

Научная статья

УДК 619:616.995.121.56

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2023-17-1-124-133>

Антимитотические эффекты экстракта протосколексов *Cysticercus tenuicollis* при введении мышам и их негативные последствия для организма

Тамара Самуиловна Новик¹, Елена Ивановна Ковешникова²,
Амина Аслановна Тхакахова³, Светлана Ивановна Чукина⁴,
Людмила Александровна Написанова⁵, Олег Николаевич Андреев⁶,
Александр Витальевич Успенский⁷

¹⁻⁷Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», Москва, Россия

¹novik.tamara@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9317-2052>

²koveshnikova.e.i@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-7772>

³amina7161@yandex.ru

⁴feruza7491@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7507-4165>

⁵napisanova2015@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0894-827X>

⁶1980oleg@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3357-9322>

⁷a.v.uspensky@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9115-9890>

Аннотация

Цель исследований – изучить влияние экстракта протосколексов *Cysticercus tenuicollis* на деление клеток при различных путях ведения мышам и оценить их негативные последствия для организма.

Материалы и методы. *C. tenuicollis* получали от спонтанно инвазированных овец в Кабардино-Балкарской Республике. Для приготовления соматического экстракта из протосколексов *C. tenuicollis* отмытый и подготовленный биоматериал измельчали и подвергали гомогенизации. Экстрагирование белков осуществляли фосфатно-солевым буфером pH 7,2–7,4, затем центрифугировали при 15000 об/мин в центрифуге. Экстракт *C. tenuicollis* вводили внутривенно и внутрибрюшинно мышам-самцам массой 18–22 г в дозе 80 мкг белка/животное. Контрольной группе мышей внутривенно вводили по 0,1 мл физиологического раствора. Мышей убивали декапитацией через 3; 6; 24 и 48 ч после введения исследуемого материала. У опытных и контрольных мышей отбирали образцы костного мозга для приготовления микроскопических препаратов для оценки митотической активности в данной популяции клеток. Определяли митотический индекс, регистрировали все стадии митоза. Во временные точки в пробирки с антикоагулянтом отбирали образцы крови для определения основных гематологических показателей мышей после внутривенного и внутрибрюшинного введения экстракта *C. tenuicollis*. Основные показатели периферической крови мышей определяли на гематологическом анализаторе, лейкоцитарную формулу – общепринятым методом. У опытных и контрольных животных отбирали образцы печени, почек, селезенки, брыжеечных лимфатических узлов и семенников для макроскопических и микроскопических исследований.

Результаты и обсуждение. Экстракт протосколексов *C. tenuicollis* привел к угнетению клеточного деления в популяции клеток костного мозга и семенников мышей при внутривенном и внутрибрюшинном введении в дозе 80 мкг/животное с накоплением метафаз и снижением доли других стадий. При обоих путях введения отмечали снижение числа лейкоцитов в крови мышей. Наблюдаемые микроскопические изменения в семенниках, селезенке и лимфатических узлах либо отражают последствия антимитотического действия экстракта, либо ответную иммунную реакцию организма мышей на введение белкового экстракта *C. tenuicollis*.

Ключевые слова: протосколексы, *Cysticercus tenuicollis*, экстракт, митоз, антимитотическое действие, гематологические показатели, мыши



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Благодарности. Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг.), составляющей основу государственного задания № FGUG-2022-0012.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов отсутствует.

Для цитирования: Новик Т. С., Ковешникова Е. И., Тхакахова А. А., Чукина С. И., Написанова Л. А., Андрянов О. Н., Успенский А. В. Антимитотические эффекты экстракта протосколексов *Cysticercus tenuicollis* при введении мышам и их негативные последствия для организма // Российский паразитологический журнал. 2023. Т. 17. № 1. С. 124–133.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2023-17-1-124-133>

© Новик Т. С., Ковешникова Е. И., Тхакахова А. А., Чукина С. И., Написанова Л. А., Андрянов О. Н., Успенский А. В., 2023

Original article

Antimitotic effects of *Cysticercus tenuicollis* protoscolexes extract at administration to mice and their negative consequences for organism

Tamara S. Novik¹, Elena I. Koveshnikova², Amina A. Tkhakakhova³, Svetlana I. Chukina⁴,
Ludmila A. Napisanova⁵, Oleg N. Andreyanov⁶, Aleksander V. Uspensky⁷

¹⁻⁷All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV” (VNIIP – FSC VIEV), Moscow, Russia

¹novik.tamara@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9317-2052>

²koveshnikova.e.i@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-7772>

³amina7161@yandex.ru

⁴feruza7491@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7507-4165>

⁵napisanova2015@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0894-827X>

⁶1980oleg@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3357-9322>

⁷a.v.uspensky@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9115-9890>

Abstract

The purpose of the research is studying of *Cysticercus tenuicollis* protoscolexes extract effects on cell division at different routes of administration to mice and evaluation of the associated negative effects.

