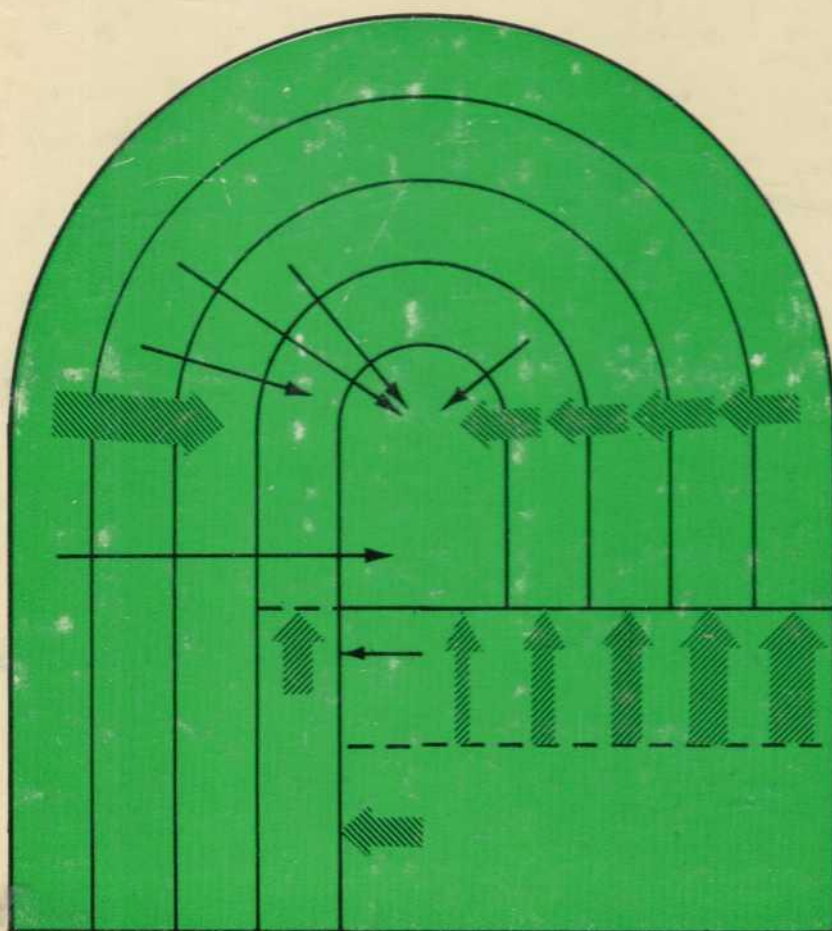


616.96
С 64

Ф.Ф.Сопрунов

Молекулярные ОСНОВЫ паразитизма



АКАДЕМИЯ НАУК СССР
Всесоюзное общество гельминтологов

Ф.Ф.Сопрунов

Молекулярные ОСНОВЫ паразитизма

Ответственные редакторы

член-корреспондент АН СССР

В. Л. КОНТРИМАВИЧУС,

академик АМН СССР

И. Б. ЗБАРСКИЙ



Москва
«Наука»

1987

616.96

С 64

УДК 576.8

183055

Ф. Ф. Сопрунов. Молекулярные основы паразитизма. — М.: Наука, 1987.

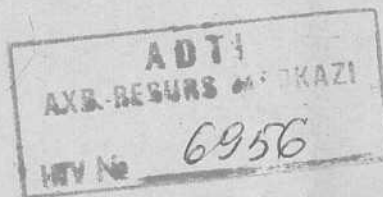
Монография посвящена важному, но слабо освещенному в отечественной литературе вопросу о молекулярных аспектах паразитизма. В ней обобщен обширный материал по молекулярной паразитологии, накопленный к настоящему времени.

Основная цель работы — выявить у простейших и гельминтов закономерности, которые можно рассматривать как молекулярные механизмы адаптации к эндопаразитизму и объяснить с молекулярно-генетической точки зрения возникновение у пропаразитов паразитизма и появление циклов развития. Для широкого круга паразитологов.

Табл. 75, ил. 47, библиогр. 804 назв.

Рецензенты:

А. С. Бессонов, И. И. Бенедиктов, М. Д. Сонин



С 2001040000-275
042(02)-87 245-87-III

© Издательство «Наука», 1987 г.

ОТ АВТОРА

Эта книга подводит итог длительной работы коллектива биохимиков-паразитологов, изучавших биохимию и молекулярную биологию паразитов-эукариотов человека, а также различные аспекты взаимоотношений паразитов (простейших и гельминтов) с их позвоночными хозяевами. Автор провел лучшие годы своей жизни в дружном и увлеченном научном коллективе, в котором не смолкали дискуссии. Из столкновения взглядов и концепций рождалось новое понимание явления паразитизма. Оно и составило основу этой книги, которая формально написана одним автором, а по существу обязана своим появлением целому коллективу молодых и талантливых ученых. В книге приведены данные из двух докторских диссертаций (И. И. Бенедиктова и Л. Н. Гринберга) и многочисленных кандидатских диссертаций, выполненных в отделах биохимии и молекулярной биологии паразитов Института медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е. И. Марциновского Минздрава СССР.

Необходимо также подчеркнуть, что развитию молекулярной паразитологии как нового направления способствовали обсуждения и дискуссии с биохимиками Гельминтологической лаборатории АН СССР, Всесоюзного института гельминтологии им. К. И. Скрябина, с паразитологами института им. Гамалеи, с участниками конференций и съездов Всесоюзных обществ протозоологов, гельминтологов, эпидемиологов, микробиологов и паразитологов.

В заключение разрешите выразить благодарность за замечания и советы, высказанные Т. В. Бейер, Л. М. Гордеевой, С. А. Безром, О. Е. Петровым, Б. А. Астафьевым при чтении первого варианта рукописи, глубокую признательность ответственным научным редакторам чл.-корр. АН СССР и акад. АН ЛитССР В. Л. Контри-мавичусу и акад. АМН СССР И. Б. Збарскому.

Завершить работу над рукописью помогла автору жена Н. Я. Сопрунова.

ВВЕДЕНИЕ

ЧТО ТАКОЕ ПАРАЗИТИЗМ

Паразитология — одна из наиболее сложных и увлекательных наук. К сожалению, в самих понятиях «паразит» и «паразитизм» много неопределенного.

В наиболее широком смысле к паразитам относятся не только простейшие (жгутиковые, саркодовые, споровики, инфузории), гельминты (сосальщики, лентецы, нематоды, скребни, волосатики) и членистоногие (клещи, насекомые, ракообразные), но и патогенные прокариоты, грибы и вирусы. Такой точки зрения придерживаются, например, В. М. Жданов и Д. К. Львов в СССР, Г. Кэмерон и Д. Моулдер в США. Жданов и Львов, однако, не отождествляют понятие «паразиты» с понятием «возбудители болезней», эволюции которых посвящена их книга [15]. Они пишут: «Возбудителями инфекционных болезней и инвазий являются лишь те паразиты, которые патогенны и постоянно или в течение определенного периода своей жизни обитают в организме хозяина». Отсюда следует, что патогенное воздействие на хозяина — один из трех основных критериев паразитизма¹ — не рассматривается авторами как обязательный признак, и к паразитизму ими отнесены также различные формы симбиотических отношений². Напомним, что М. Коллери писал: «Комменсализм, паразитизм и симбиоз — представления (категории) нашего разума, они неразделимы в природе...» [51].

Широкая трактовка понятия «паразитизм» привлекательна тем, что позволяет объединить различные формы взаимозависимости разноименных организмов и провести интересные и важные аналогии, например, между трансмиссивными паразитогами, вызываемыми эукариотами, с одной стороны, и трансмиссивными болезнями, вызываемыми прокариотами (чума, тифы) и арбовирусами — с другой. В ряде случаев широкое понимание паразитизма оправдано, например, когда роль возбудителей рассматривается в зависимости от экологии и образа жизни хозяина. Однако чрезмерное расширение понятий и объединение под термином «паразит» представителей высших грибов, вирусов, бактерий, простейших и многоклеточных (от червей до насекомых) независимо от древности их происхождения, иерархического положения, путей возникновения отношений с хозяином нежелательно потому, что паразитологические термины теряют конкретность. Затрудняется проведение аналогий

¹ По Р. С. Шульцу: Паразитизм есть антагонистический симбиоз двух разноименных организмов [45]. Подобное определение дал ранее де Бари.

² К паразитам авторы относят некоторые группы водорослей-симбионтов.

и обобщений. Возьмем, например, интересные описания постепенного перехода от свободного образа жизни к паразитизму, которые приводят А. П. Маркевич [24], В. Михайлов [59], В. Н. Беклемишев [5], В. А. Догель [12] и др. Можно ли распространить закономерности паразитизма, выявленные у веслоногих ракообразных или насекомых, на возникновение эндопаразитизма у других групп животных? Для паразитов, близких между собой в систематическом отношении, по происхождению, условиям существования и трофическим связям, проведение такой аналогии оправдано. Но чем отдаленнее рассматриваемые паразиты между собой, тем рискованнее такое обобщение. А в крайнем случае, когда в понятии «паразит» объединены такие далекие организмы, как, например, пухоед и возбудитель чумы, поиск общих закономерностей паразитизма становится малооправданным.

Определения паразитизма, которых предложено немало, не проясняют и не упрощают проблему. Со времен Лейкарта [56] в каждом из предложенных определений подчеркивается, что паразит обитает в (на) теле хозяина и питается за его счет. Это общепринятое положение дополняется теми особенностями паразитизма, на которые обращает свое внимание автор каждого нового определения: патогенность паразита — Н. А. Холодковский; защитная реакция хозяина — Р. С. Шульц [44, 45]; значение организма хозяина как среды обитания первого порядка — Е. Н. Павловский [25]; экологическая обусловленность паразитизма — Л. А. Филипченко, В. Н. Беклемишев [5]; равновесное состояние системы паразит-хозяин — Ж. Бэр [48, 49]; интеграция обменов — Ш. Д. Мошковский, Р. Линсиком [58]; кибернетическая взаимосвязь — В. Эйхлер [54]; параллельная эволюция хозяев и паразитов — К. Оденинг [63] и др. Предложено более двадцати порой несовместимых друг с другом критериев паразитизма, что подчеркивает сложность и многогранность этого общебиологического явления. Т. Кэмерон [50] вообще придерживается мнения, что при настоящем состоянии развития биологических наук нет возможности дать правильное и исчерпывающее определение паразитизма.

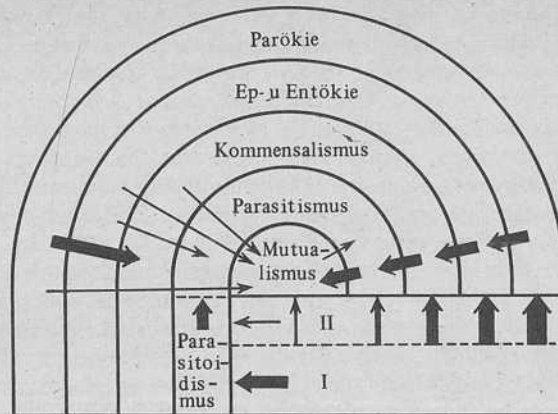
В. А. Догель [12, 13] определял паразитизм как особый вид сожительства, при котором паразиты используют хозяев в качестве среды обитания и источника пищи, возложив при этом (частично или полностью) на своих хозяев задачу регуляции своих отношений с окружающей средой. Как и другие, это определение явно относится к паразитам-животным, и В. А. Догель не распространял его на вирусы и бактерии.

При более узком и практически принятом у паразитологов значении термина «паразитизм» к паразитам относят эукариотов (простейших, гельминтов, членистоногих) и подразделяют их на две большие категории: эндо- и эктопаразитов. Значительное число исследований посвящено путям возникновения экто- и эндопаразитизма и морфофизиологическим изменениям, которые претерпели свободноживущие животные при переходе к паразитическому образу жизни. Не вдаваясь в подробности, можно сказать, что адаптация многоклеточных к эктопаразитизму не приводит к регрессивным изменениям, тогда как при переходе к эндопаразитизму имеют место выраженные изменения в виде упрощения и исчезновения одних органов (чувств, пищеварительной, двигательной и нервной систем)

и прогрессивного развития других (половых желез, аппарата фиксации). Эти изменения носят адаптивный характер и способствуют выживанию вида. Они изучены у моллюсков и ракообразных (А. В. Иванов [16, 17, 18]), у веслоногих рачков (А. П. Маркевич [24]), у плоских червей, потомков свободноживущих прямокишечных турбеллярий (Т. А. Гинецинская [9]). Б. Е. Быховский [7, 8] и А. В. Иванов [17, 19] показали, что превращение древних моногенетических сосальщиков в эндопаразитов (цестод) привело к глубокому морфологическому регрессу, что не имело места при их превращении в эктопаразитов (сосальщиков). Т. А. Гинецинская предложила трехэтапную схему становления жизненного цикла трематод от кембрия до мезозоя [9]. Ю. И. Полянский [32, 33] высказал интересные соображения о факторах, определяющих глубину адаптивной изменчивости при переходе к эндопаразитизму: уровень организации свободноживущего предка, геологическая древность паразитизма, особенности строения паразита и характер взаимоотношений с хозяином. Н. Н. Банина [3] пишет: «Таким образом, среди эктопаразитов процессы редукции выражены значительно слабее, чем среди эндопаразитов, и в основном затрагивают внешнюю морфологию животного, в то время как уровень организации его в целом обычно остается незатронутым. Случаи более глубокого регресса наблюдаются у форм, постепенно переходящих к эндопаразитизму».

Морфологическую деградацию у эндопаразитов и развитие сложных морфологических адаптаций при переходе многоклеточных к эктопаразитизму объясняют тем, что в первом случае организм хозяина обеспечивает эндопаразита всем необходимым и защищает его от воздействия факторов внешней среды, во втором случае эктопаразит сталкивается с усложнением среды обитания — В. Б. Дубинин [14], В. А. Догель [12], А. П. Маркевич [23]. Интересно, что эта общебиологическая закономерность не подтверждается при изучении морфологических изменений простейших в процессе их адаптации к паразитизму. В ряде работ Ю. И. Полянский [28, 29, 30, 31] показал, что адаптация одноклеточных как к экто-, так и эндопаразитизму сопровождается, как правило, усложнением структуры и повышением уровня организации, причем в основе прогрессивной морфофункциональной эволюции простейших лежит принцип полимеризации, выдвинутый В. А. Догелем в 1929 г. Адаптивное усложнение структуры при переходе к паразитизму показано у жгутиконосцев Н. Н. Баниной [3], у споровиков и инфузорий — А. А. Стрелковым [41]. Роль кинетопласта в эволюции паразитических простейших исследовала В. Д. Каллиникова [20], роль дифференцировки ядерного аппарата и полиплоидности клеточного ядра — И. Б. Райков [40, 41, 42]. Узкую специализацию, приводящую к дивергенции, описал при электронно-микроскопическом изучении внутриклеточных паразитов — споровиков и жгутиконосцев — А. А. Авакян [1, 2]. Каждое из приведенных выше определений и описаний отличительных признаков паразитизма по своему справедливо и обосновано. Справедливо в пределах, в которых каждый автор рассматривает явление паразитизма, и обосновано на том уровне, которого достигла биология к моменту публикации работы.

С накоплением новых данных значительно расширилось наше представление о паразитизме. Если даже ограничиться только животными па-



Р и с. 1. Паразитизм и другие формы сообществ, по: К. Оденинг [63]
I — свободноживущие; II — переходные формы

разитами, исключив патогенные вирусы, микробы и грибы, можно сказать, что паразиты, если не превосходили, то догнали свободноживущих животных по общей численности, количеству видов, морфофункциональному различию. Мы многое узнали о разнообразии форм паразитизма. Предложенные ранее определения многим кажутся сегодня недостаточно полными и нуждающимися в уточнениях.

В интересной книге К. Оденинга [63] проанализированы и уточнены основные понятия и определения паразитизма. Рассматривая паразитизм в самом широком смысле, включая в число паразитов вирусы, бактерии, грибы и животных-кровососов, автор предлагает схему (рис. 1), которая должна охватить и упорядочить бесконечное разнообразие явлений, связанных с паразитизмом. От паройки (сожительства без телесного контакта) или синойки (обитания в одном микробиотопе) к эпойки (сожительству с прикреплением на поверхности тела хозяина), энтойки (с заселением открытых полостей тела хозяина), комменсализму, паразитизму и мутуализму имеются, по мнению автора, переходные формы, что исключает проведение четких разграничений. Стрелки показывают пути перехода от свободного существования к паразитизму. Выделены паразитоиды как самостоятельная категория, близкая к хищничеству.

Схема удовлетворяет потребность систематизировать и логически трактовать сложные биологические явления. В этом ее значимость. Слабость ее в том, что она построена на аналогиях в образе жизни самых различных, филогенетически не связанных между собой организмов. К некоторым из них, например к патогенным прокариотам и вирусам, которые отнесены автором к паразитам, неприменимы понятия паройки, эпойки и др. Заметим также, что предложенная схема и приведенные в книге К. Оденинга классические определения паразитизма включают не только условия проживания паразита в организме хозяина и питание за его счет, но и такие дополнительные понятия, как «среда первого

и второго порядка», «антагонистический симбиоз», «равновесие системы паразит — хозяин», «взаимозависимость обменов» и др. Приводя их, автор не объясняет, как отнести эти понятия к вирусам и микробам, которые ведут себя в организме хозяина скорее как паразитонды, чем как паразиты. Соглашаясь в целом с анализом К. Оденинга, мы думаем, что не следует относить к истинным паразитам ни микробы, ни вирусы. Другую интересную схему, подчеркивающую различия между паразитизмом и комменсализмом, приводят Р. С. Шульц и Е. В. Гвоздев в «Основах общей гельминтологии» [46].

Что касается точного и всеобъемлющего определения паразитизма, то мы склонны присоединиться к мнению Т. Кэмерона: современная наука помогает более глубокому пониманию паразитизма, но еще не может дать его полное определение. Паразитизм не случайное, а закономерное явление. В нем проявляется одно из фундаментальных свойств живой материи. Важны не формы, в которых проявился паразитизм, а сущность этого общебиологического явления.

КАК ВОЗНИК ПАРАЗИТИЗМ

Обзор работ по адаптации, специфичности и видообразованию в процессе становления паразитизма можно найти у Л. В. Чесновой [43], по общей гельминтологии — у Р. С. Шульца и Е. В. Гвоздева [46].

Как оценить большой фактический материал о морфофункциональных изменениях при переходе к паразитизму для понимания самого явления паразитизма и причин его возникновения? В. Михайлов [59] справедливо отмечал, что «отнесение к мнимому эволюционному ряду животных, принадлежащих к разным группам на основании аналогичных черт образа жизни, а тем более извлечение отсюда общих выводов о происхождении паразитизма, логически не обосновано и методически ошибочно». А. Г. Кнорре [21], обращая внимание на выраженную полифилетичность паразитизма, писал: «Паразитизм — категория неоднородная, полифилетическая. Формы его проявления, пути его возникновения в разных группах животного царства совершенно независимы. При этом я думаю, что рассмотрение по отдельным типам паразитизма (эндопаразитизм, экто-, кровепаразитизм и тому подобные категории) опять-таки не в состоянии решить вопроса, так как сами эти типы, даже такие дробные, как, скажем, кровепаразиты, полифилетичны по своему происхождению. Единственно правильным путем будет рассмотрение по способам возникновения паразитизма». Та же мысль высказана В. Михайловым [59], который пишет, что для паразитизма характерна «разнородность способов его возникновения..., что паразитизм является полифилетическим явлением..., что он является также явлением с разнородной биологической родословной, с неоднородным происхождением и неоднородным генезисом, а следовательно, полигенетическим» (цитаты приведены по [43]).

Желание построить общую схему, объясняющую возникновение паразитизма вообще, заставляет порой забывать о полигенетичности паразитизма. Пример веслоногих рачков, которые через комменсализм, факультативный паразитизм перешли к эктопаразитизму и в отдельных

случаях к эндопаразитизму; клещей, пришедших к эктопаразитизму через хищничество и синойкию; пухоедов, перешедших к паразитизму через синойкию; двукрылых кровососов — через хищничество, и другие примеры постепенного перехода от свободного существования к паразитизму невольно подсказывают общую схему: синойкия — эпойкия — комменсализм (или хищничество) — паразитизм — мутуализм. Схема хорошо описывает последовательность возникновения эктопаразитизма, особенно у членистоногих, и можно думать, что именно таким путем и независимо друг от друга возник паразитизм у отдельных видов почти во всех типах животного царства (за исключением губок и иглокожих, среди которых нет паразитов — В. А. Догель [13]).

Однако нам кажется, что схема не объясняет причин возникновения паразитизма:

1. Утверждение о необходимости встречи и контакта разноименных животных для возникновения паразитизма не более чем truизм. Для понимания паразитизма важно выяснить не как, а почему он возник. Почему в сходных условиях одни виды, семейства, классы и даже типы (как правило, наиболее древние и примитивные) перешли к паразитизму, другие — нет (см. табл. 1 и 2).

