : 12,98–15,51; IRS=5). Достоверное отличие экспрессии наблюдалось при сравнении результатов, полученных на 14-е и 21-е сутки. Экспрессия GFAP к 21-м суткам развития глиомы превышала данные, зафиксированные на 14-е сутки, в 1,35 раза ($p=0,007$).

Показатели экспрессии S 100 в биоптатах контрольной группы к 14-м суткам составила 1+ (13,93%; 95% ДИ : 11,48-15,43; IRS=5); к 21-м суткам – 1+ (19,23%; 95% ДИ : 17,88-20,57; IRS=5); к 28-м суткам – 1+ (13,89%; 95% ДИ : 12,88–14,89; IRS=5); на 35-е сутки – 1+ (15,37%; 95% ДИ : 13,94-16,79; IRS=5); на 42-е сутки - 1+ (16,59%; 95% ДИ : 15,35–17,82; IRS=5) и 49-е сутки (13,62%; 95% ДИ : 10,66–16,57; IRS=5). Рост экспрессии S 100 отмечался на 21-е сутки в 1,38 раза ($p=0,0003$) и на 42-е сутки – в 1,19 раза ($p=0,007$).

Результаты расчета индекса пролиферативной активности опухоли Ki-67 имели следующие показатели: на 14-е сутки – 27,63% (95% ДИ : 25,23–30,02); к 21-м суткам – 26,93% (95% ДИ : 23,74–30,11); к 28-м суткам – 25,66% (95% ДИ : 22,56–28,75); на 35-е сутки – 13,78% (95% ДИ : 12,17-15,38); на 42-е сутки – 13,81% (95% ДИ : 11,57–16,04) и 49-е сутки – 12,71% (95% ДИ : 11,50–13,91). Отмечалось достоверное снижение индекса пролиферативной активности с увеличением срока развития глиомы в 2-2,17 раза ($p=0,001$).

Экспрессия GFAP в образцах опухолевой ткани второй группы к 7-м суткам развития токсоплазмы составила 1+ (15,69%; 95% ДИ : 12,40-18,97; IRS=5); к 14-м суткам – 1+ (17,46%; 95% ДИ : 15,31-19,60; IRS=5); к 21-м суткам – 1+ (16,46%; 95% ДИ : 13,52-19,39; IRS=5); на 28-е сутки – 1+ (14,48%; 95% ДИ : 13,34-15,61; IRS=5); к 35-м суткам развития заболевания - 1+ (15,65%; 95% ДИ : 14,58-16,71; IRS=5), а к 42-м суткам – 1+ (14,58%; 95% ДИ : 15,06-17,33; IRS=5). Достоверных отличий в группе контроля не выявлено.

Экспрессия S 100 в биоптатах группы номер два к 7-м суткам развития паразита была на уровне 1+ (15,69%; 95% ДИ : 12,40-18,97; IRS=5); к 14-м суткам – 1+ (18,57%; 95% ДИ : 17,23-19,90; IRS=5); к 21-м суткам – 1+ (14,07%; 95% ДИ : 13,15–14,98; IRS=5); на 28-е сутки – 1+ (15,25%; 95% ДИ : 14,16-16,33; IRS=5); на 35-е сутки - 1+ (16,40%; 95% ДИ : 15,45–17,34; IRS=5) и 42-е сутки (16,19%; 95% ДИ : 14,91–17,46; IRS=5). Достоверных отличий в группе контроля выявлено не было.

Индекс пролиферативной активности опухоли (Ki-67) был на следующем уровне: на 7-е сутки после инвазии (14-е сутки развития опухоли) – 49,73% (95% ДИ : 45,42-54,03); к 14-м суткам развития паразита (21-е сутки развития опухоли) – 72,17% (95% ДИ : 70,62-73,71); к 21-м суткам (28-е сутки развития опухоли) – 43,25% (95% ДИ : 40,82-45,67); на 28-е сутки (35-е сутки развития опухоли) – 40,97% (95% ДИ : 39,79-42,14); на 35-е сутки после заражения (42-е сутки развития опухоли) - 41,70% (95% ДИ : 40,14-43,25) и 42-е сутки после инвазии (49-е сутки развития опухоли) - 41,32% (95% ДИ : 39,59-43,04). Максимальная активность пролиферации клеток отмечена на 7-е и 14-е сутки после заражения, а затем индекс пролиферативной активности