Materials and methods. *C. tenuicollis* were obtained from spontaneously infected sheep in Kabardino-Balkarian Republic. *C. tenuicollis* protoscolexes were washed, crushed and homogenized. Protein extraction was performed with phosphate buffered saline pH 7.2–7.4. *C. tenuicollis* extract was administered intraperitoneally and intravenously to mice males at the dose level of 80 µg protein/animal. The control group of mice was intravenously injected with 0.1 ml of saline. At hours 3; 6; 24 and 48 post extract administration mice were euthanized. Bone marrow samples were taken from experimental and control mice for preparation of microscopic preparations to assess mitotic activity in a given cell population. The mitotic index was determined, all stages of mitosis were recorded. At the above time points blood samples were taken from mice to determine the main hematological parameters post intravenous and intraperitoneal administration of *C. tenuicollis* extract. The main hematological parameters of mice were determined using hematological analyzer MicroCC-20 Plus (High Technology, Inc. (USA)); leukocyte formula – by the generally accepted method. Samples of liver, kidneys, spleen, mesenteric lymph nodes and testes were taken from experimental and control animals for macroscopic and microscopic studies.

Results and discussion. *C. tenuicollis* protoscolices extract leads to inhibition of cell division in the population bone marrow and testes cells in mice when administered intravenously and intraperitoneally at the dose level of 80 µg/animal manifested in accumulation of metaphases and decrease of other stages. At both routes of administration a decrease in leukocyte counts was noted. The observed microscopic changes in testes, spleen and lymph nodes either reflect the consequences of extract antimitotic effect or the immune response to the administration of *C. tenuicollis* extract.

Keywords: protoscolexes, *Cysticercus tenuicollis*, extract, mitosis, antimitotic effect, hematological parameters, mice

Acknowledgements. The work was carried out within the framework of the Program of Fundamental Scientific Research in the Russian Federation for a long-term period (2021–2030), which forms the basis of state task No. FGUG-2022-0012.

Financial transparency: none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

There is no conflict of interests.

For citation: Novik T. S., Koveshnikova E. I., Tkhakakhova A. A., Chukina S. I., Napisanova L. A., Andreyanov O. N., Uspensky A. V. Antimitotic effects of *Cysticercus tenuicollis* protoscolexes extract at administration to mice and their negative consequences for organism. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2023;17(1):124–133. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2023-17-1-124-133>

© Novik T. S., Koveshnikova E. I., Tkhakakhova A. A., Chukina S. I., Napisanova L. A., Andreyanov O. N., Uspensky A. V., 2023

Введение

При паразитарных инвазиях, а также при введении продуктов паразитов, относящихся к различным таксономическим группам, митотический аппарат и процесс клеточного деления у животных-хозяев становится мишенью для воздействия и подвергается выраженным изменениям негативного характера [1-5, 9, 10]. При этом, эффекты каждого паразита являются уникальными, имеют свои особенности, но проявляются и общие тенденции, выражающиеся в патологическом воздействии на митоз.

Целесообразно было продолжить серию исследований, посвященных оценке влияния паразитов различной локализации в организме хозяина и продуктов их метаболизма на клеточное деление, а также установить возможные последствия таких эффектов.

Предмет наших исследований – экстракт протосколексов *Cysticercus tenuicollis*. *C. tenuicollis* представляет собой личиночную стадию ленточного паразита *Taenia hydatigena* и является возбудителем тениюкольного цистицеркоза у жвачных и свиней. В основном, гельминт поражает печень и серозные покровы животных; чаще всего его регистрируют у овец.

Целью наших исследований было изучение влияния экстракта протосколексов *C. tenuicollis* при его парентеральном введении мышам на процесс деления клеток и оценка последствий такого феномена для организма.

Материалы и методы

Эксперименты на животных проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных

животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [11]. Мышей содержали в виварии согласно санитарным правилам и на стандартном рационе в соответствии с нормативными документами, действующими в период выполнения настоящих экспериментов [6-8].

Корм представлял собой сухой брикетированный корм ПК-120 ГОСТ Р 51849-2011 Р.5 (ООО «Лабораторкорм», г. Москва).

Для питья использовали водопроводную воду, которую давали *ad libitum* из стандартных поилок.

Животных содержали в контролируемых условиях при температуре воздуха 20–22 °С и относительной влажности 60–70%. Температуру и влажность воздуха контролировали в каждом помещении ежедневно и показания документировали. Освещение – естественно-искусственное (12 ч свет/12 ч темнота).

C. tenuicollis получали от спонтанно инвазированных овец в Кабардино-Балкарской Республике. Для приготовления соматического экстракта из протосколексов *C. tenuicollis* отмытый и подготовленный биоматериал измельчали, подвергали гомогенизации в фарфоровой ступке, помещенной в посуду со льдом. В процессе гомогенизации биоматериал подвергали многократному замораживанию и оттаиванию, что позволяло получать однородную гомогенную массу. Экстрагирование белков осуществляли в фосфатно-солевом буферном растворе рН 7,2–7,4 в соотношении 1 : 10 в течение 36–48 ч на магнитной мешалке при 4 °С, затем центрифугировали при 15 тыс. об/мин в течение 15–20 мин. в цен-

трифуге с охлаждением Optima TLX (настольная центрифуга, контролируемая микропроцессом Beckman Coulter International S.A.).

Надосадочную жидкость – экстракт использовали для введения мышам.