2. В схеме основное внимание уделяется незаметному переходу от хищничества и комменсализма к паразитизму, от паразитизма — к мутуализму. Паразитизм как бы растворяется в сложной системе симбиотических взаимоотношений. Но ведь важно выделить паразитизм в его наиболее выраженной форме, чтобы иметь возможность изучить его. Эндопаразиты — простейшие и гельминты — обычно рассматриваются как «истинные» паразиты. У них подчеркивается «выраженность» паразитизма, «глубокая адаптация», «длительность пройденной эволюции с четкой специализацией и взаимозависимостью». У них выражены обычные критерии паразитизма: глубокие морфофункциональные изменения, интеграция обменов, сглаживание антагонистических отношений. Очевидно, что изучение «выраженных» паразитов может больше дать для понимания основ паразитизма, чем изучение маргинальных форм, стоящих ближе к комменсализму и хищничеству, чем к паразитизму.

3. С эволюционной точки зрения, эктопаразитизм у членистоногих возник относительно недавно, после появления основных групп современных позвоночных. Наиболее древними эктопаразитами-членистоногими являются, возможно, комары. В. Н. Беклемишев [5] писал: «Среди насекомых первое место по числу связей с различными возбудителями занимают комары как очень древняя группа, которая возникла в триасе после появления крупных наземных позвоночных». Но само явление паразитизма возникло задолго до триаса. «Паразитизм — чуть моложе жизни на земле», писал Е. Н. Павловский [25, 26]; «паразитизм имеет древнее происхождение, он возник на самых начальных этапах развития жизни на земле» — А. П. Маркевич [23]; паразитизм возник вскоре после того, как стала дифференцироваться жизнь — М. Коллери [51]. Того же мнения придерживаются Чендлер [52], Станкард [67], Кэмерон [50] и многие другие. Называется предположительное время возникновения отдельных групп эндопаразитов; «моногогенетические сосальщики — в силуре» — Б. Е. Быховский [7]; «предки современных гельминтов — в па-

леозое и, наверняка, в мезозое» — Р. С. Шульц, Н. В. Гвоздев [46], «древние прямокишечные турбеллярии дали начало плоским червям, немателминтам и немертинам, а те — современным типам и классам сколецид — в протерозойской эре» — Д. М. Федотов [42]; «начало развития солитеров и сосальщиков относится к силурийскому или девонскому периодам» — В. Михайлов [59]. Таким образом, имеются все основания считать, что за сотни миллионов лет до появления первых эктопаразитов-членистоногих возник паразитизм у сколецид. Если же говорить о паразитизме простейших, то он возник еще раньше. «Первыми паразитами были, наверное, какие-нибудь простейшие» — В. Михайлов [59].

К. И. Скрябин [40] писал: «Не может подлежать никакому сомнению, что первые паразиты, появившиеся на нашей планете, произошли от свободно живущих форм». Это утверждение бесспорно, как бесспорна совместная эволюция хозяев и паразитов [3, 5, 15, 30, 40]. Однако, говоря о возникновении эндопаразитизма в прошлом, обычно не учитывают условия тех времен, в частности возможную численность животных, между которыми возникли паразито-хозяйинные отношения. Если взять, например, кривую роста численности людского населения земли и учесть имевшие место смены образа жизни, приходится признать малую вероятность приобретения собственных «человеческих» эндопаразитов за счет свободноживущих организмов. Человек, видимо, унаследовал паразитофауну от своих предков, а также от домашних животных, когда совсем недавно освоил скотоводство и тем самым создал способствующие передаче условия [15]. Что верно в отношении человека, вероятно, верно и в отношении других животных, в том числе крупных таксонов, которые на протяжении геологической летописи, сменяя друг друга, численно преобладали на земле. Не обязательно земноводные, рептилии, млекопитающие обзаводились каждый раз новой паразитофауной за счет свободноживущих организмов: древняя, первичная паразитофауна могла с пополнениями, потерями и изменениями переходить «по наследству» и адаптироваться к новым хозяевам. Переход от свободной жизни к эндопаразитизму требует более глубоких изменений, чем адаптация к новому хозяину.

При такой гипотезе возникновение эндопаразитизма отодвигается далеко в глубь времен, а пути эволюции свободноживущих животных и их паразитофауны рассматриваются как протекающие параллельно и взаимозависимо с начала палеозоя.

ПОЧЕМУ ЭНДОПАРАЗИТЫ?

Монография посвящена молекулярным и биохимическим особенностям эндопаразитических простейших и гельминтов. Их мы считаем наиболее древними паразитами и, во всяком случае, наиболее далеко зашедшими по пути паразитизма. Эндопаразиты — наиболее типичные и наиболее «чистые» паразиты и занимают центральное место по праву (рис. 2).

Рассматривая особенности морфологии, путей обмена и генома у эндопаразитов, необходимо сопоставлять эти особенности как с глубиной адаптации к паразитизму, так и с филогенетическим положением эндопаразита.

На рис. 3 схематически представлен филогенез беспозвоночных по В. А. Догелю с дополнением по Р. С. Шульцу и Е. В. Гвоздеву. Система простейших приведена на табл. 1.

Возможно, что приведенная в табл. 1 классификация устарела. Согласно международной классификации [57], простейшие делятся на семь типов: Sarcomastigophora (с подтипами Mastigophora, Opalinata, Sarcodina), Labyrinthomorpha, Apicomplexa, Microspora, Ascetospora, Myxozoa, Ciliophora.

Мы придерживаемся системы простейших по Догелю, Полянскому и Хейсину, потому что она позволяет логично изложить молекулярные аспекты паразитизма и избежать дискуссий, которые не утихают вокруг более современных систем.

Р и с. 2. «Центральное» место
эндопаразитов

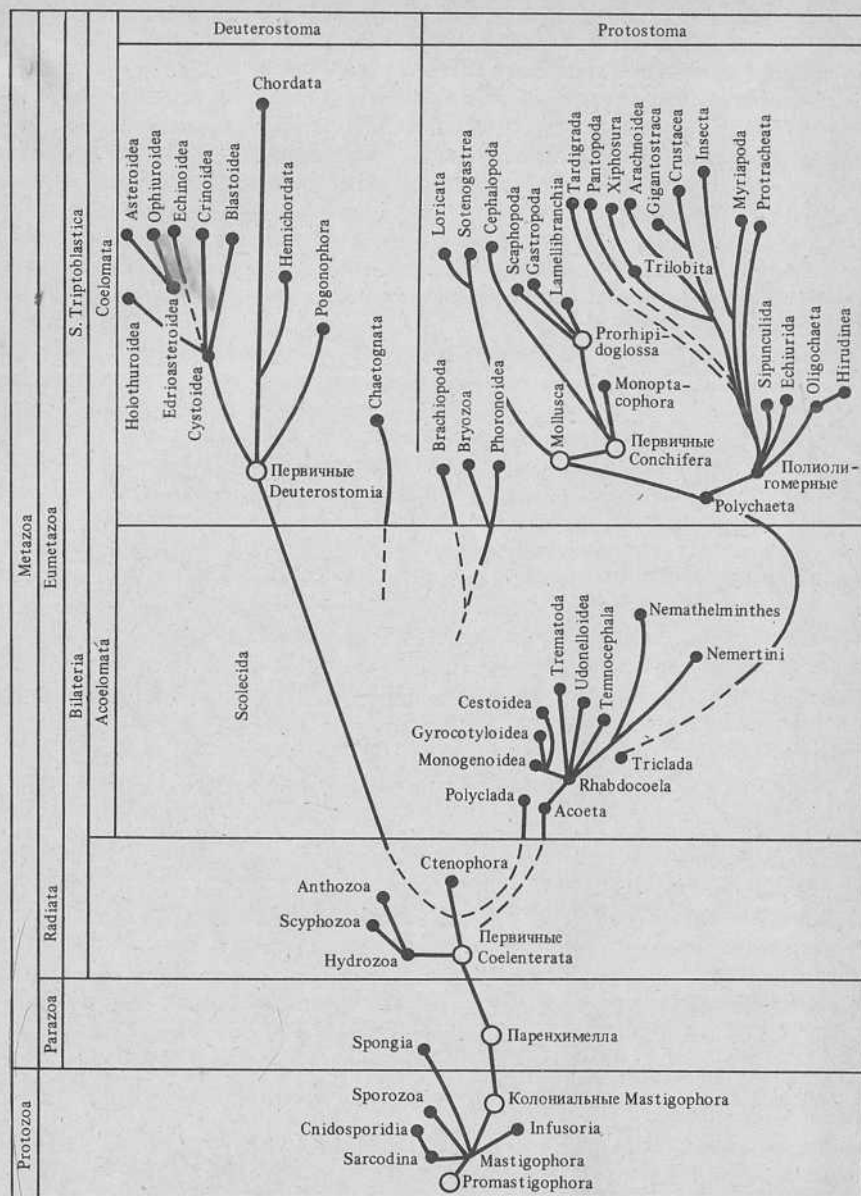


Простейшие заселили практически все экологические ниши на земле: моря, пресноводные водоемы, сушу; они важный сочлен почвенного биоценоза. Многие простейшие являются экто- и эндопаразитами беспозвоночных и позвоночных животных. Некоторые вызывают тяжелые и широко распространенные болезни человека и животных.

Т а б л и ц а 1

Система простейших по: В. А. Догель, Ю. И. Полянский и Е. М. Хейсин [13]

Тип Protozoa	
Подтип Plasmodroma	Класс Sporozoa
Класс Sarcodina	Подклассы:
Подклассы:	Gregarina
Rhizopoda	Coccidiomorpha
Heliozoa	Класс Cnidosporidia
Radiolaria	Подтип Ciliophora
Класс Mastigophora	Класс Ciliata
Подклассы:	Подклассы:
Phytomastigina	Holotricha
Zoomastigina	Spirotricha
Opalinina	Peritricha
	Chonotricha
	Suctoria



Р и с. 3. Филогенез беспозвоночных по: В. А. Догель (с дополнением)

Таблица 2
Ориентировочное распространение простейших в разных средах

Класс	Всего видов	В море	В пресных водах	Из них паразитов	Паразиты, %
Mastigophora	3500	1300	1300	900	25,7
Sarcodina	8000	7300	600	100	1,25
Ciliata	6000	1500	3500	1000	16,6
Sporozoa	1100	—	—	1100	100
Cnidosporidia	900	—	—	900	100

Примечание. Число описанных видов непрерывно растет. Например, по данным Левина (1982 г.), к классу Sporozoa относится более 4 тыс. видов.

Из данных, приведенных в табл. 2, взятой из «Общей протозоологии» В. А. Догеля и др. [13], видно, как неравномерно распространено явление паразитизма в разных классах простейших. Эта неравномерность еще более усиливается, если рассматривать более мелкие таксоны. Среди жгутиконосцев в классе Zoomastigina отряды Polymastigida, Hypermastigida и подкласс Opalinina состоят целиком из видов, перешедших к паразитическому существованию, отряд Protomonadida лишь частично состоит из паразитов. В подклассе Phytomastigina паразиты имеются в отрядах Euglenida и Protomonadida. Среди саркодовых много паразитов в отряде Amoebida, меньше — в отряде Piroplasmida и очень немного в подклассе Heliozoa. В подклассе Radiolaria и отрядах Testacea и Foramenifera паразитов нет. Среди инфузорий паразиты широко представлены в подклассе Holotricha (отряды Astomata, Apostomata, Thigmotricha); отряд Entodiniomorpha в подклассе Spirotricha состоит целиком из паразитов. Они широко представлены и в подклассе Suctoria. Как уже отмечено, классы Sporozoa и Cnidosporidia состоят только из видов, ведущих паразитический образ жизни.

Анализ более современных данных подтверждает в общем вывод, сделанный на основании табл. 2. Так, по данным Левина и др., за 1980—1982 гг. подцарство простейших включает 65 тыс. видов, из которых около половины ископаемые и 10 тыс. видов — паразитические. К саркодовым (11,5 тыс. видов) принадлежат 250 паразитических видов (2,16%), к жгутиконосцам (6,9 тыс. видов) — 1,8 тыс. паразитических видов (21,6%), к ресничным (7,2 тыс. видов) — 2,5 тыс. паразитических видов (34,7%). Наконец, все споровики, включая типы Apicomplexa, Microspora, Мухозоа и Ascetospora, являются паразитами — 15,6 тыс. видов (100%).

Мозаичность распространенности паразитизма у простейших сохраняется и при более детальном анализе: среди саркодовых наибольшее число паразитических видов имеет Amoebida (класс Lobosea), тогда как многочисленные отряды других классов практически целиком состоят из свободноживущих видов (классы Acantharea, Pheodarea, Heliozoa). Среди жгутиконосцев в классе Phytomastigophorea преобладают свободноживущие виды, паразитические виды имеются в отряде Euglenida; в классе Zoomastigophorea отряды Kinetoplastida, Diplomonadida имеют и свободноживущие и паразитические виды, но такие отряды, как

Retromonadida, Oxomonadida, Trichomonadida, Hypermastigida и др., состоят только из паразитических видов. Среди ресничных в каждом из четырех классов есть отряды, включающие свободноживущие, паразитические, экто- и эндокомменсальные виды, но есть отряды — Entodiniomorphida, Astomatida, Peritrichida, состоящие только из паразитических видов. Споровики (четыре типа) состоят только из паразитических видов.

Следовательно, независимо от того, придерживаемся ли мы классической или новой международной системы простейших, паразитизм распространен среди них неравномерно: одни таксоны не содержат паразитических видов, другие сплошь состоят из них. Мы ограничимся рассмотрением только эндопаразитических простейших.

Что касается путей циркуляции паразита и способов заражения хозяина, то здесь до последнего времени выделяли два принципиальных типа передачи: через внешнюю среду, т. е. нетрансмиссивным путем, и при помощи переносчика-кровососа, т. е. трансмиссивным путем. В первом случае говорят о гомоксенных жизненных циклах, во втором — о гетероксенных. Первый тип характерен для некоторых паразитических инфузорий, грегариин, некоторых кокцидий. Второй тип, в цикле развития

Таблица 3

Система сколецид

(по: В. Н. Беклемишев [4], Р. С. Шульц и Е. В. Гвоздев [46])

Таксон	Образ жизни
Надтип Scolecida (Huxley, 1986) Beklemishev, 1944	
Тип Plathelminthes (Platodes) — плоские черви, платоды	
Класс Turbellaria — турбеллярии	Свободноживущие, хищники, некоторые паразитируют на беспозвоночных, отдельные — на рыбах
Класс Temnocephala — темноцефалы	Обитают на ракообразных, моллюсках, черепахах. Комменсалы и эктопаразиты
Класс Udonellida — удонеллиды	Обитают на морских паразитических веслоногих ракообразных. Комменсалы
Класс Mesozoa — мезозои	Сильно регрессировавшие черви. Эндопаразиты морских беспозвоночных
Класс Trematoda — трематоды	Эндопаразиты позвоночных (редко беспозвоночных). Чередование поколений, смена хозяев, первый промежуточный хозяин — моллюск, второй — разные пойкилотермные позвоночные и беспозвоночные животные. Более 3000 видов.
Класс Monogenea — моногенеи	Эктопаразиты водных холоднокровных животных (рыбы, амфибии, рептилии). Редко эндопаразиты мочевого пузыря, кишечника. Более 1500 видов
Класс Gyrocotylida — гирокотилиды	Эндопаразиты кишечника химеровых и акуловых рыб. Развитие прямое. Десятки видов
Класс Cestoda — цестоды	Эндопаразиты кишечника всех классов позвоночных. Развитие с двумя промежуточными хозяевами. Более 3000 видов

Таблица 3 (окончание)

Таксон	Образ жизни
Тип Acanthocephales — акантоцсфалы, скребни	
Класс Acanthocephala — акантоцефалы, скребни	Эндопаразиты кишечника всех классов позвоночных, в полости тела промежуточных хозяев (ракообразных, насекомых, моллюсков), резервуарный хозяин
Тип Nemathelminthes — немательминты	
Класс Gastrotricha — гастротрихи	Свободноживущие
Класс Rotatoria — коловратки	В основном свободноживущие. Комменсалы. 20 видов экто- и эндопаразитов морских беспозвоночных
Класс Nematoda — нематоды	В основном свободноживущие, есть хищники. В онтогенезе паразитических нематод 4 линьки. Моно-, ди-, триксенные. Миграция у позвоночных хозяев. Процветающая группа. Более 500 000 видов
Класс Kynorhyncha — киноринхи	Свободноживущие
Класс Priapulida — припулиды	»
Класс Nematomorpha — волосатики	Свободноживущие. Личинка проходит метаморфоз в одном или 2 хозяевах (насекомые, морские ракообразные)
Тип Nemertini — немертины	
Класс Nemertina — немертины	Свободноживущие. Хищники. Имеются комменсалы и эктопаразиты крабов

которого участвуют беспозвоночный переносчик и позвоночный хозяин, встречается у Haemosporidia, Haemogregarinidae, которые по приведенной выше классификации относились к кокцидиям, у Piroplasma и Theileriina, место которых осталось неопределенным, и у жгутиконосцев из семейства Trypanosomidae. Особый интерес представляют трипаномы и плазмодии — кровепаразиты человека и животных, передаваемые через укус двукрылых насекомых-гематофагов, и эймериидные кокцидии.

Система сколецид представлена на табл. 3.

На схеме филогенеза беспозвоночных (см. рис. 3) четко обозначено место, занимаемое сколецидами на «четвертом ярусе родословного древа животного мира» (В. А. Догель) между кишечнополостными и высшими Metazoa. Отсутствие палеонтологических данных не позволяет привязать этапы эволюции беспозвоночных к геологической хронологии Земли, однако, учитывая медленные темпы эволюции и дифференциации начальных, наиболее примитивных групп животных, следует, вероятно, отнести к рифею (верхнему протерозою) появление эукариотической клетки и к началу палеозоя становление основных типов протозоа и появление низших червей.

Из данных, приведенных в табл. 4, можно сделать несколько общих выводов:

1. Явление паразитизма распространено неравномерно у сколецид.

Т а б л и ц а 4
Преобладающий образ жизни у паразитов

Паразит	Свободно- живущие	Хищники	Коммен- салы	Эктопара- зиты	Эндопара- зиты
Платоды					
турбеллярии	+++	++		++	+
темноцефалы			++	++	
удонеллиды			+++		
мезозои					+++
трематоды					++++
моногенеи				+++	+
гирокотилиды					++
цестоды					++++
Скребни					
скребни					++++
Нематгельминты					
гастротрихи	++++				
коловратки	+++		++	+	+
нематоды	+++	++	+		+++
киноринхи	++++				
приапиды	++++				
волосатиковые	+++				
Немертины					
немертины	+++	+	+	+	

У наиболее примитивных сколецид (плоские черви) четыре класса (мезозои, гирокотилиды, трематоды и цестоды) состоят во взрослом состоянии только из эндопаразитов, один класс — из эктопаразитов (моногенеи). Скребни все ведут эндопаразитический образ жизни. Среди нематгельминтов преобладают свободноживущие виды, но среди многочисленных видов нематод многие перешли к эндопаразитизму. Среди немертин эндопаразитов нет.

Среди плоских червей наиболее процветающими классами с наибольшим числом видов являются трематоды и цестоды, которые во взрослом состоянии являются эндопаразитами позвоночных и имеют сложный цикл развития (табл. 5). Мезозои являются эндопаразитами беспозвоночных, имеют прямой путь развития. Они прошли путь глубокой морфофункциональной регрессии и представлены лишь небольшим числом видов. Гирокотилиды — эндопаразиты древних рыб (акуловых и химер), имеют прямой путь развития и представлены также небольшим числом видов. В отличие от цестод и трематод, которые широко распространены и паразитируют на представителях большинства классов позвоночных, мезозои и гирокотилиды могут считаться древними паразитами, приостановившимися в своем развитии.

2. Особого внимания среди нематгельминтов заслуживают нематоды, которые являются наиболее процветающим классом, с высокой скоростью эволюции в современную геологическую эпоху. Нематоды «очень полно овладели природой» (А. А. Парамонов [27] и далее: «...они поселяются в качестве факультативных и облигатных паразитов и сапробионтов в органах человеческого тела, в органах большинства беспозвоночных, в том числе в качестве сверхпаразитов — в органах паразитических червей.