снижался, но достоверно превышал контрольные результаты. Так, при сравнении данных первой группы (контроль), полученных на 14-е сутки развития опухоли, с результатами второй группы (забор материала на 7-е сутки после инвазии, 14-е сутки развития глиомы) выявлено, что наблюдается рост пролиферации в материале животных опытной группы (второй) в 1,79 раза ($p=0,005$); сравнение результатов, полученных на 21-е сутки развития опухоли (контроль), с данными, полученными на 14-е сутки развития токсоплазм (21-е сутки развития опухоли, вторая группа), показало рост пролиферации в 2,67 раза ($p=0,005$). Индекс Ki-67 в материале второй группы на 21-е сутки после заражения (28-е сутки развития опухоли) был выше в 1,68 раза ($p=0,005$) показателей контрольной группы (забор на 28-е сутки развития опухоли); на 28-е сутки после инвазии (35-е сутки развития глиомы) - в 2,97 раза ($p=0,005$); к 35-м суткам после заражения животных токсоплазмами (42-е сутки развития глиомы) - в 3,01 раза ($p=0,005$); на 42-е сутки развития паразита (49-е сутки развития опухоли) - в 3,25 раза ($p=0,005$).

Заключение. По результатам проведенного эксперимента установлено, что инвазия *T. gondii* в дозе 5000 тахизоитов достоверно повышает индекс пролиферативной активности на 7-е сутки после инвазии - в 1,79 раза ($p=0,005$); на 14-е сутки развития токсоплазм - в 2,67 раза ($p=0,005$); на 21-е сутки после заражения - в 1,68 раза ($p=0,005$); на 28-е сутки после инвазии - в 2,97 раза ($p=0,005$); к 35-м суткам после заражения - в 3,01 раза ($p=0,005$); на 42-е сутки развития паразита - в 3,25 раза ($p=0,005$).

Такой эффект может быть связан с иммуносупрессорным, механическим, а также генотоксическим воздействием паразита на организм хозяина, что, в свою очередь, может активировать интенсивный рост глиомы за счет увеличения скорости деления раковых клеток.

Литература. 1. Токсоплазмоз головного мозга у больных ВИЧ-инфекцией в городе Оренбурге / Н. Р. Михайлова [и др.] // Вестн. Оренбургского гос. ун-та. - 2015. - № 1 (176). - С. 138-144. 2. Клинические и морфологические особенности пороков развития у детей с врожденными цитомегаловирусной и токсоплазменной инфекциями / Л. Ю. Барычева [и др.] // Российский Вестник перинатологии и педиатрии. - 2015. - № 3. - С. 50-57. 3. *Toxoplasma modulates signature pathways of human epilepsy Neurodegeneration & Cancer* / Huân M. [et al] // *Scientific reports*. - 2017. - № 7. - P. 11496. 4. Иммуногистохимические методы исследования новообразований различного генеза : инструкция по применению / Э. А. Надыров [и др.] // Рег. номер 160-1110. - Гомель, 2011. - 20 с.

Статья передана в печать 28.11.2019 г.

УДК 619:616.155.194:663.4

ПОКАЗАТЕЛИ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «КВИНОСТИМ» И ЕГО ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИ ГАСТРОЭНТЕРИТЕ У ПОРОСЯТ-ОТЪЕМЫШЕЙ

Петров В.В., Мацинович М.С., Белко А.А., Мацинович А.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Было проведено определение показателей острой токсичности, лечебной и терапевтической эффективности ветеринарного препарата «Квиностим» при гастроэнтерите у поросят-отъемышей. Установлена LD_{50} для ветеринарного препарата «Квиностим», которая при однократном пероральном введении белым лабораторным мышам не обладает видимым токсическим действием, LD_{50} препарата для белых лабораторных мышей составляет более 12500,0 мг/кг. Ветеринарный препарат «Квиностим» является эффективным лечебно-профилактическим средством при гастроэнтерите у поросят-отъемышей. Его применение позволяет повысить эффективность профилактических мероприятий при гастроэнтерите у поросят при отъеме на 16% и среднесуточные привесы на 8,7%. Терапевтическая эффективность составила 88%. **Ключевые слова:** препарат, токсичность, лечебно-профилактическая эффективность, гастроэнтерит, поросята.

INDICATORS OF ACUTE TOXICITY OF VETERINARY MEDICATION «QUINOSTIM» AND ITS PREVENTIVE EFFECTIVENESS AT GASTROENTERITIS IN WEANED PIGLETS

Petrov V.V., Matsinovich M.S., Belko A.A., Matsinovich A.A.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

The indicators of acute toxicity, healing and therapeutic efficacy of the veterinary medication «Quinostim» for gastroenteritis in weaned pigs were determined. The LD_{50} for the veterinary medication «Quinostim» was established, which, when administered orally to white laboratory mice, does not have a visible toxic effect, the LD_{50} of the medication for white laboratory mice is more than 12500,0 mg/kg. Veterinary medication «Quinostim» is an effective therapeutic and prophylactic means for gastroenteritis in weaned piglets. Its use allows to increase the effectiveness of preventive measures for gastroenteritis in piglets at weaning by 16% and average daily gain by 8,7%. Therapeutic efficacy was 88%. **Keywords:** medication, toxicity, preventive efficacy, gastroenteritis, piglets.