Экстракт *C. tenuicollis* вводили двумя путями (внутрибрюшинно и внутривенно) мышам-самцам массой 18–22 г в дозе 80 мкг белка/животное. Контрольной группе мышей внутривенно вводили по 0,1 мл физиологического раствора. Мышей убивали декапитацией через 3, 6, 24 и 48 ч после введения исследуемого материала. У опытных и контрольных мышей отбирали образцы костного мозга для приготовления микроскопических препаратов для оценки митотической активности в данной популяции клеток.

Выделение клеток костного мозга и приготовление препаратов проводили по методике, описанной в литературе [12]. Препараты исследовали с использованием микроскопа Zeiss Axio Imager.

Определяли митотический индекс, который выражали в процентах. Регистрировали все стадии митоза и также выражали в процентах.

В указанные временные точки в пробирки с антикоагулянтом отбирали образцы крови для определения основных гематологических показателей мышей после внутривенного и внутрибрюшинного введения экстракта *C. tenuicollis*.

Основные показатели периферической крови мышей определяли на гематологическом анализаторе «MicroCC-20 Plus» («High Technology, Inc.» (США)) с использованием реактивов ООО «Клиникал Диагностик солешнз» (Россия), лейкоцитарную формулу – общепринятым методом.

Кроме того, у опытных и контрольных животных отбирали образцы печени, почек, селезенки, брыжеечных лимфатических узлов и семенников для макро- и микроскопических исследований. Материал фиксировали в 10%-ном формалине и заливали в парафин. Гистологические срезы делали на микротоме «Mісrom НМ325» (Германия) и окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопические препараты исследовали под микроскопом «Micros» (Австрия) при увеличении 90 × 10.

Статистическую обработку данных осуществляли методом вариационной статистики с помощью простого сравнения средних по двухстороннему t-критерию Стьюдента. Различия определяли при 0,05 уровне значимости.

Результаты и обсуждение

Результаты оценки пролиферативной активности клеток костного мозга после внутривенного и внутрибрюшинного введения экстракта *C. tenuicollis* мышам приведены в таблице 1.

Через 3, 6, 24 и 48 ч после внутривенного введения экстракта протосколексов *C. tenuicollis* значение митотического индекса в популяции клеток костного мозга достоверно не изменялось и составило соответственно $2,33 \pm 0,76$; $0,83 \pm 0,45$; $1,70 \pm 0,65$ и $1,83 \pm 0,067\%$ по сравнению с $1,28 \pm 0,56\%$ в контроле.

Однако, во все сроки исследований имели место изменения доли отдельных стадий митоза (табл. 1). Так, наблюдали резкое повышение относительного числа метафаз (в указанной временной динамике соответственно $70,97 \pm 2,27$; $66,67 \pm 2,36$; $61,76 \pm 2,43$ и $76,71 \pm 2,12\%$ против $47,06 \pm 2,50\%$ в контроле).

Уже через 3 ч статистически значимо снизилось число всех других стадий митоза: профаз ($11,83 \pm 1,62\%$ по сравнению с $21,57 \pm 2,06\%$ в контроле), анафаз ($11,83 \pm 1,62\%$ по сравнению с $17,65 \pm 1,91\%$ в контроле) и телофаз ($5,38 \pm 1,13\%$ по сравнению с $13,73 \pm 1,72\%$ в контроле).

Через 6, 24 и 48 ч доля анафаз и телофаз была стойко ниже по сравнению с контролем; исключение составили профазы, содержание которых через 6 ч имело тенденцию к повышению, но она не была статистически значимой (табл. 1).

В таблице 1 также приведены данные по оценке влияния экстракта протосколексов *C. tenuicollis* после его внутрибрюшинного введения.

Результаты по своему характеру и временному паттерну сопоставимы с таковыми, полученными при внутривенном введении, что не вызывает удивления, поскольку эти два пути близки по биодоступности вводимых соединений.

С учетом этого обстоятельства отметим основные тенденции. Так, на все сроки ис-

Таблица 1 [Table 1]

Влияние экстракта протосколексов *C. tenuicollis* на митоз клеток костного мозга мышей после внутривенного и внутрибрюшинного введения (n = 4, P ≥ 0,05)

[Effect of *C. tenuicollis* protoscolex extract on mouse bone marrow cell mitosis after intravenous and intraperitoneal administration (n = 4, P ≥ 0.05)]