Т а б л и ц а 5
Численность видов у паразитических платод и скребней

Паразит	Общее число видов	Эктопаразиты	Эндопаразиты	Развитие	Основные хозяева
Турбуллярии	1600	80		Прямое	Беспозвоночные
Темноцефалы	50	20		»	»
Трематоды	Более 3000		Более 3000	Сложный цикл	Позвоночные
Мезозоа	60		60	Прямое	Беспозвоночные
Моногенеи	1500	1500		»	Позвоночные
Гирокотилиды	20		20	»	»
Цестоды	Более 3000		Более 3000	Сложный цикл	»
Скребни	300		300	То же	»

Органами растений они овладели очень полно — всеми органами и тканями» [27]. Считается, что число видов нематод (свободноживущих и паразитических) превышает 500 000 [46]. У нематод можно встретить все переходные формы от свободного существования до эндопаразитизма в позвоночных и все виды трофических связей с растениями и животными. У них имеются разнообразные жизненные циклы, что связано с многообразием хозяев (позвоночных, беспозвоночных, растений), многообразием локализаций в теле хозяев (все органы и ткани), разнообразием экологических условий (нематоды заселили сушу, океан, внутренние водоемы). Для онтогенеза нематод характерно развитие с четырьмя линьками и выраженными морфофункциональными перестройками, а у паразитических нематод — с явлением миграции в организме хозяина.

Как отмечалось, простейшие и сколециды уже существовали в начале палеозойской эры и прошли длительную эволюцию с беспозвоночными, затем с рыбами, с земноводными (в девоне), с пресмыкающимися (карбон), с млекопитающими и птицами (юра). Почему некоторые группы простейших, как Sarcosporidia, состоят только из эндопаразитов, отдельные классы, как Sporozoa и Cnidosporidia, — только из паразитов, тогда как в других подклассах (Radiolaria) и отрядах (Testacea, Foraminifera) паразитов нет? Как объяснить, что отдельные классы сколецид не пошли дальше комменсализма и эктопаразитизма, сохранив прямой путь развития (турбуллярии, темноцефалы, моногенеи, большинство классов немателминтов и немертины), другие целиком перешли к эндопаразитизму, причем некоторые, сохранив прямой путь развития, приостановились в своей эволюции и остались паразитами беспозвоночных (темноцефалы) или древних рыб (гирокотилиды), другие (трематоды, цестоды, скребни) развивались ускоренными темпами, дифференцировались на тысячи видов, заселили почти всех позвоночных, перешли к сложным циклам развития. Можно ли это объяснить большей вероятностью встреч с будущим хозяином отдельных таксонов и их ускоренным прохождением от синойкии к эпойкии, комменсализму, экто- и эндопаразитизму? Если придерживаться такой точки зрения, то как объяснить, что среди трематод и цестод не

сохранилось видов комменсалов или эктопаразитов¹? Может быть, правильнее предположить, что по каким-то биохимическим, т. е. в конечном счете генетическим предрасполагающим особенностям, некоторые группы простейших, а также трематоды, цестоды и скребни были более «готовы» перейти к паразитизму и освоить сложные циклы развития. Эта предрасположенность и обеспечила их процветание как эндопаразитов.

Нематоды, по общему признанию, являются наиболее процветающим классом сколецид, об их эволюции можно говорить как о «взрывной». Свободноживущие и хищные нематоды захватили все экологические ниши, установили более или менее тесные трофические связи с животными и растениями, заселили их органы и ткани. Надо ли считать, что у нематод тоже эволюция шла по схеме: сапрофитизм—синойкия—эпойкия—комменсализм—паразитизм или следует предположить, что при высоких темпах эволюции нематоды одновременно и параллельно заселили за короткий срок с геологической точки зрения все пригодные экологические ниши (включая организмы растений и животных)?

НАСТУПЛЕНИЕ ПАРАЗИТОВ

Эндопаразиты — многоопытные борцы за жизненное пространство. От истоков биологической эволюции до наших дней они упорно расширяют свои владения.

Успешное внедрение гельминтов в организмы человека и домашних животных показано в табл. 6 (по данным Нёвё-Лёмер [61]).

Большая численность гельминтов у человека и домашних животных, чем у близких видов обезьян и соответствующих видов диких животных, в определенной степени подтверждает предположение, что хозяйственная деятельность человека, способствуя тесному контакту человека с домашними животными, привела к появлению новых подвидов и видов гельминтов и обмену гельминтофауной.

Количественные данные, собранные в глобальном масштабе, особенно четко показывают, насколько успешно и полно паразитические простейшие и гельминты заселили млекопитающих, в первую очередь человека. Цифры, приведенные в табл. 7, рассчитаны нами исходя из данных Н. Столля [66], Ле Риш [65], В. Петерса [64] и статистических материалов Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) за 1976 г., когда население земли составляло примерно 4 мрд., из которых 3 проживало в тропических и субтропических странах. В настоящее время население Земли возросло (в основном за счет роста населения развивающихся тропических стран) и соответственно возросла пораженность паразитами.

Необычайно высокий риск заражения человека паразитами в тропических странах иллюстрируют данные табл. 8.

Особый интерес представляют цифры, характеризующие развитие паразитемии у детей в голоэндемичном очаге малярии в Нигерии, где численность переносчика настолько высока, что заражение малярией каждо-

¹ Исключение составляют личинки трематод семейств Syncocliidae, Hirudinellidae, которые являются эктопаразитами ракообразных и рыб [22].

Таблица 6
Численность видов гельминтов,
паразитирующих у человека и домашних животных

Хозяин	Трематоды	Цестоды	Нематоды	Скребни	Всего
Человек	40	33	67	2	142
Собака	70	40	44	5	159
Кошка	60	23	32	8	123
Лошадь	9	9	69	—	87
Бык	36	15	68	—	119
Овца	21	20	66	—	107
Коза	15	15	38	—	68
Свинья	15	7	37	1	60
Кролик	15	8	14	—	37
Курица	31	35	52	2	120
Утка	37	24	25	3	89
Гусь	13	8	14	2	37
Голубь	7	17	9	—	31
Индюк	4	12	13	—	29
Дикий кролик	1	8	5	—	14
Дикая утка	14	21	3	—	38
Дикие					
гусь	1	6	—	—	7
голубь	—	7	—	—	7
индюк	—	2	—	—	2

Таблица 7
Глобальное распространение отдельных гельминтозов и протозоозов человека
(в % пораженности населения)

Возбудитель и вызываемые им болезни	В странах тропического пояса	В странах умеренного пояса	Во всем мире
<i>Ascaris lumbricoides</i>	39,8	7,5	32
Анкилостомиды	30,7	0,7	23,3
<i>Enterobius vermicularis</i>	6,5	15,5	8,8
<i>Trichocephalus trichiuris</i>	20,0	8,3	17,1
<i>Trichinella spiralis</i>	0,1	4,1	1,2
Филяриаты	21,9	0	16,4
Все нематодозы	119,0	36,1	98,8
Шистосоматиды	9,1	0	6,8
<i>Clonorchis sinensis</i>	1,2	0,01	0,9
Все трематодозы	10,3	0	7,7
<i>Taenia saginata</i>	1,5	3	1,9
<i>Hymenolepis nana</i>	1	0,7	1
<i>Diphyllobotrium latum</i>	0,1	1,3	0,4
Все цестодозы	2,6	5	3,3
Возбудители малярии	7	0	5,1
Гельминтозы и протозоозы	138,9	41	124,9

Приведенные в таблице данные относятся к 1976 г.

Т а б л и ц а 8
Зависимость пораженности детей от возраста

Паразитоз	Пораженность детей, %					Страна	Автор
	0—5 лет	6—15 лет	Старше 15 л.				
Филяриатозы	1,5	6,5	17,8			Восточная Африка	Данные ВОЗ
Анкилостомидозы	4	8,1	15			То же	
	0—2 года	2—4 года	5—8 лет	9—12 лет	13—16 лет		
Клонорхоз	0	2,7	10,8	21,6	32,4	СРВ	Нгуен Танг Ам [62]
	5 недель	15 недель	35 недель	55 недель	65 недель		
Малярия							
% детей без паразитов в крови	90	68	52	60	30	Нигерия	Молино и Грамиссия [60]
% детей с низкой паразитемией	10	13	19	9	25		
% детей с высокой паразитемией	0	19	29	40	45		

го ребенка имеет место каждые 3—5 дней. Новорожденный должен бороться с малярией за свою жизнь: в первые шесть месяцев жизни он еще частично защищен антителами, полученными от гипериммунной матери, потом наступает критический период. Каждый 5-й, 6-й ребенок умирает, остальные успевают за несколько лет выработать свой нестерильный иммунитет и могут в дальнейшем противостоять малярии, сосуществуя с нею в состоянии биологического равновесия. Вспомним, что при определении явления паразитизма один из основных признаков, на котором настаивают многие паразитологи, состоит в том, что паразит не убивает своего хозяина, а устанавливает с ним взаимоприемлемые формы сосуществования.

К сожалению, нам не удалось найти данных о глобальной пораженности домашних и сельскохозяйственных животных. О широком распространении паразитарных болезней животных и огромном экономическом ущербе, ими наносимом, можно судить по отдельным данным: так, в 35 африканских странах, пораженных трипаносомозом, пустует 7 млн км² пастбищ, на которых можно было бы содержать 120 млн голов крупного рогатого скота и получать более 1,5 млн. т мяса в год (данные ФАО); в развитых странах потери, вызванные паразитами, оцениваются в 25—30% от стоимости животноводческой продукции [55].

Отметим, что и в очагах паразитозов животных произошла взаимная адаптация хозяев и паразитов и появились расы сельскохозяйственных животных, мало чувствительных к местным штаммам паразитов.

РАДОСТЬ НАДЕЖД И ГОРЕЧЬ ПОРАЖЕНИЙ. ПАРАЗИТОЛОГИЯ ВЗРОСЛЕЕТ

Паразитология возникла как наука в середине прошлого столетия. Многие годы основное внимание уделялось описанию новых видов паразитов, уточнению их анатомии, систематике, эмбриологии и филогении. В XX столетии развернулись работы по изучению эпидемиологии паразитозов, возникли ландшафтно-экологическое, популяционное направления, все большее внимание уделялось паразитоценозам. Огромное влияние на развитие паразитологии оказали русские и советские ученые: школы К. И. Скрябина, Е. Н. Павловского, В. А. Догеля, В. Н. Беклемишева и др.

Надо, однако, признать, что экспериментальная паразитология длительное время не привлекала к себе должного внимания. Только в середине столетия стали разрабатываться лабораторные модели паразитозов и культуры паразитов *in vitro*, и на их основе возникли такие направления, как физиология, биохимия, генетика, молекулярная биология паразитов, изучение их ультраструктуры, взаимоотношений паразита и хозяина (иммунология, адаптация, интеграция обменов, токсическое и сполитивное действие). Бурное развитие генетики и молекулярной биологии, которое коренным образом изменило сами основы биологии, не могло, естественно, не коснуться паразитологии. Это привело к пересмотру направлений научных исследований и в нашей стране, и во всем мире: все большее значение стали приобретать исследования по генетике, иммунологии, биохимии и молекулярной биологии паразитов. Это можно легко показать, проведя анализ периодической литературы по паразитологии.

В 20—30-х годах нашего столетия в мире имелось лишь 11 журналов по паразитологии и число статей, посвященных экспериментальной паразитологии, не превышало 3% всех публикаций. В настоящее время, по данным К. Уоррен [68], из 20 162 медицинских журналов, издаваемых в мире, 45 журналов посвящены вопросам паразитологии, 40 — вопросам тропической медицины (в основном медицинской паразитологии), 5 — гельминтологии и 4 — протозоологии. Первый англоязычный журнал по паразитологии (*Parazitology*) был основан в 1908 г., первый международный журнал по экспериментальной паразитологии (*Experimental Parazitology*) — в 1951 г. Характерно, что последние два журнала по паразитологии, которые были основаны в 1979—1980 гг., посвящены: первый — иммунологии паразитов (*Parasite Immunology*), второй — молекулярной и биохимической паразитологии (*Molecular a. Biochemical Parazitology*).

Анализ публикаций по паразитологии за 1979 г. дал следующие результаты [53] (табл. 9).

Возрастающий интерес к теоретическим проблемам паразитологии иллюстрируют следующие цифры [53]: в том же 1979 г. в 19 наиболее распространенных журналах по паразитологии было опубликовано 972 работы, имеющие приоритетное значение. Из них 429 посвящены вопросам общей паразитологии, 106 — вопросам частной паразитологии.

Надо сказать, что, помимо бурного развития новых направлений в биологии, на развитие паразитологии четкое влияние оказала конкретная ситуация, сложившаяся в 50—60-х годах в области изучения паразитар-

Таблица 9

Преобладающие направления исследований в паразитологии (в %)

Направление	Четыре основных международных журнала по паразитологии (429 публикаций)	Три основных международных журнала по тропической медицине (280 публикаций)
Морфология, систематика, экология, эпидемиология, изучение <i>in vitro</i>	52	37
Диагностика, клиника, патология, лечение, фармакология	7	35
Молекулярная биология, иммунология, биохимия, физиология	41	27

Примечание. Реальный удельный вес новых направлений был значительно выше, поскольку в 1979 г. было опубликовано более пятисот работ по иммунологии, биохимии, биофизике, физиологии и молекулярной биологии паразитов в непаразитологических специализированных журналах.

ных тропических болезней и организации глобальной борьбы с ними. В табл. 7 и 8 приведены данные о распространении паразитозов человека в мире. Тропикологи и паразитологи давно знали о широчайшем распространении паразитарных болезней, но только во второй половине столетия руководители государств, политики, общественные и международные организации стали сознавать, что борьба с этими болезнями является общечеловеческой проблемой. Были разработаны первые глобальные планы борьбы с паразитами человека, сельскохозяйственных животных и культурных растений.

В начале проблема борьбы паразитарными болезнями, в первую очередь с малярией, представлялась не такой уж трудной. Оптимизм вселяли успехи, одержанные в борьбе с малярией на юге Европы, в Северной Африке, в Северной Америке, в некоторых странах субтропического пояса, а также появление новых инсектицидов и лечебных препаратов. 25 лет назад ВОЗ объявила о проведении глобальной кампании ликвидации малярии, основанной прежде всего на широчайшем применении инсектицидов (ДДТ). Были достигнуты определенные успехи — снизилось число заболеваний и значительная территория была очищена от малярии, однако вскоре выяснилось, что в целом достигнуть цели не удастся. Ситуация практически не изменилась в наиболее тяжелых очагах тропической Африки, Латинской Америки, Юго-Восточной Азии. Более того, малярия вернулась в виде тяжелых эпидемий в страны, временно почти очищенные от малярии: Шри Ланка, Индия, Турция. Кроме того, возникли новые неожиданные осложнения: возбудитель тропической малярии приобрел резистентность к препаратам, переносчики — к инсектицидам. Постепенно выяснилось, что наши знания биохимии и молекулярной генетики возбудителей малярии и других паразитов, их взаимоотношений с хозяином, иммунного ответа последнего и многих других вопросов настолько неполны, что исключают целенаправленный поиск новых классов препаратов и разработку принципиально новых подходов в борьбе с малярией и другими паразитами человека. Необходимость быстрого развития фун-

Таблица 10
Финансирование научных исследований
по малярии и шистосомозам в 1980 г.

Источник финансирования	Финансирование, тыс. долл.	
	малярии	шистосомозов
ВОЗ		
Регулярный бюджет	3 005	1 767
Спецпрограмма TDR	4 000	3 000
США		
Army, Navy, USAID, Public Health Prog.	13 561	3 410
Другие учреждения		
Wellcome Trust, Rockefeller Foundation и др.	700	1 220
Всего	21 266	9 397

Таблица 11
Влияние Спецпрограммы TDR
на исследования в области паразитологии
(анализ публикаций в журнале «Молекулярная и биохимическая паразитология»
за пять лет существования журнала)

Исследование	Число работ	%
Всего опубликовано	486	100
Посвящены изучению возбудителей		
малярии	99	20,3
трипаносомозов	139	28,5
лейшманиозов	37	7,5
шистосомозов	50	10,3
филяриатозов	17	3,9
Всего по пяти основным паразитозам	342	70,5

даментальных исследований в области паразитологии была признана всеми крупными паразитологами, и, по их предложению, при ВОЗ была создана добровольно финансируемая Спецпрограмма TDR, целью которой стало развитие научных исследований и подготовка научных кадров в области тропических болезней. Было решено сосредоточить усилия на наиболее приоритетных болезнях: пяти паразитозах, вызываемых простейшими (малярия, трипаносомозы, лейшманиозы) и гельминтами (шистосомозы и филяриатозы), и лепре. Располагая годовым бюджетом в 20—25 млн. долл. Спецпрограмма TDR могла субсидировать научные работы, в первую очередь фундаментальные, по пяти вышеперечисленным паразитозам и тем самым привлечь к изучению этих болезней лучшие биохимические лаборатории и центры, специализированные в области молекулярной генетики. В качестве иллюстрации приводим данные о финансировании научных работ по малярии и шистосомозам в мире в 1980 г. (табл. 10).

Военное ведомство США тратит значительные суммы на паразитологические исследования. Например, в 1979 г. было выделено

8488 тыс. долл. на работы в области малярии (в основном на создание защитной вакцины для военнослужащих), 1624 тыс. долл. — на изучение трипаносомозов, 908 тыс. долларов — на изучение лейшманиозов и 564 тыс. долл. на изучение шистосомозов.

Приведенные выше цифры, конечно, невелики (в пересчете на одного больного в мире тратится сейчас примерно в тысячу раз больше денег на исследования рака, чем малярии), но очень важным обстоятельством является то, что финансируемые исследования имеют целевое назначение: они направлены на выяснение молекулярных особенностей пяти эндопаразитов и их отношений с хозяином. Тем самым на протяжении ряда лет было обеспечено накопление взаимодополняющих данных об особенностях обмена у пяти эндопаразитов человека: трех простейших и двух гельминтов (табл. 11).

Помимо материальной поддержки со стороны Спецпрограммы TDR, развитие экспериментальных работ в указанных направлениях облегчалось тем, что были разработаны методы культивирования *in vitro* возбудителя тропической малярии, трипаносом и лейшманий и имелись удобные лабораторные модели шистосомоза и филяриатозов.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПАЗАРИТОЛОГИЯ

За последние десятилетия накопилось значительное количество фактических данных и стал широко применяться термин «молекулярная паразитология» (в 1984 г. вышла первая монография под таким названием («Molecular Parasitology» [47]). Естественно, возникает желание обобщить накопившиеся данные — отечественные и зарубежные — и попытаться рассмотреть явление паразитизма на молекулярном уровне.

Основная цель — выявить у простейших и гельминтов те закономерности, которые можно было бы рассматривать, как молекулярные механизмы адаптации к эндопаразитизму, и объяснить с молекулярногенетической точки зрения возникновение у пропаразитов паразитизма и циклов развития.

Возможно, что попытка преждевременна и читатель не согласится с приводимыми соображениями. Как бы то ни было, автор убежден, что накапливающиеся данные об эволюции биосферы, о строении, обмене и генетике эндопаразитов, о молекулярных аспектах их взаимоотношений с хозяевами позволят в недалеком будущем рассмотреть явление эндопаразитизма на молекулярном уровне и понять молекулярные основы его возникновения и развития. Тем самым получит свое объяснение один из важных, но частных вопросов общей паразитологии. Конечно, понятие «паразитизм» намного шире понятия «эндопаразитизм» и в недалеком будущем будет собран фактический материал по другим частным вопросам и появится «Общая молекулярная паразитология», в которой найдут свое отображение явления симбиоза, мутуализма и другие формы отношений паразита и хозяина при паразитизме.

Не менее интересно расширить понятие «паразит» и, включив в него бактерии, вирусы и грибы, написать «Молекулярные основы паразитизма бактерий и вирусов». Отдельные публикации на эту тему уже имеются у С. Н. Румянцева [38, 39] и В. Д. Беякова и др. [6].

Надо только помнить, что и в том и другом случае будет очень трудно обобщить конкретные данные из-за полифилетичности и полигенетичности изучаемых объектов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авакян А. А. Эволюция паразитизма // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1970. № 2. С. 246—256.
2. Авакян А. А. Атлас анатомии простейших патогенных для человека и животных // М.: Медицина, 1976. 312 с.
3. Банина Н. Н. Прогресс и регресс в эволюции паразитических организмов // Закономерности прогрессивной эволюции/Под ред. К. М. Завадского. Л.: Изд-во АН СССР. 1972. С. 48—59.
4. Беклемишев В. Н. Основы сравнительной анатомии беспозвоночных. М.: Наука, 1964. Т. 1. 432 с.
5. Беклемишев В. Н. Биоценологические основы сравнительной паразитологии. М.: Наука, 1970. 502 с.
6. Беляков В. Д., Голубев Д. Б., Каминский Г. Д., Тец В. В. Саморегуляция паразитарных систем. Л.: Наука, 1986.
7. Быховский Б. Е. Онтогенез и филогенетические взаимоотношения плоских паразитических червей // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1937. Т. 4. С. 1352—1383.
8. Быховский Б. Е. Моногенетические сосальщики, их система и филогения. Л.: Изд-во АН СССР, 1957. 509 с.
9. Гинецинская Г. А. Трематоды, их жизненный цикл, биология и эволюция. Л.: Наука, 1968. 411 с.
10. Догель В. А. Polymerization als ein Prinzip der progressiven Entwicklung bei Protozoen // Biol. Zbl. 1929. Vol. 49. S. 451—469.
11. Догель В. А. Очередные задачи экологической паразитологии // Тр. Петергоф. биол. ин-та, 1935. Т. 15. С. 34—48.
12. Догель В. А. Зоология беспозвоночных. М.: Сов. Наука, 1959. 511 с.
13. Догель В. А., Полянский Ю. И., Хейсин Е. М. Общая протозоология. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1962. 592 с.
14. Дубинин В. Б. О специфичности перьевых клещей в связи с эволюцией их хозяев // Усп. совр. биол. 1950. Т. 29, вып. 3. С. 442—457.
15. Жданов В. М., Львов Д. К. Эволюция возбудителей инфекционных болезней. М.: Медицина. 1984. 266 с.
16. Иванов А. В. Морфологические адаптации пищеварительной системы у паразитических Gastropoda // Учен. зап. ЛГУ. Сер. биол. 1945. Т. 5. вып. 15. С. 112—119.
17. Иванов А. В. Строение эктопаразитических брюхоногих как результат их образа жизни // Тр. Ленингр. о-ва естествоиспыт. 1972. Т. 71. № 4. С. 12—23.
18. Иванов А. В. Строение *Udonella caligorum* Johnston, 1985 и положение Udonellidae в системе плоских червей // Паразитар. сб. Зоол. ин-та АН СССР. 1952. Т. 14. С. 112—163.
19. Иванов А. В. Строение и развитие эндопаразитического брюхоногого моллюска *Parenteroxenos dogielli* A. Ivanov (Entoconchidae) // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1974. № 1. С. 1—28.
20. Калинин В. Д. Эволюционные аспекты в изучении кинетопласта // Цитология. 1974. Т. 16. № 10. С. 1191—1202.
21. Кнорре А. Г. Распространение явления паразитизма в животном царстве. // Учен. зап. ЛГУ. Сер. биол. 1937. Т. 4, вып. 4, № 13. С. 11—37.
22. Курочкин Ю. В. Особенности паразитофауны океанического планктона и его роль в циркуляции паразитов морских позвоночных // Паразиты и болезни водных беспозвоночных (тез. докл. 4-го Всесоюз. симпози.). М.: Изд-во МГУ, 1986. С. 89—91.
23. Маркевич А. П. Происхождение и эволюция паразитизма // Тр. Баш. НИ Вет. станции. 1943. Т. 4. С. 58—63.
24. Маркевич А. П. Паразитические веслоногие рыб СССР. Киев: Изд-во АН УССР, 1956. 259 с.

25. Павловский Е. Н. Организм как среда обитания // Природа. 1934. № 1. С. 80—91.
26. Павловский Е. Н. Природная очаговость трансмиссивных болезней в связи с ландшафтной эпидемиологией зооантропонозов. М., Л.: Наука, 1964. 211 с.
27. Парамонов А. А. Основы фитогельминтологии. М.: Изд-во АН СССР, 1962—1970. Т. 1. 480 с.
28. Полянский Ю. И. Морфологические закономерности прогрессивной эволюции Protozoa // Prog. in Protozoology. L., 1968 P. 442—447.
29. Полянский Ю. И. О некоторых морфологических закономерностях эволюции паразитических животных // Паразитар. сб. Зоол. ин-та АН СССР, 1969. Т. 24. С. 208—218.
30. Полянский Ю. И. О морфологических закономерностях эволюции простейших // Зоол. журн. 1970. Т. 49, вып. 4. С. 560—570.
31. Полянский Ю. И. О своеобразных чертах прогрессивной эволюции на клеточном уровне организации // Журн. общ. биол. 1971. Т. 32, № 5. С. 541—548.
32. Полянский Ю. И. Некоторые аспекты эволюции простейших // Материалы I съезда Всесоюз. о-ва протозоологов. Баку, 1971. С. 76—77.
33. Полянский Ю. И. Эволюция простейших и морфофизиологические закономерности эволюционного процесса // Закономерности прогрессивной эволюции. Л.: Изд-во АН СССР, 1971. С. 286—293.
34. Полянский Ю. И. Формы изменчивости, популяции и адаптации у инфузорий // Пробл. эксперим. биологии. М., 1977. С. 192—193.
35. Полянский Ю. И., Райков И. Б. Роль полиплоидии в эволюции простейших // Цитология. 1972. № 2. С. 509—518.
36. Райков И. Б. Кариология простейших. Л.: Наука, 1967. 259 с.
37. Райков И. Б. Ядро простейших: морфология и эволюция. Л.: Наука, 1978. 326 с.
38. Румянцев С. Н. Конституциональный иммунитет и его молекулярно-экологические основы. Л.: Наука, 1983. 210 с.
39. Румянцев С. Н. Микробы, эволюция, иммунитет. Л.: Наука, 1984. 176 с.
40. Скрябин К. И. Симбиоз и паразитизм в природе. Введение в изучение биологических основ паразитизма. Пг., 1923. 205 с.
41. Стрелков А. А. Паразитические инфузории из кишечника непарнокопытных сем. Equidae // Учен. зап. Ленингр. пед. ин-та им. Герцена. 1939. Т. 17. С. 1—162.
42. Федоров Д. М. Эволюция и филогения беспозвоночных животных. М.: Наука, 1966. 404 с.
43. Чеснова Л. В. Эволюционная концепция в паразитологии. М.: Наука. 1978. 162 с.
44. Шульц Р. С. Некоторые понятия и принципы общей паразитологии // Р. С. Шульц, Г. И. Диков. Гельминты и гельминтозы сельскохозяйственных животных. Алма-Ата, 1964. С. 16—20.
45. Шульц Р. С. Паразитизм и его эволюция // Доклады на чтениях памяти Е. Н. Павловского. Алма-Ата, 1967. С. 3—9.
46. Шульц Р. С., Гвоздев Е. В. Основы общей гельминтологии. М.: Наука. 1970. Т. 1. 492 с.
47. August T. T. ed. Molecular parasitology. Orlando: Acad. press, 1984. 293 p.
48. Baer J. G. Le parasitisme. Lausanne, 1946. 232 p.
49. Baer J. G. Ecology of animal parasites. Urbana: Union Ill. press, 1952. 223 p.
50. Cameron Th. W. M. Parasites and parasitism. L.; N. Y.: Wiley, 1954. 322 p.
51. Caullery M. Le parasitisme et la symbiose. P.: Doin, 1950. 358 p.
52. Chandler A. C. Introduction to parasitology with special reference to the parasites of man: 10 th ed. N. Y.; L., 1961. 822 p.
53. Chernin E. Thoughts on the history of parasitology // The current status and future of parasitology / Ed. K. S. Warren, E. F. Purcell. N. Y.: Independ Publ. Corp., 1981. P. 44—51.
54. Eichler W. Wirt's spezialität und Evolution der Wirt's. Probleme des Parasitologie. Basel, 1955. 367 S.
55. Griffiths R. B. The relevance of parasitology to human welfare today — Veterinaru aspects // Symp. Brit. Soc. Parasitol. L.: Blackwell, 1978. Vol. 16. P. 41—66.
56. Leuckart R. Die menschlichen Parasiten und die von ihnen herrührenden Krankheiten. B. I. Leipzig; Heidelberg: Winter, 1863. 208 S.

57. *Levine N. D., Corbiss J. O., Cox F. G. et al.* A new revised classification of the Protozoa // *J. Protozool.* 1980. Vol. 27, N 1. P. 37—58.
58. *Lincicome D. R.* Chemical basis of parasitism // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1963. Vol. 113. P. 360—380.
59. *Michailow W.* Ewolucjonizm a parazytologia. W-wa: Pol. Akad. Nauk. 1964. 254 S.
60. *Molineaux L., Gramiccia G.* The Garki project. Geneva: WHO, 1980. 342 p.
61. *Neveu-Lemaire M.* Helminthologie médicale et vétérinaire. P.: Vigot, 1936. 1514 p.
62. *Nguyen Tang Am.* Épidémiologie des infections intestinales. Hanoi: Ed. méd., 1983. 310 p.
63. *Odenning K.* Parasitismus. Grundfragen und Grundbegriffe. B.: Acad. Verl., 1974. 170 S.
64. *Peters W.* The relevance of parasitology to human welfare today. Medical aspects: Comments and discussion II // *Symp. Brit. Soc. Parasitol.* L.: Blackwell, 1978. Vol. 16. P. 25—40.
65. *Le Riche W. H.* World incidence and prevalence of the major communicable diseases // *Health and mankind* / Ed. G. Wolstenholme, M. O'Connor. L., 1967. P. 1—50.
66. *Stoll N.* This wormy world // *J. Parasitol.* 1947. Vol. 33. P. 1—18.
67. *Stunkard H. W.* Platyhelminthic parasites of invertebrates // *Ibid.* 1967. Vol. 53. P. 673—676.
68. *Warren K. S.* The present status of the parasitology. Literature // K. S. Warren, E. F. Purcell. The current status and future of parasitology. N. Y.: Independ. Publ. Group., 1981. P. 142—151.

ГЕНОМ ПАРАЗИТОВ

Переход простейших и гельминтов к эндопаразитизму сопровождался адаптацией их обмена к новому способу питания и к обитанию в организме хозяина. Простейшие и гельминты далеко отстоят друг от друга, но и те и другие прошли длительный параллельный путь адаптации к эндопаразитическому образу жизни, и отсюда возникает вопрос о наличии у них однотипных молекулярных механизмов адаптации, не зависящих от таксономической принадлежности, но характерных для эндопаразитов. Чтобы уловить наличие таких биохимических механизмов адаптации, целесообразно рассмотреть и сравнить пути обмена у эндопаразитических простейших и гельминтов.

ГЕНОМ ЭУКАРИОТОВ¹

По строению и функциональным особенностям про- и эукариоты четко различаются между собой: с возникновением эукариотической клетки резко усложнились строение и функции генома. В процессе дальнейшей эволюции от первичных многоклеточных к млекопитающим и насекомым происходили, конечно, изменения, но общий план строения и особенности функционирования генома сохранились. Эта общность строения генома в надцарстве эукариотов никем, кажется, не оспаривается. Вместе с тем все отмечают, что имеются многочисленные, выраженные и порой труднообъяснимые различия не только между крупными таксонами, но даже между близкими видами.

Размер генома. Геном эукариотов исчисляется пикограммами (пг), что на 2—3 порядка больше генома прокариотов. В целом считается, что количество ядерной ДНК возрастало в процессе эволюции эукариотов: если в диплоидной клетке млекопитающих содержится около 7 пг ДНК,

¹ Этот краткий обзор строения и функции генома эукариотов не относится, строго говоря, к теме данной монографии. Он написан дополнительно по просьбе паразитологов, просмотревших первый вариант рукописи, не содержащий такого обзора. Просьба вполне естественна: дифференцировка научных дисциплин зашла так далеко и прогресс отдельных направлений происходит так стремительно, что специалисту трудно следить за развитием биологии в целом. Паразитолог, как правило, не в курсе последних достижений молекулярной биологии и не знает специфической терминологии, которая может иногда показаться ему «тайнописью для посвященных». При написании обзора использованы научные публикации ВОЗ, монографии зарубежных авторов и отечественных ученых А. А. Нейфаха, С. Е. Бреслера, подготовленная к печати рукопись книги И. Б. Збарского, а также отдельные публикации Г. П. Георгиева, А. А. Баева, С. С. Дебова, Р. Б. Хесина, А. Д. Мирзабекова и др.

то в ядрах простейших, грибов и дрожжей содержание ДНК составляет несколько процентов от этого количества, в ядрах первичнохордовых в среднем — 6%, бесчерепных — 17%, круглоротых — 38%, костистых рыб — от 20 до 80% [1]. Заметим, что по своим размерам геном человека близок к геномам собаки и кошки, но меньше генома крысы. Если рассматривать не крупные таксоны, а сравнивать отдельные виды, то приходится признать, что ни размер генома, ни особенности его строения не коррелируют однозначно с морфофизиологической сложностью фенотипа и положением животного в эволюционном ряду [15, 23]. Это несоответствие вызывает чувство досады и неуверенности, поскольку показывает наше незнание путей эволюции генома и взаимосвязи между его эволюцией и морфофункциональной эволюцией многоклеточных.

Строение генома. Методом дифференциального центрифугирования гомогената, полученного из изолированных ядер, можно получить рыхлый, или активный, и плотный, или неактивный, хроматин. В обеих фракциях содержатся ДНК, гистоны, негистоновые белки и небольшое количество фосфолипидов. При переходе хроматина в рыхлое состояние, т. е. в состояние, когда считывается информация с ДНК, в нем повышается содержание негистоновых белков и РНК. Разрыхление плотноупакованного хроматина может проявляться в виде микроскопических локальных «вздутий», как на крупных политенных хромосомах слюнных желез личинок *Chironomus*. Вздутия являются местами, где происходит транскрипция генетической информации.

Нить ДНК имеет диаметр около 20 Å и достигает двухметровой длины у человека. Несмотря на такую удивительную длину, нить ДНК упрятана в ядре, диаметр которого не превышает обычно 12—15 мкм. Имеется три последовательных уровня пространственной организации хроматина или, иными словами, три последовательных «способа упаковки» нити ДНК.

Первый уровень соответствует нуклеосомному строению. При мягкой, щадящей обработке хроматина получены электронно-микроскопические снимки плотных, мелких частиц, соединенных между собой нитью ДНК. Частицы, напоминающие бусинки, нанизанные на нити ДНК, названы нуклеосомами. Это гистоновые глобулы, или октамеры, состоящие из пар молекул гистоновых белков H2A, H2B, H3 и H4. Помимо этих гистоновых белков, содержащихся в нуклеосомах в эквимоллярных количествах, имеется гистон H1 или гомологичный ему гистон H5, который не включен в нуклеосому, а связан с отрезком нити ДНК, соединяющим нуклеосомы между собой. Согласно концепции А. Д. Мирзабекова и сотр., сердцевину нуклеосомы составляют богатые аргинином гистоны H3 и H4, которые образуют тетрамер 2H4-2H3, обранный более поверхностно расположенными богатыми лизином гистонами 2H2A и 2H2B. Октамер гистонов и составляет глобулу — основу первичной субъединицы или «минимальной» нуклеосомы (МН1). Она не содержит гистона H1 и обвита нитью ДНК длиной в 140—145 нуклеотидных пар. Этот отрезок нити ДНК плотно прилегает к богатым лизином гистонам H2A и H2B, образуя 1,72 оборота, с шагом витка около 2,7 нм. Межнуклеосомный участок нити ДНК содержит обычно 30—70 нуклеотидных пар и прилегает к крупной молекуле гистона H1. Выяснен порядок присоединения гистонов

к нити ДНК в нуклеосоме и пространственное расположение гистона H1. Последний играет большую роль в дальнейшей упаковке хроматина: молекулы H1 образуют гомополимеры из 12 молекул, что приводит к наднуклеосомной упаковке в соленоид. При этом 6—7 нуклеосом располагаются по окружности витка спирали соленоида. Имеются и другие модели пространственной организации хроматина в плотную нить диаметром в 25—30 нм, которая возникает на втором уровне организации хроматина. Третий, высший уровень упаковки хроматина, состоит из суперспирализации в виде петель, содержащих в среднем 53 т.п.о. и закрепленных на матриксе ядра при помощи белков с мол. массой 52 и 60 кД.

Г. П. Георгиев и соотр. приводят следующие цифры: при упаковке двойной спирали ДНК в нуклеосомную фибриллу число пар оснований возрастает с 10 (на оборот в нити ДНК диаметром 2 нм) до 150—200 (на нуклеосомный поворот при диаметре фибриллы в 11 нм). На следующем уровне упаковки, когда возникает «толстая» хромосомная фибрилла, диаметром в 20—30 нм, число пар оснований на 1 оборот суперспирали достигает 600—1500. И наконец, метафазная хромосома содержит $\approx 10^8$ п. о. и имеет размер в ≈ 500 нм. Отсюда вытекает, что степень упаковки возрастает последовательно от 6,5—7 до 20—50 и 10^4 .

Схематически описанное строение генома — общее для всех эукариотов. Имеются различия в длине междуклеосомного отрезка нити ДНК, составе гистонов, особенностях наднуклеосомной упаковки, полиплоидии и размерах генома, но в целом общая картина строения хроматина типична у всех представителей надцарства эукариотов.

Функционирование генома. Генетическая информация надежно хранится в конденсированном, плотно упакованном хроматине и становится доступной для транскрипции (считывания) только после разрыхления хроматина на всех трех уровнях его упаковки и оголения отдельных отрезков нити ДНК.

В разрыхленном транскрипционно-активном хроматине возрастают ацетилирование и фосфорилирование гистонов, снижается содержание гистона H1, накапливаются негистоновые белки (HMG). В результате хроматиновая нить становится легко доступной для нуклеаз, особенно ДНК'аз I и II, причем на нити ДНК появляются сверхчувствительные к ДНК'азе I участки из 50—500 п. о., не содержащие гистонов. Они предшествуют транскрипции.

ДНК состоит из пар комплементарных оснований, причем пары состоят из пуриновых (аденин, гуанин) и пиримидиновых (цитозин, тимин) оснований, соединенных 2 или 3 водородными связями ($A=T$ и $G\equiv C$). Молекулы дезоксирибозы в ДНК и рибозы в РНК связаны мостиками $3'-O-P-O-5'$: ДНК — двухспиральная, РНК — одонитевая. Генетическая информация записана в виде дискретных генов при помощи триплетного кода: последовательность триплетов в геноме определяет последовательность аминокислот в синтезируемом белке. Часть ДНК выполняет кодирующую функцию, остальная часть предположительно — функции регуляции и защиты от помех. Имеется три класса последовательностей: уникальные гены (смысловые), гены средней повторяемости (повторяются тысячи раз) и гены высокой повторяемости (повторяются от сотен тысяч до миллионов раз).

К уникальным генам, которые имеются в геноме в одной или нескольких копиях, относятся гены, кодирующие строение белков. Что касается генов высокой повторяемости и большинства генов средней повторяемости, то их предполагаемая роль остается недоказанной. Относительное содержание генов высокой повторяемости у разных видов животных колеблется в значительных пределах даже внутри одного отряда. Принято считать, что в целом (от простейших к млекопитающим) возрастает количество уникальных генов, но снижается их относительное содержание в геноме. Например, у млекопитающих информация закодирована в десятках тысяч генов, но они составляют только около 5% всей ДНК.

Возрастающее число повторов последовательностей в геноме коррелирует в основном с возрастающей ролью регуляторных систем в филогенетическом ряду: 10^4 — 10^6 повторов у вирусов, 10^6 — 10^7 у бактерий, 10^8 — 10^{11} у кишечнорастворимых, 10^9 — 10^{12} у позвоночных. Б. М. Медников пишет: «...именно при прогрессивной эволюции фенотипа, т. е. при возрастании морфофизиологической сложности организма, доля структурных последовательностей в геноме снижается за счет увеличения неструктурных, очевидно, регуляторных» [15].

Считается также, что в процессе эволюции возрастает численность изоплит и степень сблоченности пиримидиновых нуклеотидов, а также численность богатых АТ регуляторных последовательностей ДНК.

Геном вида обладает стабильностью и воспроизводимостью в процессе деления клеток и смены поколений. Однако при этом возможны структурные изменения в виде увеличения численности отдельных генов, их выпадения или перемещения на нити ДНК. Возможны перестройки целых участков генома за счет перемещения мобильных диспергированных генов. Резкие одномоментные перестройки выражаются в мутациях, которые могут быть точечными, затрагивая одну аминокислоту, или хромосомными, затрагивая сразу группу генов. Имеются специальные ферменты репарации ДНК при ее случайном повреждении.

Молекулярные механизмы экспрессии генов (выражения информации) в основном универсальны. Они обеспечивают репликацию ДНК, транскрипцию информации в виде РНК, трансляцию информации при синтезе белка в рибосомах. В репликации ДНК участвуют полимеразы, дестабилизирующие, расплетающие белки, обеспечивающие доступ к нити ДНК, ДНК-лигаза и другие ферменты. Репликация идет вдоль обеих расходящихся нитей ДНК, в так называемой вилке, причем имеется ведущая ветвь, где идет синтез новой нити ДНК по направлению от 5' к 3' концу, и запаздывающая ветвь, где синтез идет дискретно, фрагментами. У прокариотов репликация ДНК идет со скоростью 1—2 тыс. нуклеотидов в секунду и фрагменты состоят из тысяч нуклеотидных пар, у эукариотов — со скоростью сотен нуклеотидов в секунду и фрагменты содержат до 200 нуклеотидных пар.