Срок исследования (ч) после введения экстракта [Research period (h) after extract introduction]	Митотич. индекс, % [Mitotic index, %]	Процентное соотношение стадий митоза [Percentage of mitosis stages]			
		профаза [prophase]	метафаза [metaphase]	анафаза [anaphase]	телофаза [telophase]
<i>Внутривенное введение [Intravenous administration]</i>					
3	2,33±0,76 t = 1,12	11,83±1,62* t = 3,72	70,97±2,27* t = 7,07	11,83±1,62* t = 2,33	5,37±1,13* t = 4,05
6	0,83±0,45 t = 0,63	27,27±2,23 t = 1,88	66,67±2,36* t = 5,70	3,03±0,86* t = 6,96	3,03±0,86* t = 5,57
24	1,70±0,65 t = 0,49	17,66±1,91 t = 1,40	61,76±2,43* t = 4,21	10,29±1,52* t = 3,02	10,29±1,52 t = 1,50
48	1,83±0,67 t = 0,63	10,96±1,56* t = 4,11	76,71±2,12* t = 9,04	8,22±1,38* t = 4,00	4,11±0,99* t = 4,86
<i>Внутрибрюшинное введение [Intraperitoneal administration]</i>					
3	1,48±0,60 t = 0,24	15,26±1,80* t = 2,32	74,58±2,18* t = 8,29	8,47±1,39* t = 3,89	1,69±0,65* t = 6,54
6	0,53±0,36 t = 1,14	33,34±2,36* t = 3,76	57,14±2,48* t = 2,86*	4,76±1,07* t = 5,89	4,76±1,07* t = 4,44
24	1,95±0,69 t = 0,75	17,95±1,92 t = 1,28	64,10±2,40* t = 4,91	10,26±1,52* t = 3,03	7,69±1,33* t = 2,78
48	0,70±0,42 t = 0,83	17,86±1,92 t = 1,28	75,00±2,17* t = 8,44	3,57±0,93* t = 6,64	3,57±0,93* t = 5,21
Контроль [Control]	1,28±0,56	21,57±2,06	47,06±2,50	17,65±1,91	13,73±1,72

Примечание. [Note]. * - P ≥ 0,05 (различие по данному показателю статистически достоверно между опытной и контрольной группами) [(the difference in this indicator is statistically significant between the experimental and control groups)]

следования значение митотического индекса в популяции клеток костного мозга не отклонялось от контрольного значения и составило соответственно 1,48±0,60; 0,53±0,36; 1,95±0,69 и 0,70±0,42% по сравнению с 1,28±0,56% в контроле. Во все сроки исследований имело место резкое повышение доли метафаз (74,58±2,18; 57,14±2,48; 64,10±2,40 и 75,00±2,17% против 47,06±2,50% в контроле) (табл. 1).

В отношении других стадий митоза, то после введения экстракта *C. tenuicollis* на все сроки отмечали снижение числа анафаз и телофаз. Как и при внутривенном введении, через 3 ч доля профаз снижалась, через 6 ч, напротив, достоверно превышала контрольное значение, а спустя 24 и 48 ч не отличалась значимо от контроля (табл. 1).

Таким образом, экстракт *C. tenuicollis* приводил к угнетению митоза в популяции клеток костного мозга мышей при обоих путях введения, несмотря на некоторые имеющиеся в каждом случае незначительные особенности проявления данного эффекта.

Вышеописанные антимиотические эффекты могли привести к нарушению гемопоэза, и, в конечном счете, к снижению числа форменных элементов в крови мышей.

При внутривенном введении экстракта протосколексов *C. tenuicollis* имело место достоверное снижение числа лейкоцитов через 3, 6 и 48 ч (соответственно 3,35±0,79; 3,43±0,21 и 5,08±0,45 10⁹/л против 7,83±0,47 10⁹/л в контроле) (табл. 2).

После внутрибрюшинного введения экстракта *C. tenuicollis* также отмечали статистически значимое снижение числа лейкоцитов через 3, 24 и 48 ч (4,19±0,37; 3,83±0,34 и 5,35±0,70 10⁹/л против 7,83±0,47 10⁹/л в контроле). Через 6 ч после введения экстракта установлена только тенденция к снижению уровня лейкоцитов. Однако, относительное число отдельных субпопуляций лейкоцитов (лейкоцитарная формула) оставалось без изменений.

Кроме того, имело место снижение среднего содержания гемоглобина в эритроците и средней концентрации гемоглобина в эритроците через 24 ч после внутрибрюшинного введения экстракта (соответственно 15,62±0,22 пг и 256,08±3,84 г/л против контрольных значений 18,68±0,89 пг и 322,02±10,44 г/л).

Остальные тестированные показатели не подверглись статистически значимым изменениям (табл. 2, 3).

Таблица 2 [Table 2]

Гематологические показатели у мышей через 3, 6 и 48 ч после внутривенного введения экстракта протосколексов *C. tenuicollis* (n = 4; P ≤ 0,05)
[Hematological parameters in mice 3, 6, and 48 hours after intravenous administration of *C. tenuicollis* protoscolex extract (n = 4; P ≤ 0.05)]

Параметр [Parameter]	Значение параметра в сроки (ч) после введения экстракта [The value of the parameter in terms (h) after the introduction of the extract]			
	3	6	48	контроль [control]
Гематокрит, % [Hematocrit, %]	42,09±2,12 t = 0,44	35,09±3,94 t = 0,67	41,09±1,34 t = 0,27	39,64±4,38
Гемоглобин, г/л [Hemoglobin, g/l]	120,75±3,79 t = 0,39	108,75±14,67 t = 0,81	119,00±4,81 t = 0,50	126,25±11,50
Эритроциты, 10 ¹² /л [Erythrocytes, 10 ¹² /l]	7,24±0,31 t = 0,14	6,49±0,89 t = 0,42	7,31±0,22 t = 0,20	7,09±0,88
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг [Average content of hemoglobin in an erythrocyte, pg]	16,73±0,56 t = 1,74	16,83±0,87 t = 1,37	16,28±0,33 t = 2,42	18,68±0,80
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л [Average concentration of hemoglobin in erythrocyte, g/l]	287,85±7,14 t = 2,34	307,35±15,37 t = 0,68	289,65±7,20 t = 2,21	322,02±10,44
Средний объем эритроцита, мкм ³ [Average erythrocyte volume, μm ³]	58,13±1,64 t = 0,07	54,80±1,74 t = 1,34	56,22±0,35 t = 1,35	57,98±1,07
Показатель анизоцитоза эритроцитов, % [Erythrocyte anisocytosis index, %]	29,11±1,27 t = 0,03	31,94±1,54 t = 1,37	30,55±0,29 t = 1,37	29,16±0,83
Лейкоциты, 10 ⁹ /л [White blood cells, 10 ⁹ /l]	3,35±0,79* t = 4,23	3,43±0,21* t = 7,37	5,08±0,45* t = 3,66	7,83±0,47
Тромбоциты, 10 ⁹ /л [Platelets, 10 ⁹ /l]	1523,75±86,82 t = 2,06	2420,50±194,41 t = 0,72	2073,83±269,84 t = 0,20	2157,75±251,77
<i>Лейкограмма, % [Leukogram, %]</i>				
Палочкоядерные нейтрофилы [Rodshaped neutrophils]	2,50±1,04 t = 0,41	1,50±0,96 t = 0,14	1,75±0,63 t = 0	1,75±1,18
Сегментоядерные нейтрофилы [Segmented neutrophils]	14,25±2,59 t = 0,06	12,75±2,59 t = 0,29	14,00±1,78 t = 0	14,00±2,68
Эозинофилы [Eosinophils]	0,50±0,29 t = 0,39	0,50±0,29 t = 0,39	1,00±0 t = 0,45	0,75±0,48
Базофилы [Basophils]	0,25±0,25 t = 0,87	0,75±0,25 t = 0,29	1,25±0,48 t = 0,25	1,00±0,71
Моноциты [Monocytes]	2,00±0,41 t = 0	2,75±0,25 t = 1,03	2,25±0,85 t = 0,21	2,00±0,58
Лимфоциты [Lymphocytes]	80,50±2,33 t = 0	81,75±2,46 t = 0,27	79,75±2,87 t = 0,15	80,50±3,23

Примечание. [Note]. * - P ≤ 0,05 при t_{критическом} = 2,45 (различие по данному показателю статистически достоверно между опытной и контрольной группами) [(the difference in this indicator is statistically significant between the experimental and control groups)]

Макро- и микроскопическое исследование органов мышей. При макроскопическом исследовании печени, почек, селезенки, лимфатических узлов и семенников мышей после введения экстракта *C. tenuicollis* патологических изменений не обнаружено.

При микроскопическом исследовании печени и почек мышей после введения экстракта *C. tenuicollis* патологии также не наблюдали. Однако, на микроскопических препаратах селезенки, лимфатических узлов и семенников мышей были обнаружены изменения.

При внутривенном и внутрибрюшинном введении наблюдали схожие изменения. Однако, поскольку имелись небольшие различия, то описание приводим для двух путей введения экстракта по отдельности.

Внутривенное введение

Селезенка. 3 ч – сильно выраженный экстрамедуллярный гемопоэз, 6 ч – сильно выраженный экстрамедуллярный гемопоэз, 24 ч – сильно выраженный экстрамедуллярный гемопоэз, 48 ч – сильно выраженный экстрамедуллярный гемопоэз.

Лимфатические узлы (брыжеечные). 3 ч – умеренная гиперплазия герминативных центров, 6 ч – умеренная гиперплазия герминативных центров, 24 ч – умеренная гиперплазия герминативных центров, 48 ч – умеренная гиперплазия герминативных центров.

Семенники. 3 ч – незначительно выраженный процесс гипосперматогенеза (небольшое число канальцев претерпело стадию интратубулярной остановки созревания с блокирова-

Таблица 3 [Table 3]

Гематологические показатели у мышей через 3, 6, 24 и 48 ч после внутрибрюшинного введения экстракта протосколексов *C. tenuicollis* (n = 4; P ≤ 0,05)

[Hematological parameters in mice 3, 6, 24 and 48 hours after intraperitoneal injection of *C. tenuicollis* protoscolex extract (n = 4; P ≤ 0.05)]