Транскрипция осуществляется ДНК-зависимыми РНК-полимеразами, у прокариотов имеется один фермент, у эукариотов — три и регулируется рядом факторов, в частности последовательностями, определяющими начало, интенсивность и конец транскрипции. Весь процесс состоит из трех фаз: инициации, элонгации и терминации. У прокариотов РНК синтезируется в виде полинуклеотидной нити из 6500—7000 нуклеотидов

со скоростью 12 нуклеотидов в секунду. Нить тут же связывается с рибосомой и транслируется в белок. У эукариотов процесс более сложен: у них имеются комплексы генов (кластеры), которые разделены участками незначущей ДНК (спейсерной ДНК). Регуляторные последовательности у них более многочисленны и специфичны в отношении полимераз. Кроме того, сами гены могут состоять из значимых фрагментов — «экзонов», разделенных незначущими «интронами». Более сложен и сам механизм считывания: сперва синтезируется про-РНК, в которой записаны как экзоны, так и интроны. Затем происходит вырезание незначущих участков, ассоциация с белками и созревание в транспортные, рибосомальные и другие РНК, которые метилируются для стабилизации и защиты от нуклеаз. Часть мРНК полиаденилируется и поступает из ядра в цитоплазму, где в рибосомах транслируется информация и синтезируется белок из аминокислот, доставленных тРНК.

Регуляция биосинтеза белка осуществляется на уровне самой ДНК, на уровне транскрипции и на уровне трансляции в рибосомах. У прокариотов механизмы регуляции относительно просты и укладываются в схему Жакоба и Моно, которые ввели понятие оперона. В оперон, помимо самого гена, входят участки ДНК, выполняющие роль промотора (пускового механизма) и оператора. Модель предполагает наличие отрицательной и положительной обратной связи через репрессор: конечный продукт регулирует скорость синтеза. У прокариотов описан еще один необычный механизм регуляции, играющий роль триггера: поворот на 180° одного из отрезков нити ДНК. У эукариотов регуляция значительно сложнее: транскрипцию регулируют гистоны и кислые негистоновые белки хроматина, а также гормоны — специфические индукторы экспрессии генов — и, как показано выше, некоторые последовательности нуклеотидных пар на самой нити ДНК.

На специфических транспортных и рибосомальных РНК останавливаться не будем, укажем только, что строение рибосом и механизм трансляции значительно усложняются при переходе от про- к эукариотам. Трансляция, как и транскрипция, состоит из фаз инициации (3 фактора инициации у прокариотов, 9 — у эукариотов), элонгации и терминации. Они контролируются различными регуляторными системами.

Опуская подробности, можно сказать, что при переходе от про- к эукариотам сохранились общие принципы функционирования генома, но значительно усложнились и уточнились механизмы регуляции синтеза белков, кроме того, у многоклеточных появились механизмы, определяющие дифференцировку тканей. В процессе дифференцировки ядра с содержащейся в них генетической информацией не теряют своей мультипотенции, но находятся под влиянием регуляторов и проявляют лишь часть своей потенциальной возможности. Сохранение мультипотенции ядрами дифференцированных клеток можно доказать, перенося эти ядра в энуклеированную яйцеклетку.

* * *

Заканчивая краткий обзор структурных и функциональных особенностей генома и генетического аппарата эукариотов, добавим, что в геноме содержится необходимая информация для синтеза всех клеточ-

ных органелл (рибосом, лизосом, аппарата Гольджи, эндоплазматического ретикулума), кроме одной — митохондрии. Для биосинтеза митохондрий необходимо взаимодействие двух генетических систем: генома ядер и генома самих митохондрий. Причем в митохондриальном геноме найдены уникальные примеры нарушения универсальности триплетного кода (триплет ТГА кодирует триптофан).

Различия в строении и функционировании генома у про- и эукариотов явились одной из основных причин нашего нежелания включить в категорию «эндопаразиты» обширные группы бактерий и вирусов. Позвоночный хозяин и эндопаразит-эукариот являются хоть и далекими, но эукариотами, и их взаимоотношения на молекулярном уровне (даже антагонистические) развиваются как отношения двух родственных, по ряду сторон схожих обменов веществ. Общая тенденция эволюции эндопаразитизма у эукариотов — постепенное развитие интеграции и взаимозависимости метаболизма: переход к «сожительству» с хозяином. Это не относится, конечно, к паразитоидам (более ста тысяч видов из четырех отрядов насекомых), таким, как *Nemeritis canescens*, *Preurotropis rog-vulus* или *Trichogamma evanescens*; паразитоидов следует отнести к хищникам, поскольку они переваривают большую часть тканей хозяина и убивают его [2]. Но как будет показано дальше, эндопаразиты-эукариоты и их позвоночные хозяева при условии, конечно, достаточно длительного в геологическом смысле сосуществования «улаживают мирным путем и даже на взаимовыгодной основе» многие молекулярные конфликты на организменном, тканевом и клеточном уровнях. Этого нельзя сказать о взаимоотношениях между хозяином и патогенными бактериями или вирусами. Они чужды друг другу; их отчужденность уходит корнями в далекий верхний протерозой, когда появились первые эукариоты и вопрос о их дальнейшей судьбе решался в жесточайшем единоборстве с вездесущими бактериями. У про- и эукариотов много различных метаболических цепочек, много непохожих метаболитов — это препятствует интеграции обменов. Позвоночное животное и патогенный микроб или вирус могут прийти к сосуществованию, но не к интеграции путей обмена.

Различия в хранении и обмене генетической информацией у про- и эукариотов более существенны, чем может показаться при поверхностном сравнении их геномов. Дело в том, что у бактерий большую роль играет «внеядерный коллективный генофонд». Он представлен прежде всего плазмидами — кольцевыми молекулами ДНК с молекулярной массой от $0,3 \cdot 10^6$ до $300 \cdot 10^6$ дальтонов. Плазмиды не нужны для развития клетки и, следовательно, несут информацию, дополнительную к информации генома. Плазмиды делятся путем репликации и переходят в дочерние клетки (репликация плазмид целиком или частично зависит от регуляторных белков клетки-хозяина). Плазмиды переходят от одной бактериальной клетки к другой путем репликации и конъюгации, но могут также переноситься бактериофагами. Плазмиды содержат гены — транспозоны, которые обладают высокой мобильностью внутри клетки и могут встраиваться в цепочки различных ДНК (рис. 4).

Ent-плазмиды кодируют синтез двух классов эндотоксинов, Kab-плазмиды — синтез факторов, облегчающих прикрепление к слизистой хозяина и проникновение в ткань, R-плазмиды — синтез ферментов, раз-



Р и с. 4. Передача информации через плазмиды, по: С. Фалкоу

рушающих антибиотики и химиотерапевтические соединения. В последнее время получены данные о возможности передачи плазмид от бактерий к паразитическим и свободноживущим простейшим из родов *Entamoeba*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Escherichia*, *Klebsiella* и др.

Прокариоты безраздельно господствовали на Земле в протерозое и, может быть, даже в архее. Их первые конкуренты — эукариоты — появились только в конце протерозоя. Удивительны персистентность и стабильность прокариотов: они заселили практически все экологические ниши на Земле

и удерживают их в течение миллиардов лет, сами не претерпевая при этом больших морфологических изменений. Диапазон их функциональных возможностей поистине был неисчерпаем: практически все термодинамически разрешенные превращения органических и многих неорганических молекул были ими освоены. Объединившись в огромные циклические экосистемы (циклы углерода, азота, серы, фосфора и др.), прокариоты осуществляли колоссальные геохимические преобразования. Можно сказать, что составы лито-, гидро- и атмосферы Земли являются в основном результатом деятельности бактерий на протяжении миллиардов лет [5]. Как считает Г. А. Заварзин [5, 6], эволюция бактерий и формирование у них разнообразных функций происходили путем обмена небольшими порциями генетической информации, что способствовало их экологической адаптации. В результате сходные физиологические функции проявлялись у филогенетически далеких групп бактерий. Конечно, интенсивный поток дополнительной генетической информации путем обмена плазмидами и транспозонами явился мощным фактором выживания, но, поскольку передавалась информация о функциях, а не структурах, это не способствовало морфологической дифференциации. Иначе пошла эволюция эукариотов: информация, хранимая в геноме, менялась под влиянием амплификаций, делеций и перегруппировок последовательностей [23], но не была подвержена неожиданным воздействиям из внешнего «коллективного генофонда».

Морфофункциональная дифференциация эукариотов, вероятно, длительное сдерживалась ограниченной изменчивостью завершенной в себе

системы, которой являлась первичная эукариотическая клетка. Эволюция резко ускорилась с появлением многоклеточных.

Далее «прогрессивная эволюция шла со все возрастающей скоростью [25] (более подробно в книгах И. Б. Райкова «Ядро простейших» и А. А. Гинатулина «Структура, организация и эволюция генома позвоночных»).

ГЕНОМ ЭНДОПАРАЗИТИЧЕСКИХ ПРОСТЕЙШИХ

Что касается эндопаразитов, как простейших, так и многоклеточных, то систематическое изучение их генома началось относительно недавно — десять — пятнадцать лет назад, и, как отмечалось выше, направление этих исследований (прежде всего выбор объекта) было в значительной степени определено материальными дотациями научным центрам со стороны Спецпрограммы по изучению и борьбе с тропическими болезнями Всемирной организации здравоохранения. Этим объясняется, что геномы некоторых эндопаразитов — тех, которые имеют глобальное медицинское или сельскохозяйственное значение, относительно хорошо изучены при почти полном отсутствии данных о геноме других близких видов. Это, конечно, сильно затрудняет анализ и обобщения.

Значительное число публикаций посвящено строению и функции геномов трипаносом, кровепаразитов человека и животных, вызывающих тяжелые болезни у населения Африки и Латинской Америки и наносящих тяжелый урон животноводству во многих странах экваториальной Африки. Относительно хорошо изучен геном малярийных плазмодиев (проблема малярии одна из наиболее острых глобальных проблем), значительно хуже — геном лейшманий и других эндопаразитических простейших. В целом эндопаразитические простейшие лучше изучены, чем гельминты, но в последние годы положение изменилось и появляется все больше данных о геноме шистосом и филярий (шистосомозы и филяриатозы отнесены Всемирной организацией здравоохранения к пяти основным паразитарным тропическим болезням), а также других гельминтов человека и животных. Эти данные пока фрагментарны и недостаточны для аналитического обзора особенностей генома эндопаразитов вообще. Приходится обобщать отдельно данные для эндопаразитических Protozoa и Metazoa, более того, среди простейших трипаномы и плазмодии настолько различны по особенностям строения генома, что возникает необходимость их отдельного рассмотрения. Это нарушает последовательность и цельность изложения материала, но позволяет оценить более объективно и полно имеющийся фактический материал. Привести все данные невозможно и, вероятно, не нужно: имеются сотни публикаций о геноме эндопаразитов, из которых многие устарели или не подтвердились. В данной монографии приводятся, как правило, работы, опубликованные в последние десять лет, и подробно цитируются те публикации, которые представляют особую ценность для паразитолога или открывают новые перспективы в изучении эндопаразитов.

ГЕНОМ ТРИПАНОСОМ

Жгутиковые кровепаразиты, помимо ядерной ДНК, имеют кинетопластную ДНК (к.п. ДНК) в виде нескольких десятков максиколец и тысяч, иногда десятков тысяч мелких колец — миниколец, продетых друг в друга и образующих сложное сетевидное сплетение.

Хроматин и ядерная ДНК. Строение хроматиновой нити ядра трипаносом оставалось длительное время вне поля зрения молекулярных биологов. Имелась публикация [185], в которой на основании проведенных опытов с флюоресцирующими антителами авторы доказывали, что «ДНК трипаносом или вообще не связана с белками или связана с иными белками, чем гистоны, и далее они писали, что «первое предположение нам кажется более вероятным, поскольку доказано, что ДНК бактерий и вирусов не соединена со щелочными белками». Приведенная цитата показывает, что еще недавно принцип общности строения хроматина эукариот не был общепризнанным. Неудача первых попыток обнаружить гистоны в хроматине эндопаразитических простейших объясняется, возможно, особенностями поверхностной структуры и растворимости этих гистонов, что, видимо, не учитывалось при применении метода флюоресцирующих антител и проведении экстракции.

Первое доказательство наличия гистонов у трипаносоматид *Crithidia oncopelti* было получено в 1971 г. [134] и подтверждено гистохимически в 1978 г. [178] у *Trypanosoma cruzi*. Более подробное исследование опубликовано в 1980 г. [35]. Трипаносом (*T. cruzi*) выращивали *in vitro* и собирали в конце лог-фазы роста на стадии эпимастигот. Поли-нуклеосомы отцентрифугировали после осторожного расщепления нуклеазой, ДНК и гистоны выделяли обычными методами и подвергали хроматографии. В целом подтверждена общая для эукариот октамерная структура гистоновых глобул, обвитых нитью ДНК. Отмечено небольшое различие в электрофоретической подвижности отдельных гистонов и наличие двух быстрых фракций (предположительно субфракций H1).

Строение и развитие нуклеосом у *T. cruzi* определили Белна и др. [45] путем расщепления ДНК между нуклеосомами специфической нуклеазой. Они нашли, что на гистоновый октамер навита нить ДНК, содержащая 140 п. о. (пар оснований), а отрезок ДНК, ассоциированный с H1 и соединяющий нуклеосомы между собой, содержит 45 п. о. Таким образом, длина нити ДНК составляет 185 ± 5 п. о., что меньше, чем у высших эукариот (200), но больше, чем у низших [130]. Не обнаружено различий в строении нуклеосом у штаммов *T. cruzi*, чувствительных и резистентных к этидий-бромиду, препарату, взаимодействующему с ДНК.

Строение нуклеосом *T. brucei* и других африканских трипаносом не отличается заметно от приведенной выше структуры нуклеосом у *T. cruzi* [44], однако в публикациях последних лет не удалось найти подробной работы о хроматине других трипаносом, кроме *T. cruzi*.

Содержание ДНК и диплоидность генома трипаносом определили Борст с сотр. в 1982 г. [55]. В табл. 12 приведено содержание ядерной и кинетопластной ДНК у двух трипаносоматид, определенное несколькими методами.

Т а б л и ц а 12
Содержание ДНК у *T. brucei* и *C. fasciculata* (в пг·10³), по [55, 67]

Вид паразита	В ядре	В кинетопласте		
		1	2	3
<i>T. brucei</i> с одним кинетопластом	97(200)	3,1 ± 2,5(25)	5,1 ± 2,1(50)	5,9 ± 1,8(50) 4,2 ± 1,3(100)
<i>T. brucei</i> с двумя кинетопластами	181 ± 15(200)	—	3,3 ± 1,3(100)	4,6 ± 1,5(100)
<i>C. fasciculata</i>				
1-й пик	95(200)	—	29,2 ± 8,4(50)	33,3 ± 10,5(150)
2-й пик	180(200)	—	—	30,4 ± 8,5(19)

Примечание. В скобках — число измерений; 1,2,3 — разные методы определения.

Т а б л и ц а 13
Содержание ядерной ДНК на клетку (в пг), по [55] (с дополнениями)

Вид паразита	Цитофотометрия после окраски по Фельгену	Биохимический анализ	Содержание гаплоидной ДНК
<i>Trypanosoma brucei</i>	0,091	—	0,041
<i>T. gambiense</i>	—	0,073	—
<i>T. evansi</i>	0,02	—	—
<i>T. equiperdum</i>	—	0,077	—
<i>T. cruzi</i>	0,28	0,17	—
<i>Crithidia fasciculata</i>	0,095	0,11	—
<i>C. oncopelti</i>	0,22	0,10	0,125
<i>Trichomonas foetus</i>	—	0,15	0,025
<i>Trichomonas vaginalis</i>	—	0,18	—
<i>Plasmodium berghei</i>	0,02	—	—

В табл. 13 приведены данные о содержании ДНК в ядре (собранные из разных публикаций).

Общее содержание ДНК у *T. cruzi* определено колориметрически после экстракции [163] и методом флюорометрии ядра и кинетопласта в интактной клетке [20, 130]. Первым методом получено значение $1,7 \cdot 10^{-13}$ г ДНК в клетке, вторым — $2,8 \cdot 10^{-14}$ в кинетопласте, т. е. всего $3,3 \cdot 10^{-13}$ г ДНК в клетке. Методом гибридизации однокитевой ДНК получено значение $2,6 \cdot 10^{-13}$ г ДНК (диплоидный геном), что соответствует содержанию ДНК в ядре. Отсюда следует что у *T. cruzi* геном диплоидный, причем ядерная ДНК состоит из $2,5 \cdot 10^8$ п. о., кинетопластная ДНК — из $4,9 \cdot 10^7$ п. о. Из кинетики реассоциации ядерной ДНК рассчитаны значения: 9% генов умеренной повторяемости ($5,1 \cdot 10^3$), 51% — низкой повторяемости [74] и 23% — уникальных генов.

Кастро и др. [60] повторили в 1981 г. это исследование теми же методами и на том же объекте и получили следующие результаты: высокоповторные, средней повторяемости и кодирующие гены составляют соответственно 9,35 и 49% ДНК, при общем размере генома *T. cruzi* в $3,21-3,87 \cdot 10^7$ п. о. По оценкам авторов геном *T. cruzi* в 8—9 раз более сложен, чем геном *E. coli*, но смысловая часть генома только в четыре

Таблица 14

Характеристика ядерной ДНК *T. foetus* и *T. vaginalis*

Показатель	<i>T. foetus</i>	<i>T. vaginalis</i>
Выход неочищенной ДНК	2,5—3,0 мг на 10^{10} клеток	2,5—3,0 мг на $4 \cdot 10^9$ клеток
Содержание ДНК в клетке, пг	0,13	0,18
Температура плавления, °C	82°	84°
Содержание Г+Ц, %	31	36
Гиперхромизм, %	35—42	35—42
Высокие повторности, %	Отсутствуют	13,3
Средние повторности, %	46,7	53,3
Уникальные, смысловые, %	53,3	33,4
Размер смыслового участка, п. о.	$2,5 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^7$

раза сложнее и имеет кодирующую способность в 11 000 структурных генов из 1500 п. о. Повторяющиеся последовательности объединены в большие кластеры, как у дрозофилы, пчелы, хирономуса и др. Геном предположительно имеет диплоидную структуру.

Для сравнения приводим данные, полученные при изучении ДНК некоторых других паразитических простейших.

Ядерная ДНК выделена и изучена у анаэробных паразитических жгутиковых *Tritrichomonas foetus* и *Trichomonas vaginalis* [199]. Полученные значения собраны в виде табл. 14 [199].

Банк генома *T. cruzi* заложен впервые в Аргентине в 1983 г. [85]. Выделена ядерная ДНК, рестриктирована и клонирована. Рекombинантные плазмиды включены в *Escherichia coli*. После роста, репликации и обработки колоний получено четыре тысячи фрагментов, которые проверены на гибридизацию с меченой *in vivo* тотальной ДНК *T. cruzi*. Показано, что 1% фрагментов состоит из комплементарных повторов и более 50% слабо взаимодействует с ДНК, что указывает на широкое распределение повторов вдоль нити ДНК (в тех же условиях с геномом человека получено 95% взаимодействий).

Рестрикционный анализ был применен к изучению ядерной ДНК африканских трипаносом Борстом и др. [52]. Для ядерной (некинетопластной) ДНК *T. brucei* найдено следующее соотношение трех классов последовательностей: кодирующие гены — 68% ($2,5 \cdot 10^7$ п. о.), гены средней повторности — 20% и высокой повторности — 12%. В ядре обнаружена сателлитная ДНК (расщепляемая *AluI* на фрагменты из 180 п. о.), функциональная роль которой не выяснена. Сравнив ДНК трех видов трипаносом (*T. brucei*, *T. evansi*, *T. equiperdum*), авторы показали наличие различий и применили метод гибридизации для определения видовой принадлежности трипаносом.

Наиболее подробно изучены структурные гены, кодирующие вариабельный поверхностно-кутикулярный антиген трипаносом. Об этом будет подробно сказано далее, в разделе «Молекулярные аспекты отношений паразитов и хозяев», здесь — кратко о других структурных генах ядерной ДНК.

Функциональный анализ генов эндопаразитических простейших и

гельминтов был долгое время затруднен тем, что не были разработаны системы, в которых осуществлялась бы транскрипция генов эндопаразитов. Стремясь найти близкий организм, в геноме которого узнавались бы промотор и поли(A^+) сигнал и точно списывались бы гены паразитарных простейших, Кемп и сотр. [121] проверили возможность транскрипции сегментов ядерной ДНК *Babesia bovis* в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*, имеющих небольшой геном, но мощную систему транскрипции. Фрагмент, содержащий определенный полиморфный локус, включен в плазмиду, клонирован в *Escherichia coli* и перенесен в *Saccharomyces cerevisiae*. Получена поли(A^+) РНК, идентичная гемологичной РНК *Babesia bovis*, это показывает, что в геноме дрожжей распознаются и списываются гены кровепаразита и их сигналы.