Параметр [Parameter]	Значение параметра в сроки (ч) после введения экстракта [The value of the parameter in terms (h) after the introduction of the extract]				
	3	6	24	48	контроль [control]
Гематокрит, % [Hematocrit, %]	39,88±4,54 t = 0,03	42,80±1,98 t = 0,57	39,69±6,62 t = 0,01	46,50±3,11 t = 1,11	39,64±4,38
Гемоглобин, г/л [Hemoglobin, g/l]	115,75±11,29 t = 0,56	131,50±7,69 t = 0,33	101,50±16,95 t = 1,05	136,50±6,24 t = 0,68	126,25±11,50
Эритроциты, 10 ¹² /л [Erythrocytes, 10 ¹² /l]	7,06±0,82 t = 0,03	7,43±0,21 t = 1,01	6,46±1,03 t = 0,40	7,78±0,30 t = 1,19	7,09±0,88
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг [Average content of hemoglobin in an erythrocyte, pg]	16,79±0,93 t = 1,34	17,70±0,89 t = 0,71	15,62±0,22* t = 3,21	17,57±1,02 t = 0,75	18,68±0,80
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л [Average concentration of hemoglobin in erythrocyte, g/l]	295,93±15,06 t = 1,23	370,19±11,04 t = 0,84	256,08±3,84* t = 5,13	295,44±13,46 t = 1,35	322,02±10,44
Средний объем эритроцита, мкм ³ [Average erythrocyte volume, μm ³]	56,71±0,28 t = 0,99	57,53±1,32 t = 0,23	61,03±1,00 t = 1,80	59,75±2,70 t = 0,53	57,98±1,07
Показатель анизоцитоза эритроцитов, % [Erythrocyte anisocytosis index, %]	30,12±0,24 t = 0,97	29,53±1,03 t = 0,24	26,87±0,71 t = 1,82	28,05±1,99 t = 0,44	29,16±0,83
Лейкоциты, 10 ⁹ /л [White blood cells, 10 ⁹ /l]	4,19±0,37* t = 5,23	6,40±0,20 t = 2,42	3,83±0,34* t = 5,97	5,35±0,70* t = 2,53	7,83±0,47
Тромбоциты, 10 ⁹ /л [Platelets, 10 ⁹ /l]	1786,75±165,84 t = 1,07	1589,00±86,74 t = 1,85	1553,25±507,44 t = 0,92	1404,75±189,23 t = 2,07	2157,75±251,77
<i>Лейкограмма, % [Leukogram, %]</i>					
Палочкоядерные нейтрофилы [Rod-shaped neutrophils]	0,75±0,48 t = 0,68	1,75±0,85 t = 0	1,75±0,85 t = 0	1,50±0,96 t = 0,14	1,75±1,18
Сегментоядерные нейтрофилы [Segmented neutrophils]	12,75±1,03 t = 0,38	8,25±2,21 t = 1,43	15,25±2,53 t = 0,29	11,75±2,46 t = 0,54	14,00±2,68
Эозинофилы [Eosinophils]	1,00±0,41 t = 0,34	0±0 t = 0,36	0,25±0,25 t = 0,80	0,25±0,25 t = 0,80	0,75±0,48
Базофилы [Basophils]	2,00±0,58 t = 0,95	3,00±1,22 t = 1,22	1,25±0,48 t = 0,25	2,00±0,82 t = 0,80	1,00±0,71
Моноциты [Monocytes]	2,00±0,41 t = 0	2,00±0,82 t = 0	3,00±0,91 t = 0,80	2,00±0 t = 0	2,00±0,58
Лимфоциты [Lymphocytes]	81,50±0,29 t = 0,27	85,00±3,03 t = 0,88	78,50±2,10 t = 0,45	82,50±2,75 t = 0,41	80,50±3,23

Примечание. [Note]. * - P ≤ 0,05 при t_{критическом} = 2,45 (различие по данному показателю статистически достоверно между опытной и контрольной группами) [(the difference in this indicator is statistically significant between the experimental and control groups)]

нием процесса созревания), 6 ч - незначительно выраженный процесс гипосперматогенеза (небольшое число канальцев претерпело стадию интратубулярной остановки созревания с блокированием процесса созревания), 24 ч - выраженный процесс гипосперматогенеза (небольшое число канальцев претерпело стадию интратубулярной остановки созревания с блокированием процесса созревания), гиперплазия клеток Лейдига, в просвете канальцев - клетки типа элементов синцитиотрофобласта.

Внутрибрюшинное введение

Селезенка. 3 ч - сильно выраженный экстрамедулярный гемопоэз, 6 ч - сильно выраженный экстрамедулярный гемопоэз, 24 ч - норма, 48 ч - сильно выраженный экстрамедулярный гемопоэз.

Лимфатические узлы (брыжеечные). 6 ч - умеренная гиперплазия герминативных центров, 24 ч - умеренная гиперплазия герминативных центров, 48 ч - умеренная гиперплазия герминативных центров.

Семенники. 3 ч – незначительно выраженный процесс гипосперматогенеза (небольшое число канальцев претерпело стадию интратубулярной остановки созревания с блокированием процесса созревания), 6 ч – незначительно выраженный процесс гипосперматогенеза (небольшое число канальцев претерпело стадию интратубулярной остановки созревания с блокированием процесса созревания), 24 ч – выраженный процесс гипосперматогенеза (небольшое число канальцев претерпело стадию интратубулярной остановки созревания с блокированием процесса созревания), гиперплазия клеток Лейдига, в просвете канальцев – клетки типа элементов синцитиотрофобласта, 48 ч – сильно выраженный процесс гипосперматогенеза (небольшое число канальцев претерпело стадию интратубулярной остановки созревания с блокированием процесса созревания), часть канальцев содержат только клетки Сертоли.

Изменения, отмеченные в лимфатических узлах, в частности, гиперплазия герминативных центров, характерны для иммунной реакции организма в ответ на стимуляцию белковым экстрактом и, скорее всего, не связаны с его антимитотическим действием.

С другой стороны, лейкопения и изменения, обнаруженные на микроскопических препаратах селезенки и семенников, на наш взгляд, являются прямым следствием антимитотических эффектов экстракта *C. tenuicollis*, сходных с действием цитостатиков.