Бесклеточная система, синтезирующая белок, получена из эпимастигот *T. cruzi* и уточнены оптимальные значения основных параметров системы: (Mg^{2+}) — 1,02 мМ (K^+) — 63 мМ, T° — 25,5° и $pH=7,25$ [94]. В бесклеточной системе синтезировались те же белки, что в интактных клетках (в пределах 14—45 кД), но тормозился синтез более крупных белков. Подобные системы получены из тканей *C. oncopelti* [64], *C. fasciculata* [119] и *C. luciliae* [135].

В литературе имеется лишь немного разрозненных данных о локализации генов вдоль нити ядерной ДНК у трипаносомид.

Численность и строение генов, кодирующих рРНК, изучены у *T. cruzi*. Известно, что при переходе от более низко- к более высокостоящим организмам прослеживается тенденция к увеличению повторностей. Так, у прокариот имеется лишь небольшое число копий рРНК-генов [153, 30], единичные копии имеются и у низших эукариот, например, в хлоропласте *Euglena gracilis* [152] и ядрышке *Tetrahymena pyriformis* [206], но у многоклеточных число копий генов, кодирующих рРНК, возрастает до многих сотен и тысяч. У *T. cruzi* локализация рРНК-генов на ядерной ДНК определена методом РНК:ДНК гибридизации рестриктированной ДНК с восемью молекулами рРНК [101]. Показано, что в двух фрагментах ДНК размером 9,88 и 1,7 т. п. о. содержатся гены, кодирующие цепи рРНК 18S, β , α S^1 , S^2 , S^3 . Другие две легкие цепи S^4 и S^5 кодируют гены, независимые от перечисленных выше объединенных генов и свободно расположенные вдоль ДНК. Подобное расположение генов, кодирующих рРНК, найдено и у *L. donovani* [86].

Гены, кодирующие α и β тубулин, определены у *T. brucei*; они расположены парами в виде 15 повторов в одном кластере [27]. У *L. tropica* и *L. enrietti* эти гены расположены в виде многочисленных пар, равномерно распределенных вдоль нити ДНК [106, 132, 133].

В ядерной ДНК (и в ДНК максиколец) паразитирующего в насекомом *C. fasciculata* обнаружены последовательности RS, инициирующие считывание [127], и высказано предположение о наличии RS последовательностей в кДНК трипаносомид. Прямые доказательства наличия в максиколяцах RS-последовательностей, активных в дрожжах, получены у *T. brucei* [74], у *C. fasciculata* [123], у *L. tarentolae* [107]. Эти данные интересны тем, что показывают структурную близость RS-фрагментов у паразитических простейших и их локализацию в консервативной части максиколец.

У *T. brucei* и других трипаносоматид выделены и охарактеризованы мРНК, рРНК и тРНК, подобные гомологичным РНК млекопитающих, и показано наличие посттранскрипционного процессинга, обеспечивающего вырезание незначительных участков из первичного транскрипта гена и его превращение в зрелую молекулу иРНК [79, 86].

Рибонуклеазы выделены из *Escherichia coli*, *T. brucei* и *T. congolense* [86, 87, 88]. Высказано предположение, что у *E. coli* мРНК расщепляется последовательно эндорибонуклеазой и 3'-экзорибонуклеазой. Из цитоплазмы *T. brucei* выделены оба фермента: эндорибонуклеаза и экзорибонуклеаза [86]. Оба фермента Ca^{2+} -зависимы, конечными продуктами эндорибонуклеазы являются 5'-фосфорибозил олигонуклеотиды, экзорибонуклеаза расщепляет полиадениловую кислоту на рибонуклеозид-5'-фосфат. Субстратная специфичность ферментов показана в табл. 15 по [86]. Молекулярная масса эндорибонуклеазы 50—52 000, экзорибонуклеазы — 41—43 000.

Кинетопластная ДНК (кпДНК). Эта необычная по структуре ДНК давно привлекает к себе внимание и стала предметом догадок и более или менее обоснованных предположений. Высказывалась мысль, что максикольца гомологичны митохондриальной ДНК [173], что наличие миникольца как-то связано с циклом развития трипаносом и сменой хозяев. Руу и Сосре [164] выделили штамм *T. equiperdum*, который не передавался переносчиком и был лишен системы миникольца. С выяснением тонкого строения кпДНК связывали надежду на уточнение филогенетических связей трипаносоматид и определения морфологически близких видов и неразличимых между собой вариантов, таких, как *T. T. brucei gambiense*, *T. brucei rhodesiense* и *T. brucei brucei* (последний непатогенный для человека). кпДНК выделена и изучена у *C. fasciculata* — (Симпсон и Симпсон [172], *C. luciliae* [124, 125, 201], у *L. tarentolae* [171]), *T. brucei* [80], *T. cruzi* [137] и других видов. Высказывалось предположение, что имеется корреляция между размерами максикольца, а также численностью миникольца, с одной стороны, и положением вида в филогенетической системе — с другой: более примитивные виды предположительно имеют более крупные максикольца и менее многочисленные миникольца. Делать такие обобщающие построения еще рано, во всяком случае, ряд видов не укладывается в эту систему: например, у *T. cruzi* крупные максикольца, хотя вид нельзя считать примитивным. Ниже, в табл. 16, приводим данные, собранные Д. Масловым, А. Колесниковым и Г. Зайцевой [143], а также Д. Баркером и др. [40], о размерах макси- и миникольца.

Строение кпДНК изучено наиболее подробно у *T. brucei* и близких видов. Рестрикционный анализ с последующим гель-электрофорезом, а также клонирование в плазмидах и *Escherichia coli* и гибридизация рекомбинантных фрагментов с кпРНК не выявили различий в кпДНК максикольца на двух стадиях развития *T. cruzi* (на кровяных и проциклических формах) и подтвердили более высокое содержание АТ оснований в макси-, чем в миникольцах, что, видимо, характерно для всех жгутиковых кровепаразитов. Борст и др. [53], Стюарт [182] показали наличие в максикольцах 9 S и 12 S генов, гомологичных генам *L. tarentolae* и других жгутиковых кровепаразитов.

Таблица 15
Субстратная специфичность эндо- и экзорибонуклеазы *T. brucei*, по [86]
(сокращенный вариант)

Субстрат	Концентрация, нМ	Эндорибонуклеаза, % расщепления	Экзорибонуклеаза, % расщепления
Поли (А)	0,9	100	100
Поли (У)	1,0	40	94
Поли (Ц)	0,8	36	72
Поли (Г)	0,9	0	0
тРНК	0,8	38	75
рРНК	0,7	46	82
ДНК нативная	1,0	0	0
ДНК денатурированная	0,9	0	0

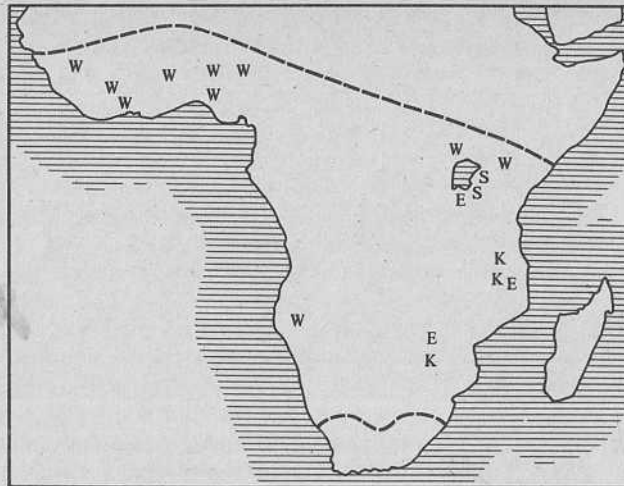
Таблица 16
Размеры макси- и миникольцев у некоторых трипаносоматид,
по [143] и [40] (с добавлением)

Максикольца, тп. о.	Миникольца, мкм
<i>T. brucei</i> 20,5	<i>T. vivax</i> 0,15 и 0,30 (в соотношении 6/1)
<i>S. oncopelti</i> 24,5	<i>L. tropica major</i> 0,21—0,26 (в пределах)
<i>Leptomonas pessoai</i> 31,0	<i>L. aethiopica</i> 0,28
<i>C. luciliae</i> 34,0	<i>T. brucei</i> 0,30
<i>L. gymnodactyli</i> 38,0	<i>L. tarentolae</i> 0,32

Строение максикольцев (30 тп. о.) у *L. tarentolae* тщательно изучено Симпсоном с сотрудниками [174, 176]. Показано наличие многочисленных смысловых участков на максикольцах, кодирующих тРНК митохондриальных структурных и функциональных белков, среди них гены субединиц I и II цитохромоксидазы, АТФ-азы и цитохрома b.

Максикольца кпДНК, размером в 20 тп. о. выделены из двух штаммов *T. brucei*, *T. congolense*, *T. rhodesiense* (два штамма) и *T. brucei* (семь штаммов) и рестриктированы 12 эндонуклеазами. Полученные фрагменты сравнили методом гель-электрофореза [54]. Выявлено пять полиморфных локусов, но различия оказались незначительными — 0,01—0,03 замены на п. о. Это подтверждает, что изученные формы являются не подвидами, а штаммами, адаптированными к разным хозяевам. Наибольшие различия обнаружены между северными (из Уганды) и южными (из Замбии) штаммами *T. brucei rhodesiense*, что согласуется с ранее полученными данными о различии этих штаммов по составу изозимов [90] (рис. 5).

В своем цикле развития трипаносомы переходят от анаэробного разложения глюкозы в крови позвоночного хозяина к аэробному обмену в основном за счет окисления аминокислот в насекомом-переносчике, причем перестройка обмена при попадании в организм переносчика сопровождается появлением функционально активных митохондрий. Как отмечалось, максикольцевая кпДНК считается аналогом митохондриальной ДНК высших эукариот, поэтому естественно было предположить, что при выпадении информации, хранимой в максикольцах, нарушится синтез митохондриальных ферментов и с неполноценными митохондриями крове-



Р и с. 5. Распространение вариантов максиколец у штаммов *Trypanosoma brucei* в Африке, по [54]

паразит погибнет в переносчике. Гайдук и Викерман [97] проверили экспериментально это предположение: после 77 ускоренных пассажей на мышах у штамма *T. brucei* повысилась патогенность, исчез плеоморфизм и потерялась способность передаваться через муху цеце (*Glossina morsitans*). Максикольцевую кпДНК исходного и измененного штамма сравнили электронно-микроскопически и методом гель-электрофореза после рестрикции эндонуклеазами. Ни делеций, ни структурных изменений обнаружить не удалось: или нарушения лежат за пределами чувствительности методов, или максикольца не следует считать аналогами митохондриальной ДНК. Последнее, однако, противоречит общепринятой точке зрения и многим экспериментальным фактам.

Так, например, показано, что полученные под действием рестриктаз фрагменты максиколец *T. brucei brucei* гибридизируются с клонированным геном митохондриальной ДНК *Zea mais*, кодирующим биосинтез субъединицы II цитохромоксидазы [115]. Вскоре те же авторы показали наличие в ДНК максиколец *T. brucei brucei* нуклеотидной последовательности в 1,7 тп. о., комплементарной транскрипту гена апоцитохрома *b* дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*). Фрагмент клонирован и показано, что он кодирует протеин из 350 аминокислотных остатков, гомологичный апоцитохрому *b* других животных. Сам белок не выделен и его функции не изучены [116]. Через год поступило третье сообщение [156] о выяснении нуклеотидной последовательности еще одного смыслового участка на максикольцах *T. brucei*. Участок состоит из 3300 п. о., расположен в двух местах максикольца, и кодируемая им аминокислотная последовательность гомологична субъединицам I и II цитохром *c*-оксидазы других организмов. Особый интерес представляет, на наш взгляд, наличие в максикольцах двух смысловых последовательностей из 900 и 750 п. о., из которых одна (750 п. о.) постоянна на протяжении всего

цикла развития, другая (900 п. о.) имеется в кпДНК у проциклических форм и отсутствует у кровяных [156]. Приводим список выявленных генов в максиколецях *T. brucei*: гены, кодирующие 9 S и 12 S рибосомные РНК, апоцитохром b, субъединицы I и II цитохромоксидазы и полипептида млекопитающих URF1 (неизвестной функции). Необычной особенностью кпДНК трипаносом является то, что часть информации записана на одной нити, другая часть — на другой нити ДНК максиколца [156].

При изучении кинетопластной ДНК двух африканских трипаносом — *T. congolense* и *T. vivax* — Борст с сотр. [56] нашли, что *T. congolense* мало отличается от *T. brucei* по строению кпДНК, тогда как *T. vivax* крайне необычна: процентное содержание максиколца в кпДНК очень высоко (вдвое больше, чем у *T. brucei*); миникольца необычно малы (содержат 465 п. о.). Основываясь на том, что у *T. vivax* имеется небольшое количество (17%) более крупных миниколца, состоящих из примерно 950 п. о., а также на том, что миникольца большинства трипаносом состоят из ≈ 1000 п. о. и, наконец, на том, что наиболее крупные миникольца *T. cruzi* содержат четыре повтора из 360 п. о. каждый, авторы выдвигают гипотезу, что миникольца современных видов возникли из мелкого (400 п. о.) миниколца далекого предка путем удвоения и дифференциации.

Серия интересных, тщательно выполненных исследований о строении ДНК максиколца трипаносоматид выполнена в МГУ под руководством Г. Н. Зайцевой [7, 8, 11, 12, 13, 14, 16, 21]. В 1984 г. вышла обобщающая статья в «Молекулярной и биохимической паразитологии» [143]. Используя рестрикционный анализ и гибридизацию радиомеченых фрагментов, у *C. oncopelti*, *C. luciliae*, *Leptomonas pessoai* и *L. gymnodactyli* изучена нуклеотидная структура максиколца, размеры которых колеблются от 24,5 до 38 тп. о. Показано наличие в максиколецях изученных видов двух разных отрезков: один из них (до 17,5 тп. о.) содержит последовательности нуклеотидов, гомологичные у всех изученных видов, и может рассматриваться как стабильная, консервативная часть максиколца, другой — различается у разных видов и строением, и размерами, и, видимо, является той частью максиколца, где в процессе эволюции накапливались генетические различия, что и привело к выделению таксонов. Аналогичные мысли высказали Мунх и др. в 1983 г. [146] при сравнении максиколца *L. tarentolae* и *T. brucei*. Консервативная часть максиколца, видимо, несет информацию о митохондриальных и структурных белках, которые необходимы для тканевого дыхания на отдельных фазах цикла развития, роль изменчивой части пока не выяснена.

Как указывалось выше, рестрикционный анализ кпДНК максиколца использовали для выяснения родственных связей и систематического положения трипаносомид. Были выявлены полиморфные локусы, проведен тщательный анализ близких штаммов и видов с применением 12 различных эндонуклеаз [54]. Однако наиболее интересные данные получены и опубликованы в 1985 г. Гибсоном и сотр. [89, 90]. Был изучен 21 штамм *T. brucei* из различных районов Африки и выявлены две общие закономерности: 1) размер максиколца возрастает (за счет увеличения вариабельной части колца) при переходе от западных к центральноафриканским и восточным штаммам *T. brucei*; 2) у восточноафриканских штаммов рест-

Таблица 17

Полиморфизм максиколец у штаммов *T. brucei*, по [90]

Происхождение штамма	Тип максикольца	Отклонение в размерах вариабельного отрезка максикольца, тп. о.
8 штаммов из Западной Африки (из Гамбии, Либерии, Нигерии, Заира, Кот-д'Ивуара)	W	—0,91 (среднее значение)
7 штаммов из Центральной Африки (из Судана, Уганды, Кении)	W+E	—0,4 »
12 штаммов из Восточной Африки (из Эфиопии, Кении, Танзании, Замбии)	E+S+K	+0,52 »

Примечание. Средние значения отклонения рассчитаны по отношению к произвольно взятому штамму из Центральной Африки.

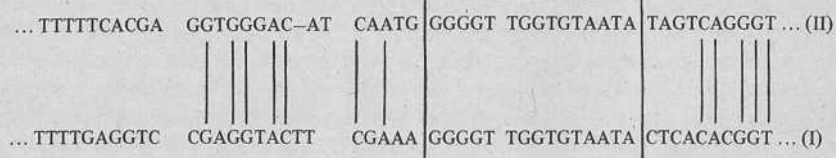
риксционный анализ выявляет больший полиморфизм, чем у западноафриканских. Приводим упрощенную табл. 17 и схему (рис. 5).

Типы W, E, S, K выделены исходя из полиморфности изученных локусов миникольца у 21 штамма африканских трипаносомид (рис. 5).

Миникольца кинетопласта трипаносомид менее изучены, чем максикольца, но в последние годы опубликовано несколько интересных работ по рестриксционному анализу миникольца.

Л. А. Резепкина, Д. А. Маслов и А. А. Колесников [18] показали, что миникольцевые молекулы ДНК *Crithidia oncopelti* представлены гетерогенной популяцией с пятью основными классами молекул: 0,42; 0,51; 0,62; 0,78; 0,83 мкм. Авторы предложили модель молекулы миникольца, согласно которой миникольца состоят из вариабельного по нуклеотидной последовательности блока из 810 пар оснований и нескольких — от одного до четырех в зависимости от размеров миникольцевой молекулы — более консервативных блоков из 445 п. о.

В миникольцах близких видов *T. brucei* [63] и *T. equiperdum* [43] и более отдаленного вида *T. lewisi* Понци и др. [158] также обнаружили вариабельные блоки, занимающие до 80% длины нити ДНК, и небольшие консервативные блоки, гомологичные у трех видов. В каждом миникольце содержится по два консервативных блока. В целом это напоминает строение максикольца трипаносомид. Подобные консервативные блоки найдены также в миникольцах лейшманий и критидий [44]. Биологическая роль консервативных участков не выяснена, Понци и др. предполагают, что они связаны с функцией репликации миникольца. Приводим нуклеотидные последовательности консервативных участков миникольца у *T. brucei* (I) и *T. lewisi* (II) (по [44]):



Консервативные блоки найдены и в миникольцах *T. brucei* и *T. rangeli* [84], они гомологичны и составляют $1/4$ окружности миникольца. Их предположительная функция — обеспечение репликации миникольца. Рестрикционный анализ миникольца позволяет отличать *T. cruzi* от *T. rangeli* [84].

Необычной особенностью кпДНК миникольца трипаносоматид является наличие у них сегментов ДНК необычной формы — в виде изогнутой спирали, что затрудняет электрофоретическую миграцию в полиакриламидном геле, но не в агарозе [149]. Эта особенность ДНК миникольца выявлена у *L. tarentolae*, *T. brucei*, *T. equiperdum*, *Herpetomonas muscigutt*, *C. fasciculata*, но не найдена у *T. cruzi*.

Определение пловучей плотности кпДНК лейшманий, возбудителей кожного лейшманиоза человека, не позволяет [37] различать *L. tropica* мажор и *L. ethiopica*, но применение рестрикционного анализа кпДНК оказалось более перспективным для систематики [33].

Одна из необычных особенностей миникольца трипаносомид — удивительный полиморфизм первичной структуры кпДНК. Правда, однотипная гомогенная структура миникольца выявлена у некоторых африканских трипаносом и лейшманий, но у *T. brucei* *brucei* обнаружено не менее 200 вариантов кольцевых молекул. У американских трипаносом *T. cruzi* и *T. rangeli* имеется четыре повтора в каждом миникольце — это стабильная, консервативная часть молекулы, но остальная часть характеризуется большой гетерогенностью. Полиморфизм миникольца *T. cruzi* четко показан в опытах по гибридизации клонированных фрагментов миникольца ДНК 20 штаммов *T. cruzi*, полученных от одноклеточных изолятов [139]. Миникольца были подразделены на четыре класса, внутри которых наблюдался значительный полиморфизм, даже в штаммах, выращенных из одной клетки. Высказано предположение, что вариации кпДНК (мутации, включения, делеции и т. д.) происходят сразу в нескольких полиморфных локусах, после чего в процессе размножения происходит отбор и дивергенция молекул кпДНК миникольца. Схема не лишена интереса, но не способствует пониманию функции миникольца трипаносомид.

Несмотря на многочисленные исследования, часть которых приведена выше, миникольца трипаносомид остаются интригующей загадкой. Тысячи, десятки тысяч колечек, объединенных в сложное сетевидное сплетение, должны иметь биологический смысл и выполнять важную роль в жизненном цикле трипаносомид, если они так широко распространены у них и упорно сохраняются в процессе эволюции. На долю миникольца приходится до 20% всей ДНК клетки (ядерной и кинетопластной) и более 85% кпДНК, и, конечно, удивительно, что до сих пор не удается выяснить их биологическую роль.

Большое число исследований, посвященных изучению кинетопласта трипаносом, объясняется прежде всего медицинской и ветеринарной значимостью последних, а также финансовой поддержкой научных работ по тропической медицине со стороны международных организаций. Но, проникнув однажды в паразитологию, методы и подходы молекулярной биологии прочно обосновались в новой области и стали применяться к другим объектам. В частности, рестрикционный анализ ДНК кинетопласта или аналогичных кинетопласту образований применяется для опреде-

ления родственных связей и филогенетической близости у простейших, когда другие методы (морфологические, антигенные, изозимные, гибридизации ДНК) не дают желаемого результата.

Рестрикционный анализ, например, применен для изучения полиморфизма митохондриальной ДНК у патогенных и непатогенных штаммов амёб рода *Acanthamoeba*, систематика которых еще слабо разработана, несмотря на широкое применение биохимических методов [26, 69, 181, 189, 192]. Сравнивали электрофоретические подвижности фрагментов митохондриальной ДНК от 15 штаммов после их расщепления 5' эндонуклеазами. Исходная мит.ДНК акантамеб имела кольцевое строение и состояла из $41,6 \pm 1,5$ тп. о. На основании электрофореза фрагментов выявлено десять фенотипов, из них три у патогенных штаммов, причем пять патогенных штаммов отнесены к одному фенотипу (эти географически широко распространенные штаммы ранее относились к двум различным видам). Адам и Блевет [26] считают, что, несмотря на полиморфность внутри видов, рестрикционный анализ мит.ДНК может быть полезен при выявлении филогенетического родства штаммов, подвидов и видов у *Acanthamoeba*.

В заключение краткого обзора о строении кинетопластной ДНК приводим данные о гидрогеносомах анаэробных паразитических простейших. Гидрогеносомы тоже являются энергетическими центрами анаэробной клетки и могут предположительно рассматриваться как предшественники митохондрий и кинетопластов аэробов.

У *Tritrichomonas foetus* и *Trichomonas vaginalis* анаэробных жгутиковых, паразитирующих в урогенитальном тракте человека и животных, отсутствует кинетопласт, но имеются многочисленные цитоплазматические тельца — гидрогеносомы. В гидрогеносомах содержатся ферменты, пируватдегидрогеназа и др., которые играют важную роль в энергетическом обмене. Возникает принципиальный вопрос о наличии у паразитических анаэробных жгутиковых специальной ДНК, подобной кинетопластной ДНК паразитических трипаносоматид. Кольцевая ДНК, подобная кинетопластной ДНК, обнаружена в гидрогеносомах *T. foetus* при помощи электронной микроскопии [62], однако биохимическими методами подтвердить эту находку не удалось: ни Турнер и Мюллер [188], ни А. Ванг и К. Ванг [199] не обнаружили в ДНК, выделенной из *T. foetus* и *T. vaginalis*, фракции, которую можно было бы считать аналогом кпДНК трипаносом.

ГЕНОМ ПЛАЗМОДИЕВ

Ядерная ДНК. Систематическое изучение генома малярийных паразитов началось с 70-х годов, причем особенно удобными объектами изучения оказались *Plasmodium berghei*, возбудитель малярии грызунов, обычных лабораторных животных, и *P. falciparum* — возбудитель тропической малярии человека, легко культивируемый *in vitro*.

После очистки и воздействия расщепляющих эндонуклеаз фрагменты ДНК *P. falciparum* были включены в бактериофаг для создания банка генов; анализ фрагментов проводили методом блот-гибридизации по Саузерну [92]. В табл. 18 и 19 приведены особенности ДНК плазмодия.

Таблица 18

Характеристика ДНК *P. falciparum*, по [92]

Численность плазмодиев	% шизонтов	Число ядер	Выделено ДНК, мкг	ДНК в ядре, пг	Кольцевые структуры	Плотность, г/см
$11 \cdot 10^9$	10	$2 \cdot 10^{10}$	200	0,01	$< 10^{-4}$	1,68
$4 \cdot 10^9$	9	$7,2 \cdot 10^9$	96	0,013	$< 10^{-4}$	1,68

Таблица 19

Банк генов ДНК *P. falciparum* в фазе X, по [92] (сокращенный вариант)

Размер фрагментов, тпо	Размер включений, тпн	Число отдельных клонов	Доля гибридизации с повторами		Актина
			ДНК	рДНК	
7—24	3—16	$4,5 \cdot 10^3$	0,2	—	—
2—12	0,5—12,5	$1,7 \cdot 10^4$	0,1	0,01	0,0005
Нет данных	6—13	$1,1 \cdot 10^4$	0,01	$< 0,0005$	—
То же	9—15	$3 \cdot 10^3$	—	—	—

Размер генома плазмодиев равен $2 \cdot 10^7$ п. о. [77]. Следовательно, банк генов из 5000 тыс. рекомбинантных ламбда-фагов с фрагментами ДНК размером в 17 тп. о. будет содержать всю совокупность последовательностей с вероятностью в 99%. Однако построение банка затрудняется тем, что из-за высокого содержания А + Т пар применимы лишь немногие рестриктазы (например, Mvo I, узнающая последовательности ГАТЦ). И все же, несмотря на эти трудности, в последние годы созданы банки генов многих плазмодиев (*P. falciparum*, *P. berghei*, *P. yoelii* и др.) [109].

В статье, опубликованной в 1983 г. в «Молекулярной биологии паразитов», Боне и др. [49] сообщают о заложенном ими банке из 20 тыс. рекомбинантных клонов, полученных из ДНК *Plasmodium falciparum*, и приводят некоторые данные о ядерной ДНК и рибосомной РНК возбудителя тропической малярии. Содержание ДНК в ядре шизонта: 0,01—0,02 пг, % Г—Ц пар в ДНК — 19%, доля повторенного отрезка — 18—20%. Молекулярная масса рРНК плазмодия $1,49 \cdot 10^6$ (большая субъединица) и $0,78 \cdot 10^6$ (меньшая субъединица), содержание Г—Ц пар — 40 мол%.

Высказывалось мнение, что по структуре ДНК (содержанию Г—Ц пар и характеру гибридизации) *Plasmodium falciparum* филогенетически ближе к возбудителям малярии птиц и грызунов, чем к другим возбудителям малярии приматов [40]. Это мнение не нашло подтверждения при рестрикционном анализе, клонировании и гибридизации повторяющихся последовательностей ДНК *P. falciparum* [47]. Не обнаружено перекрестной гибридизации с ДНК *P. berghei*, *P. knowlesi*, *P. lophurae* и *P. inui*. Изменчивость участков повторов в ДНК *P. falciparum* проявляется в клонах, полученных из одного изолята, после шестимесячного

культивирования в искусственной среде. Более выраженные различия в расположении и строении повторенных участков обнаружены у географически изолированных штаммов *P. falciparum*. Не обнаружено заметных различий в участках повторяющихся последовательностей у двух штаммов, из которых один образовывал гаметоциты, другой — нет. Это противоречит утверждению, что потеря повторов коррелирует с потерей способности к гаметообразованию [76, 48]¹.

Известно, что лактатдегидрогеназа *P. falciparum* отличается от гомологичного фермента хозяина по кинетическим особенностям, чувствительности к некоторым детегрентам и другим свойствам [114]. Ген, кодирующий лактатдегидрогеназу, обнаружен в ДНК *P. falciparum* в пяти копиях размером 3,7 тп.о., выделен и включен в мутантный штамм *E. coli* (lct), лишенный бактериального энзима. Синтезируемый фермент гомологичен лактатдегидрогеназам высших эукариот по аминокислотной последовательности некоторых участков, но по функциональным особенностям значительно отличается от лактатдегидрогеназы эритроцитов человека.

У 18 штаммов *P. falciparum*, полученных со всего мира, изучено строение гена, кодирующего белок наружного слоя мембраны спорозонта, и показана стабильность структуры этого гена: обнаруженные вариации были несущественными [200].

Изучен синтез ДНК в тщательно синхронизированных культурах эритроцитарных стадий развития *P. falciparum*. Синтез начинается на стадии молодого трофозонта, через 29,5—31 ч после внедрения в эритроцит, и продолжается в течение всей шизогонии. Оксимочевина и афидиколин (ингибитор ДНК-полимеразы α) тормозят синтез ДНК, причем афидиколин обладает двойным действием: синтез подавляется резко до некоторого уровня, дальнейшее подавление синтеза ДНК происходит медленно. Ингибиторы не тормозят развитие колец до стадии молодых трофозонтов, но блокируют их дальнейшее развитие [110].

У *P. berghei* содержание ядерной ДНК в клетке составляет 0,02 пг [77,202]. Плавающая плотность равна 1,683—1,684 г/см³ и температура плавления 75° в 0,1 М NaCl, что указывает на содержание $23 \pm 1\%$ Г + Ц [76]. Сателлитные ДНК найдены у *P. chabaudi*, *P. falciparum* и *P. knowlesi*, но не *P. berghei*. Соотношения уникальных последовательностей и повторов в геноме *P. berghei* определено Доре и др. [47, 76]: 18% повторов у штамма, обладающего способностью к гаметогенезу, и 3% — у штамма, не обладающего такой способностью. Для сравнения укажем, что процент повторов в ядерной ДНК у *Paramecium aurelia* равен 15%, у *Tetrahymena pyriformis* — 5—30%, у *Leishmania tarentolae* — 25% [71, 91,107]. Для участка с уникальными последовательностями получены значения $1 \cdot 10^{10}$ п. о., со средним размером генов в 5,9 S.

Сравнение особенностей ДНК у штаммов, способных к гаметообразованию, и штаммов, потерявших эту способность, провели Корнеллисон и др. [68] на возбудителях малярии грызунов *P. chabaudi* и *P. berghei*.

¹ В последней публикации эти авторы признали ошибочность своего утверждения, основанного на результатах нечистых опытов.

Авторы не нашли ни амплификации генов, кодирующих рибосомальные РНК, ни повышения численности повторов у штаммов с активным гаметогенезом. Малая численность рРНК генов в ДНК плазмодиев (от 4 до 10 на геном) компенсируется активным считыванием этих генов в развивающемся гаметоците [68].

Рестрикционный анализ и ДНК/ДНК гибридизации ДНК, выделенной из возбудителя малярии обезьян *P. knowlesi*, показали наличие двух фракций ДНК с разной плотностью и разным содержанием Г + Ц пар, «тяжелая» ДНК — $1,698 \text{ г/г} \cdot \text{см}^{-3}$ и 37,8% Г + Ц и «легкая» ДНК — $1,697 \text{ г/г} \cdot \text{см}^{-3}$ и 19,4% Г + Ц. «Легкая» ДНК составляет не более 1% от выделенной ДНК (общий выход составил 0,019 пг на шизонт) и является, вероятно, митохондриальной ДНК [202].

Наличие у плазмодиев мозаично построенных генов с интронами и экзонами и механизма вырезания незначущих участков первичной иРНК с последующим соединением значущих при созревании иРНК (процессинг и сплайсинг) доказано на примере транскрипции 17S-рРНК и 25S-рРНК-генов у *Plasmodium lophurae* [190]. В гене, кодирующем 17S-рРНК, найдены незначущие вставки из 230 и 50 п. о. и в 25S-гене — две незначущие вставки из 240 и 110 п. о. Определены последовательности оснований в интронах и соседних сегментах экзонов и показано полное совпадение 42 последовательностей на 3'-конце рРНК у *P. lophurae* и *Xenopus laevis*. Особенно интересно совпадение последовательности оснований и пространственной структуры крупного интрона 25S-гена с терминальным отрезком транспозона « *copia* » *Drosophila melanogaster*. Терминальный отрезок интрона имеет следующее строение:

```
...AAAAAТАЦТТТЦТТААЦЦ 443
...ГАААГААТТАГГ 161
```

Такие терминальные комплементарные отрезки встречаются у подвижных элементов в ДНК эукариотов (А. А. Баев и др. [2, 3] и вирусов [22, 82]).

Структура додекапептида в эпитопе поверхностного антигена спорозоитов плазмодиев расшифрована в лаборатории В. Нуссенцвейга и показана видоспецифичность пептида. В то же время по обе стороны кодирующей полипептид последовательности в структуре кодирующего гена выявлены полярные участки, общие для семи видов плазмодиев. По мнению автора, соответствующие пептиды могли бы быть использованы для иммунизации сразу против нескольких видов возбудителей малярии.

В конце 1985 г. появилась работа Хольдера и сотр. [104], в которой полностью расшифрована последовательность нуклеотидов гена, кодирующего белок с молекулярной массой 195 кД, который является предшественником трех основных поверхностных антигенов мерозоитов *Plasmodium falciparum*. За метионинсодержащим стартовым кодоном следует запись сигнального пептида из 18 аминокислот и транслируемый участок из 4920 нуклеотидов. Содержание А—Т пар равно 76%. Кодированный пептид состоит из 1640 аминокислот с расчетным молекулярным весом в 188 049. Авторы считают целесообразным испытать полипептид в качестве антимерозоитного прививочного материала.

РНК И БЕЛКИ РИБОСОМ У ПЛАЗМОДИЕВ, ТРИПАНОСОМ И АМЕБ

Рибосомная РНК *P. falciparum* выделена и изучена впервые в 1981 г. Хайд и др. [108]. Полученное количество составляло 0,04 пг на клетку, рРНК состояла из двух фракций с мол. массой $1,49 \pm 0,09 \cdot 10^6$ и $0,78 \pm 0,02 \cdot 10^6$ кД; содержание Г + Ц пар равнялось 40%. Для сравнения приводим табл. 20 (данные взяты из разных источников).

Веца и Трегер [191] получили приблизительно те же значения для рРНК *P. falciparum*: мол. масса — $1,3 \cdot 10^6$; $0,7-0,9 \cdot 10^6$ и 36% Г + Ц оснований.

Рибосомы малярийных паразитов являются типичными рибосомами эукариотов по скорости седиментации субъединиц, ультраструктуре, чувствительности к ингибиторам в бесклеточных белоксинтезирующих системах. В то же время они отличаются от рибосом позвоночных хозяев по размерам рибосомной РНК, по стабильности, по нуклеотидному составу и размерам кодирующих генов.

Из крупной субъединицы рибосомы *P. berghei* выделено 35 белков с мол. массой от 12,1 до 42,6 кД (в больших субъединицах рибосом из печени крысы содержится 41 белок с мол. массой от 10,3 до 45,2 кД), из малой — 30 белков с мол. массой от 11,7 до 40,7 кД у плазмодия и тоже 30 белков с мол. массой от 9,2 до 37,5 кД у крысы. Рибосомные белки плазмодия и крысы отличались между собой по мол. массе и электрофоретической подвижности [145]. Ниже приводим число белковых фракций в рибосомах трех простейших:

	Большая субъединица	Малая субъединица
<i>P. berghei</i>	35 белковых фракций	30 белковых фракций
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	35—46 »	30—40 »
<i>Euglena gracilis</i>	37—43 »	33—36 »

Большая субъединица рибосомы плазмодия меньше соответствующей субъединицы рибосомы крысы ($2,30 \cdot 10^6$ и $2,76 \cdot 10^6$), напротив, малая субъединица рибосомы плазмодия больше гомологичной субъединицы крысы ($1,63 \cdot 10^6$ и $1,35 \cdot 10^6$).

Рибосомные РНК плазмодиев имеют размер $1,4-1,5 \cdot 10^6$ для рРНК более крупной субъединицы и $0,75-0,9 \cdot 10^6$ для рРНК более мелкой субъединицы. рРНК более крупной субъединицы распадаются на две части под действием эндогенной рибонуклеазы у *P. berghei* и *P. yoelii*, но не у *P. falciparum* и *P. knowlesi* [72]. Гены, кодирующие рРНК у *P. berghei*, расположены компактно с геном, кодирующим меньшую субъединицу, на 5'-конце. Эти кластеры встречаются четырежды в геноме плазмодия. Кроме указанных выше рРНК у *P. berghei*, имеются малые 5S и 5,8S-РНК, которые обычно встречаются у эукариот. Они содержат соответственно 120 и 150 нуклеотидов. Ген, кодирующий 5,8S-РНК, расположен в общем кластере (между генами, кодирующими субъединицы рибосомы). Считывание запускает один промотор, первичный транскрипт подвергается процессингу [72].

Цитоплазматическая рибосомная РНК (рРНК) у высших эукариот состоит, как правило, из двух тяжелых и двух легких цепей: 23—28S

Т а б л и ц а 20
Сравнение рибосомных РНК трех видов плазмодиев

Вид паразита	Мол. вес рРНК, кД	Содержание Г+Ц, %
<i>P. falciparum</i>	$1,49 \pm 0,09 \cdot 10^6 + 0,78 \pm 0,02 \cdot 10^6$	40
<i>P. berghei</i>	$1,5 \cdot 10^6 + 0,09 \cdot 10^6$	40,3
<i>P. knowlesi</i>	$1,21 \cdot 10^6 + 0,58 \cdot 10^6$	37

Т а б л и ц а 21
Размеры легких цепей рРНК трипаносоматид, по [61]

Цепь	Число нуклеотидов		
	<i>T. cruzi</i> [101]	<i>T. brucei</i> [66]	<i>C. fasciculata</i> [179]
S1	261 ± 3	215	238
S2	217 ± 3	190	193
S3	197 ± 3	180	176
S4	141 ± 2	125	135
S5	110 ± 2	115	120

и 18S с одной стороны и 5,8S и 5S с другой. У трипаносоматид и некоторых других организмов обнаружено более сложное строение рРНК. При электрофорезе в агарозе очищенной рРНК *T. cruzi* Кастро и др. [61] получили не две, а три тяжелые цепи: цепи α (1700 нуклеотидов), β (2000 нуклеотидов) и 18S-рРНК (2500 нуклеотидов). Первые две цепи образуются, видимо, за счет распада 24S-рРНК, третья — подобна 18S-фрагменту рРНК высших эукариот. Подобная трехкомпонентная структура тяжелой фракции рибосомной РНК обнаружена у следующих трипаносомид: *Crithidia luciliae* [161], *Leishmania donovani* [136], *C. oncopelti* и *C. fasciculata* [179], *Trypanosoma brucei* [66], а также у простейших *Acanthamoeba castellanii* [180] и *Tetrahymena pyriformis* [78], у многих первичноротых [112] и у *Drosophila melanogaster* [117]. Что касается легкой фракции рРНК, то вместо двух легких цепей 5,8S и 5S, характерных для эукариот, у трипаносоматид обнаружено пять легких цепей (табл. 21).

Из трофозоитов *Entamoeba invadens* выделены рибосомы с коэффициентами седиментации 77S, 53S и 26S. Рибосомные белки в основном имеют щелочной характер и отличаются от гомологичных белков *Escherichia coli*, *Tetrahymena pyriformis* и *Eimeria tenella*. В рибосомах *E. invadens* обнаружены тонкие нити, расщепляемые проназой, но не РНКазой [159]. Эти данные дополняют результаты, полученные ранее [38, 39], при выделении из трофозоитов *E. invadens* двух рибосомных РНК: одну с молекулярной массой $0,7 \cdot 10^6$ (18—20S), другую — $1,4 \cdot 10^6$ (24—28S).

У *E. histolytica* рибонуклеиновые кислоты охарактеризованы более подробно Албах и др. [29]. Применение экстракции гипертоническим раствором для подавления высокоактивной РНКазы позволило получить пять РНК: $1,31 \cdot 10^6$ (25S), $0,803 \cdot 10^6$ (17S), $4,0 \cdot 10^4$ (5S) и $2,5 \cdot 10^4$ (4S). 25S-РНК легко распадалась на две фракции в 17S и

16S с соответствующим мол. массой в $0,700 \cdot 10^6$ и $0,614 \cdot 10^6$ Д. Первые две РНК (возможно, и третья) являются, видимо, рибосомными РНК. От рРНК трипаносом рРНК амебы отличаются отсутствием минорных компонентов.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ И ТРАНСПОРТНЫЕ РНК ПЛАЗМОДИЕВ, ТРИПАНОСОМ И АМЕБ

Рибонуклеиновые кислоты выделены из трофозоитов и шизонтов *P. falciparum* в присутствии гепарина как ингибитора рибонуклеаз. Из паразитов, полученных из 50 мл эритроцитов (8—10% паразитемии), экстрагировано около 200 мкг РНК. Добавление хлористого лития позволило избавиться от тРНК. Трансляция иРНК осуществлена в бесклеточной ретикулоцитарной системе кролика. Показано, что добавление тРНК, выделенных из *P. lophurae* или *P. falciparum*, резко ускоряет трансляцию. В бесклеточной системе синтезировались полипептиды с молекулярным весом до 200 кДа (Валах [193]).

Информационные РНК, полученные из *P. lophurae* и *P. knowlesi*, также использованы для биосинтеза белков в бесклеточной системе, составленной из компонентов, выделенных из *P. lophurae*, цолисом, рН 5-фракции и транспортных РНК [194].