Экстрamedулярный гемопоэз в селезенке можно рассматривать в качестве адаптационной реакции, которая является проявлением компенсаторного механизма, направленного на преодоление нарушений в кроветворении, вызванных исследуемым экстрактом.

Особый интерес представляют вышеописанные изменения на микроскопических препаратах семенников. В организме млекопитающих, помимо популяции клеток костного мозга, которая характеризуется высокой пролиферативной активностью, мужские половые клетки являются еще одной популяцией активно делящихся клеток (в данном случае имеет место мейоз). В настоящей работе непосредственно не определяли митотический индекс и отдельные стадии деления клеток семенников, однако выявленные микроскопические патологические изменения свиде-

тельствуют о том, что введение экстракта *C. tenuicollis* также оказало отрицательное влияние и на данный тип клеточного деления. Если говорить о дальнейших последствиях такого эффекта, то нарушения сперматогенеза могут привести к снижению генеративной функции у самцов.

Таким образом, внутривенное и внутрибрюшинное введение экстракта протосколексов *C. tenuicollis* привело к последовательности целого ряда патологических изменений, выражающихся в остановке клеточного деления в популяции клеток костного мозга и семенников, угнетении кроветворения и изменении гематологических показателей, нарушении сперматогенеза и компенсаторных изменений в селезенке. Мы предполагаем, что выявленные изменения, характерные для экстракта протосколексов *C. tenuicollis*, можно экстраполировать на саму инвазию, тениюкольный цистицеркоз, и предположить, и что схожие изменения имеют место при данной инвазии у сельскохозяйственных животных.

Заключение

Экстракт протосколексов *C. tenuicollis* приводит к угнетению клеточного деления в популяции клеток костного мозга и семенников мышей при внутривенном и внутрибрюшинном введении в дозе 80 мкг/животное с накоплением метафаз и снижением доли других стадий. При обоих путях введения отмечали снижение числа лейкоцитов в крови мышей. Наблюдаемые микроскопические изменения в семенниках, селезенке и лимфатических узлах либо отражают последствия антимитотического действия экстракта, либо ответную иммунную реакцию организма мышей на введение белкового экстракта *C. tenuicollis*.

Список источников

1. Гордина Е. В. Кариопатическое и патоморфологическое действие продуктов метаболизма *Fasciola hepatica* и *Bacillus subtilis*: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Пермь, 2016. 24 с.
2. Ковешникова Е. И., Новик Т. С., Руднева О. В., Чукина С. И. Исследование влияния трихинелл различных видов и стадий развития на митоз у хозяина // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2020. № 2. С. 9-14. <https://doi.org/10.33092/0025-8326mp2020.2.09-14>
3. Ковешникова Е. И., Новик Т. С., Написанова Л. А., Чукина С. И., Руднева О. В. Оценка кариопа-

- тического действия и общей переносимости экстрактов *Trichinella spiralis* и *E. multilocularis* у мышей // Российский паразитологический журнал. 2020. Т. 14. № 4. С. 90–98. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-4-90-98>
4. Новик Т. С., Ковешникова Е. И., Чукина С. И., Написанова Л.А., Андреев О. Н. Влияние экстрактов *Trichinella spiralis* и *E. multilocularis* при однократном и многократном введении на митоз, гематологические и биохимические показатели у мышей // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 4. С. 411–420. <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-4-411-420>
 5. Максименко С. Н. Влияние инвазии *Trichinella spiralis* и *Trichinella pseudospiralis* на митоз клеток костного мозга у мышей и проявление антимитотического действия албендазола // Труды Всерос. ин-та гельминтологии им. К. И. Скрябина. 2007. Т. 43. С. 166-175.
 6. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708н от 23.08.2010. «Правила лабораторной практики».
 7. Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г. «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных».
 8. Приказ МЗ СССР № 1045-73 от 6.04.73 г. «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально биологических клиник (вивариев)».
 9. Сивкова Т. Н. Кариопатическое действие продуктов личинок анизакид на соматические и половые клетки лабораторных крыс при пероральном введении // Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». М., 2009. Вып. 10. С. 366-370.
 10. Согрина А. В. Дирофиляриоз служебных собак в Пермском крае (распространение, серологический мониторинг, кариопатическое действие антигенов *Dirofilaria immitis* и противопаразитарных препаратов): автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2017. 26 с.
 11. European Convention for Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.
 12. Ford C. E., Hamerton J. L. A colchicines, hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain Technol.* 1956; 31 (6): 247-251.

Статья поступила в редакцию 06.06.2022; принята к публикации 10.02.2023

Об авторах:

Новик Тамара Самуиловна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, ORCID ID: 0000-0001-9317-2052, novik.tamara@mail.ru

Ковешникова Елена Ивановна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0002-4512-7772, koveshnikova.e.i@yandex.ru

Тхакахова Амина Аслановна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат биологических наук, amina7161@yandex.ru

Чукина Светлана Ивановна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0002-7507-4165, feruza7491@mail.ru

Написанова Людмила Александровна, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0003-0894-827X, napisanova2015@yandex.ru

Андреев Олег Николаевич, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, ORCID ID: 0000-0003-3357-9322, 1980oleg@mail.ru

Успенский Александр Витальевич, ВНИИП – фил. ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28), Москва, Россия, доктор ветеринарных наук, профессор, ORCID ID: 0000-0001-9115-9890, a.v.uspensky@yandex.ru

Вклад соавторов:

Новик Тамара Самуиловна – научное руководство, проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, критический анализ материала, подготовка статьи.

Ковешникова Елена Ивановна – проведение исследований, анализ и интерпретация полученных данных, критический анализ материала, подготовка статьи.

Тхакахова Амина Аслановна – анализ и интерпретация полученных данных, критический анализ материала.

Чукина Светлана Ивановна – проведение исследований, критический анализ материала.

Написанова Людмила Александровна – приготовление экстракта для проведения исследований.

Андреев Олег Николаевич – обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных результатов.

Успенский Александр Витальевич – анализ полученных результатов.

Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

References

- Gordina E. V. Caryopathic and pathomorphological effects of metabolic products of *Fasciola hepatica* and *Bacillus subtilis*: authoref. dis. ... cand. vet. sci. Perm, 2016; 24. (In Russ.)
- Investigation of effects of trichinella of different species and development stages on mitosis in a host. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnyye bolezni = Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2020; 2: 9-14. (In Russ.) <https://doi.org/10.33092/0025-8326mp2020.2.09-14>
- Koveshnikova E. I., Novik T. S., Napisanova L. A., Chukina S. I., Rudneva O. V. Evaluation of karyopathic effects and general safety of *Trichinella spiralis* and *Echinococcus multilocularis* extracts in mice. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14 (4): 90-98. (In Russ.). <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-4-90-98>
- Novik T. S., Koveshnikova E. I., Chukina S. I., Napisanova L. A., Andreyanov O. N., Arkhipov I. A., Kurochkina K. G. Effects of *Trichinella spiralis* and *Echinococcus multilocularis* extracts after single and multiple injections on mitosis and hematological and biochemical parameters of mice. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16 (4): 411-420. (In Russ.). <https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-4-411-420>
- Maksimenko S. N. Effects of *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* infection on mouse bone marrow cell mitosis and manifestation of the albendazole antimetabolic effect. *Proceedings of the All-Russian Institute of Helminthology named after K. I. Skryabin*. 2007; 43: 166-175. (In Russ.)
- Order by the Russian Federation Ministry of Health No. 708n dated 23/08/2010 on Laboratory Practice Rules. (In Russ.)
- Order by the USSR Ministry of Health No. 755 dated 12/08/1977 on Guidelines for Work Using Experimental Animals. (In Russ.)
- Order by the USSR Ministry of Health No. 1045- 73 dated April 6, 1973 on Sanitary Rules for Arrangement, Equipment and Maintenance of Experimental Biological Clinics (Vivariums)".
- Sivkova T. N. Caryopathic effects of *Anisakis* larvae products on somatic and germ cells of laboratory rats after oral administration. *Materials of the Scientific Conference "Theory and practice of parasitic disease control"*. M., 2009; 10: 366-370. (In Russ.)
- Sogrina A. V. Dirofilariosis of service dogs in the Perm region (distribution, serological monitoring, karyopathic effect of *Dirofilaria immitis* antigens and antiparasitic drugs): authoref. dis. ... cand. biol. sci. M., 2017; 26. (In Russ.)
- European Convention for Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.
- Ford C. E., Hamerton J. L. A colchicines, hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosomes. *Stain Technol*. 1956; 31 (6): 247-251.

The article was submitted 06.06.2022; accepted for publication 10.02.2023

About the authors:

Novik Tamara S., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russian Federation, ORCID ID: 0000-0001-9317-2052, novik.tamara@mail.ru

Koveshnikova Elena I., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russian Federation, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0002-4512-7772, koveshnikova.e.i@yandex.ru

Tkhakakhova Amina A., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russian Federation, Cand. Sc. Biol., amina7161@yandex.ru

Chukina Svetlana I., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russian Federation, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0002-7507-4165, feruza7491@mail.ru

Napisanova Lyudmila A., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russian Federation, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0003-0894-827X, napisanova2015@yandex.ru

Andreyanov Oleg N., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russian Federation, Dr. Sc. Vet., ORCID ID: 0000-0003-3357-9322, 1980oleg@mail.ru

Uspensky Aleksander V., VNIIP – FSC VIEV (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218), Moscow, Russian Federation, доктор ветеринарных наук, профессор, ORCID ID: 0000-0001-9115-9890, a.v.uspensky@yandex.ru

Contribution of co-authors:

Novik Tamara S. – academic supervision, research, obtained data analysis and interpretation, critical analysis of the material, article preparation.

Koveshnikova Elena I. – research, obtained data analysis and interpretation, critical analysis of the material, article preparation.

Tkhakakhova Amina A. - analysis and interpretation of the obtained data, critical analysis of the material.

Chukina Svetlana I. – research, critical analysis of the material.

Napisanova Lyudmila A. – extract preparation for research.

Andreyanov Oleg N. – publications review on the theme of the article, analysis of the results.

All authors have read and approved the final manuscript.