Как известно, высокомолекулярные белки плазмодиев могут играть роль антигенов: например, иммунизация мышей очищенным белком (мол. масса — 230 кД), выделенным из *P. yoelii*, защищает их от заражения этим паразитом [103]. Из *P. falciparum* выделен антиген (мол. масса 140 кД) и получены к нему моноклональные антитела, которые подавляют развитие паразита *in vitro* [157]; показано также, что белок с той же мол. массой (140 кДа) взаимодействует со сialogликопротеинами мембраны эритроцитов, и, вероятно, играет роль в прикреплении и проникновении плазмодия в эритроцит [118]. В надежде получить в нужном количестве биологически активный белок для разработки противомаларийной вакцины из ядерной ДНК *P. falciparum* выделен и охарактеризован ген, кодирующий синтез белка с мол. массой в 140 кД [151]; получен в бесклеточной системе соответствующий белок. К сожалению, он не обладал предполагаемой биологической активностью.

В клетках позвоночных известны три класса ДНК полимераз: полимеразы α , β , и γ , причем последняя рассматривается обычно как митохондриальная полимераз. Мало что известно о ДНК полимеразах паразитических простейших: у *T. brucei* найдены две полимеразы, похожие на полимеразы α и β высших эукариот. Из гомогената клеток *Crithidia oncopelti* также выделены и очищены две ДНК полимеразы, отличные от полимераз млекопитающих по изоэлектрической точке, молекулярному весу и чувствительности к ингибиторам. Более крупная полимераз (6,3S: 140 кД) оказалась чувствительной к афидиколину, более мелкая (3,5S: 45 кД) нечувствительна к этому ингибитору полимераз [105].

Из асинхронной культуры *P. falciparum* выделены и очищены РНК и показано, что отношение рибосомных к транспортным и информационным РНК не отличается от такового у высших эукариот: 82/14/5 [108]. Полученные иРНК ($1-2 \cdot 10^{-15}$ на клетку) легко транскрибируются в ли-

затах ретикулоцитов кролика при условии добавления избытка тРНК. Синтезируемые белки имеют массу от 15 до 230 кД, использованные поли (A⁺) РНК — размеры до 10—12 т. п. о. при среднем значении — 1,2 т. п. о. Мол. масса наиболее крупной белковой фракции (230 кД) соответствует размерам наиболее крупных иРНК, если учесть, что до 50% составляют нетранскрибируемые отрезки. Очень интересно, что состав иРНК и, следовательно, синтезируемых белков зависит от стадии развития кровепаразита: из трофозоитов выделены поли (A⁺) РНК, кодирующие синтез белков до 93 кД, тогда как в шизонтах идет дополнительный интенсивный синтез более крупных белков (93—230 кД). Применяя обратную транскриптазу получены смысловые участки комплементарной ДНК (кДНК), которые клонированы в фаге λ, и получен банк кДНК-генов [109].

При сравнении белков, синтезируемых резистентным к пириметамину штаммом *P. falciparum* и чувствительным штаммом, не найдено различий в зоне фракций в 70 кД, что соответствует мол. массе фермента субъединиц дегидрофолатредуктазы, на который направлено действие пириметамин [109].

При развитии *P. falciparum* в эритроцитах человека происходят резкие функциональные и морфологические нарушения эритроцитарных мембран. В частности, иногда наблюдается возникновение выступов на мембране, в образовании которых участвует специфический белок с мол. массой 80 кД, содержащий большое количество гистидина и пролина, но лишенный метионина и лейцина. Наличие выступов на поверхности пораженных эритроцитов связывают с высокой вирулентностью штамма возбудителя тропической малярии: эритроциты с выступами прилипают к эндотелию вен, избегают лимфатических узлов и селезенки, где разрушаются инвазированные клетки, и могут вызвать церебральную форму малярии. Изучение биосинтеза белка, образующего выступы на пораженных эритроцитах, представляет большой интерес для паразитологов. Валлах и др. [195] использовали пентагистидиновый олигонуклеотид для выделения иРНК (3500 п. о.), кодирующей синтез «белка выступов», и получили из банка кДНК ген, ответственный за синтез данного белка. Смысловой отрезок гена содержал 55% Г + Ц пар, ген трижды повторялся в геноме. Сравнение штаммов, образующих и не образующих выступы на эритроцитах, показало, что и те и другие имеют тот же ген в тех же повторностях, однако у образующих выступы штаммов происходит транскрипция гена, у необразующих штаммов — не происходит.

ГЕНОМ ГЕЛЬМИНТОВ

Строение генома у гельминтов мало изучено; много меньше, чем у паразитических простейших. По отдельным видам гельминтов появляются публикации, но они фрагментарны, посвящены отдельным вопросам и трудно поддаются обобщению.

У паразитирующих в организме человека шистосом *Shistosoma haematobium*, *S. mansoni* и *S. japonicum* имеется восемь пар хромосом [170], причем одна пара хромосом гетерологична у самки [36, 70]. ДНК шистосом была впервые выделена в 1984 г., определено соотно-

шение А — Т/Г — Ц и проведено более подробное изучение строения ДНК *S. mansoni*. В 1982 г. рестриктировали ДНК и провели блот-гибридизацию по Саузерну [175, 177]. Фрагменты ДНК клонированы в бактериальной плазмиде, и рекомбинантные плазмиды встроены в *E. coli*. При определении состава оснований не выявлено метилированных оснований (в пределах чувствительности метода). По своему размеру геном *S. mansoni* значительно меньше генома млекопитающих, но больше генома губок:

Геном	
млекопитающих	$5,5 \cdot 10^9$ п. о.
шистосомы	$2,7 \cdot 10^8$ п. о. (0,26 пг)
губок	$1,0 \cdot 10^8$ п. о.

Кинетика ренатурации показала, что в ДНК шистосом имеется несколько фракций: фракция высоких повторов — 4—8%, фракция умеренных повторов — 35—40% и фракция уникальных последовательностей и единичных повторов — 55—60%. Во фракции умеренных повторов содержатся гены, кодирующие рРНК; они повторяются до тысячи раз, что значительно меньше, чем у амфибий (до 20 тыс. генов на гаплоидный геном). Отсутствие метилированного цитозина удивительно, поскольку метилированные основания найдены у всех изученных эукариотов [175].

Из банка комплементарной ДНК *S. mansoni* получено два гена, кодирующие синтез полипептидов, осаждаемых иммунной сывороткой мышей. Гены размером 400 и 800 п. о. были встроены, как обычно, в ген β -галактозидазы. При Вестерн-блот анализе гибридных полипептидов выявлены антигены в 70 и 27 кД. Первый является антигеном яиц, церкарий, самок и самцов шистосом, второй — яиц, церкарий, шистосомул и взрослых червей. Ленар с сотр. [131] сравнили полученные гибридные полипептиды с нативными антигенами, нашли относительно малую биологическую активность гибридных полипептидов, что связано, по их мнению, с тем, что третичная структура полипептида нарушается, когда он встроен в белковую макромолекулу β -галактозидазы.

Кординглей и сотрудники [66] также выделили из банка комплементарной ДНК *S. mansoni* несколько структурных генов, кодирующих белки, обладающие антигенными свойствами. Пригодность этих белков для иммунодиагностики шистосомоза проверяется.

Разработан относительно простой метод выделения нуклеиновых кислот из протосколексов *E. granulosus* и *E. multilocularis* с общим выходом 1,5 мг ДНК и 0,75 тотальной РНК из 1 мл отцентрифугированных протосколексов. Выделенная и очищенная ДНК разделялась при центрифугировании в градиенте плотности на две фракции, которые не отличались одна от другой при рестрикционном анализе и блот-гибридизации по Саузерну. Сателлитных ДНК не обнаружено. Не найдено различий между ДНК *E. granulosus* и *E. multilocularis*. Выделенная РНК подразделялась при электрофорезе на две фракции с мол. весом 800 и 1600 тыс. Трансляция тотальной РНК в лизате ретикулоцитов кролика позволила получить многочисленные полипептиды с мол. весом от 10

до 205 тыс., большая часть которых осаждалась иммунной сывороткой от больного эхинококкозом. Перспективным для иммунодиагностики по чувствительности и избирательности оказался полипептид с мол. весом в 14 тыс. [141].

Двунитевая ДНК, комплементарная мРНК 28-дневных личинок *Taenia taeniaeformis*, рестриктирована и встроена в β -галактозидазный ген бактериофага. Рекомбинантный фаг включен в *E. coli*. Кроличья антисыворотка взята для выделения рекомбинантных колоний, кодирующих антигены *T. taeniaeformis*. Получены рекомбинантные молекулы β -галактозидазы со встроенными в них дополнительными цепями в 20 и 50 кД. Боутель и др. [57] считают, что им удалось получить антиген в 70 кД, идентичный нативному антигену гельминта.

Рибосомные РНК-гены *S. mansoni* выделены блот-гибридизацией по Саузерну из банка генов, изучены их структура и положение на нити ДНК [122]. рРНК-гены высокоповторны, собраны в кластерах. В более крупном 28S-рРНК-гене имеется вставка, вырезаемая при процессинге.

Выделению РНК гельминтов, трансляции в бесклеточной системе и выявлению полипептидов, обладающих антигенными свойствами, посвящено большое число исследований, выполненных в последние годы.

Пирс и др. [160] вводили очищенную РНК из половозрелых *S. mansoni* в ооциты *Xenopus laevis* и среди продуктов трансляции чужеродных РНК обнаружили антигены, осаждаемые сыворотками зараженных мышей, больных людей и иммунизированных кроликов. Всего обнаружено более 20 антигенов с мол. весом от 14 до 150 кД, причем оказалось, что разные сыворотки распознают разные полипептиды. Авторы считают, что трансляция РНК гельминтов в ооцитах *Xenopus laevis* имеет преимущества перед трансляцией в бесклеточных системах, поскольку транслируемые полипептиды гликозилируются.

Гроз и сотр. [93] выделили иРНК из церкарий, искусственно полученных шистосомул и половозрелых *S. mansoni*, провели трансляцию в лизате ретикулоцитов кролика, электрофоретически разделили полипептиды и провели их взаимодействие с иммунными сыворотками от людей и животных. Обнаружены многочисленные антигены (> 20), из которых лишь меньшая часть специфична для отдельных стадий развития шистосомы. Сыворотка больных с хронической формой инвазии осаждала больше продуктов трансляции РНК церкарий, чем РНК взрослых шистосом.

Исходя из иРНК, выделенной из яиц и взрослых *S. mansoni*, Тейлор и др. [186] заложил банк клонов комплементарной ДНК. Ими выделен антиген, специфический для стадии развития. Информационные РНК из яиц и половозрелых шистосом транслированы в лизате ретикулоцитов кролика. Пять из полученных полипептидов специфически взаимодействуют с сывороткой кролика гипериммунной к молодым шистосомулам. Это показывает, что отдельные поверхностные кутикулярные белки шистосомул синтезируются и на других стадиях жизненного цикла.

Из молодых и взрослых *Fasciola hepatica* выделены РНК (выход 1—2 мг на 1 г сырого веса), очищена иРНК и транслирована в лизате

ретикулоцитов кролика [111]. иРНК связывается на олиго-(dT)-целлюлозе, что показывает, что, подобно иРНК всех эукариотов, иРНК фасциолы несет на 3'-конце полиадениловый участок. Электрофорез в геле выявил лишь небольшие различия транскрибированных полипептидов, полученных с иРНК молодых и взрослых гельминтов.

Подобное исследование выполнено с иРНК *Taenia crassiceps* [28]. Значительный интерес для диагностики токсокароза представляет методически аналогичная работа на личинке *Toxocara canis* [84]. Выход составил 300 мкг тотальной РНК из 1 мл отцентрифугированных личинок токсокар и 60 мкг поли (A⁺) иРНК из 300 мкг тотальной РНК. Трансляция, разделение полученных полипептидов и их преципитация иммунной сывороткой выполнены, как обычно. Выделено три антигенно-компетентных полипептида (22, 27 и 47 кД), специфически связываемых IgG антителами сыворотки больного. Особенно быстро и прочно связывается 27 кД полипептид, который авторы рассматривают как белковый компонент 35 кД гликопротеида, обладающего антигенными свойствами, выделенного из культуральной среды для личинок *T. canis* [183] (выход — 5 мг из 10⁷ личинок).

Ферменты нуклеинового обмена мало изучены у гельминтов. Рибонуклеазы найдены у *Trichuris muris* [148], *A. suum* [150] и *Hymenolepis diminuta* [155]. Из экскреторной железы *Stephanurus dentatus* получена и охарактеризована рибонуклеаза, независимая от двухвалентных ионов, расщепляющая РНК до 3'-моонуклеотидов [165]. Фермент гельминта оказался эндорибонуклеазой, подобной аналогичным ферментам других эукариотов.

* * *

Чтобы оценить результаты отдельных исследований, приведенные выше, и сравнить геном эндопаразитов с геномом их хозяев, мы воспользуемся обобщающими таблицами [42, 51, 79]. Таблицы несколько устарели, требуют дополнений и уточнений некоторых цифр, но в целом эти таблицы дают вполне определенное общее представление о геноме паразитических простейших и гельминтов.

Поскольку сравнивать придется с геномом млекопитающих, примем для него следующие условные показатели: содержание ДНК в клетке — 5—6 пг; размер генома 10·10¹¹ Д (мол. масса ДНК); ДНК делится на основную и сателлитную; строение ДНК: содержание Г—Ц пар—38—40 мол. % (высокоповторяющихся последовательностей — 10%; среднеповторяющихся последовательностей (10³—10⁴) — 20%; уникальных последовательностей — 70%). Строение митохондриальной ДНК: содержание в клетке — 0,01 пг; мол. масса — 2·10⁹ Д; длина окружности — 5—6 мкм; содержание Г—Ц пар — 44 мол. %. Рибосомная РНК (70—80% от всей РНК клетки): содержание Г—Ц пар 60 мол. %. Транспортная РНК (10—15% от всей РНК): содержание Г—Ц пар 58 мол. %. Информационная РНК (5—10% от всей РНК): мол. масса — 5·10⁴—5·10⁶ Д, на 3'-конце поли (A). (табл. 22).

Ядерная ДНК эндопаразитов. По содержанию ДНК в ядре эндопаразиты отличаются от млекопитающих, но не отличаются от свободноживущих беспозвоночных, в ядрах которых содержится ДНК от 0,1 до

Таблица 22

Размеры генома у эндопаразитов (по обобщенным данным)

Вид паразита	ДНК в ядре, пг	Вид паразита	ДНК в ядре, пг
Простейшие			
<i>Trypanosoma lewisi</i>	0,05	<i>Leishmania tarentolae</i>	0,09
» <i>cruzi</i>	0,17	<i>Crithidia fasciculata</i>	0,14
<i>Plasmodium falciparum</i>	0,13	<i>Toxoplasma gondii</i>	0,1
» <i>berghei</i>	0,20	<i>Trichomonas vaginalis</i>	0,53
» <i>knowlesi</i>	0,15	<i>Entamoeba histolytica</i>	0,45
» <i>lophurae</i>	0,13	» <i>invadens</i>	0,37
Гельминты			
<i>Ascaris lumbricoides</i>		<i>Parascaris equorum</i>	
половые клетки	0,32	половые клетки	1,2—2,1
соматические клетки	0,25	соматические клетки	0,25
<i>Schistosoma mansoni</i>	0,26		

Таблица 23

Особенности ДНК эндопаразитических нематод и цестод, по [42]

Вид паразита	Мол. масса, Д	Общая масса уникальных генов, усл. ед.	% высоких повторов
Нематоды			
эндопаразиты			
<i>A. lumbricoides</i>	1,5—2,8·10 ¹¹	15	14
<i>T. spiralis</i>	1,6·10 ¹¹	16	42
свободноживущие			
<i>Panagrellus redivivus</i>	0,46·10 ¹¹	4,6	46
<i>Caenorhabditis briggsae</i>	0,81·10 ¹¹	8,1	9
Цестоды			
эндопаразит	9,2·10 ¹⁰	9,2	16
<i>H. diminuta</i>			
свободноживущий вид			
<i>Ongesia tigrina</i>	4,6·10 ¹⁰	4,6	50

3 пг. Число сателлитных ДНК колеблется от 0 у шистосом до 4 у аскариды и карликового цепня.

Отметим интересную особенность аскарид: в раннем эмбриогенезе при первых клеточных делениях часть ДНК выделяется из хромосом в цитоплазму. Потеря ДНК составляет 30—33% у *A. lumbricoides* и 80% — у *P. equorum*, но наблюдается она только в линии соматических клеток, половые клетки сохраняют полностью свою ДНК. Связано ли это с уменьшением полиплоидии, удалением высокоповторенных участков и смысловых генов, неизвестно. У нематод и акантоцефалов соматические клетки не делятся, и можно было бы предположить, что частичная потеря ДНК в начале эмбриогенеза специфична для этих гельминтов, если бы то же явление не было описано у свободноживущих беспозвоночных

Таблица 24
Особенности ДНК эндопаразитов

Вид паразита	Плотность, г/см ³	Г—Ц пар, мол. %
Простейшие жгутиковые		
<i>Trypanosoma vivax</i>	1,713	54
» <i>congolese</i>	1,708	49
» <i>cruzi</i>	1,709	50
» <i>lewisi</i>	1,706	47
<i>Leishmania tarentolae</i>	1,716	57
» <i>mexicana</i>	1,718	59,2
» <i>hertigi</i>	1,714	55,1
» <i>aethiopica</i>	1,719	60,3
<i>Crithidia fasciculata</i>	1,717	58
Другие простейшие		
<i>Plasmodium falciparum</i>	1,697	37
» <i>knowlesi</i>	1,697	37
» <i>berghei</i>	1,683	24
»	1,683	24
» <i>gallinaceum</i>	1,678	18
» <i>lophurae</i>	1,680	20
<i>Babesia</i> spp.	1,698	38,8
<i>Anthemiosoma garnham</i>	1,707	48
<i>Eimeria tenella</i>	1,682	41
<i>Toxoplasma gondii</i>	1,712	53
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,689	29
» <i>gallinae</i>	1,693	34
<i>Entamoeba histolytica</i>	1,691	31,6
» <i>invadens</i>	1,691	33,4
<i>Acanthamoeba castellani</i>	1,717	58
Гельминты		
<i>A. lumbricoides</i>		
половые клетки	1,700	40,8
соматические клетки	1,700	40,8
<i>P. equorum</i>		
половые клетки	1,700	40,8
соматические клетки	1,700	40,8
<i>T. spiralis</i>	1,695	35,7
<i>H. diminuta</i>	1,696	36,7
<i>Shistosoma mansoni</i>	1,694	34,3
» <i>haematobium</i>	1,694	
» <i>japonicum</i>	1,692	
<i>F. hepatica</i>	—	50,7
<i>Gyrocotyle</i> spp.	—	36—46

(например, копепоид *Cyclops furcifer* теряет до 70% ДНК на первых стадиях развития).

В табл. 23 сравниваются мол. массы ДНК эндопаразитических нематод и цестод с мол. массами ДНК близких свободноживущих видов.

Из табл. 23 видно, что переход к эндопаразитизму не только не сопровождался упрощением генома, а, напротив, вызвал увеличение размера генома и изменение соотношения повторных и уникальных участков ДНК в пользу уникальных. Конечно, нельзя делать выводы на основании единичных фактов, можно только заметить, что полученные данные

не противоречат предположению, что при эндопаразитизме и сложном цикле развития в геноме паразита содержится не меньший объем информации, чем при свободном существовании.

В табл. 24, составленной с небольшим сокращением из двух таблиц [51], приводятся плотности ДНК эндопаразитов и содержание Г—Ц пар (в %).

Из табл. 24 видно, что по содержанию Г—Ц пар в ядерной ДНК эндопаразитические простейшие не отличаются от свободноживущих простейших, у которых этот показатель колеблется от 15 до 65%. А приведенные в таблице гельминты близки к свободноживущим беспозвоночным (30—40% Г—Ц). В этом случае переход к эндопаразитизму не привел к заметным изменениям.

Баррет [42] приводит несколько другие значения % Г—Ц пар для 17 гельминтов (от 34 до 61%), однако это не меняет общий вывод.

Митохондриальная и кинетопластная ДНК эндопаразитов. Митохондриальная ДНК и соответствующая ей кинетопластная ДНК у жгутиковых представляет особый интерес у эндопаразитов. По многим признакам можно думать, что здесь имеется не только структурное, но и функциональное отличие от гомологичной системы хозяина.

В яйцах аскариды мДНК состоит из колец размером 4,85 мкм и содержится в количестве $14,8 \cdot 10^{-2}$ пг/клетка, но в клетках мышц половозрелой аскариды содержание мДНК падает почти на порядок до $1,8 \cdot 10^{-2}$ пг/клетка. При этом размер кольца мДНК немного увеличивается (4,95), процентное содержание Г—Ц не меняется (31%).

На отдельных стадиях цикла развития эндопаразитов наблюдается амплификация мДНК (у трипаносом соответственно кпДНК), когда усиливаются метаболические пути, связанные с митохондриями. Об этом будет подробно сказано в следующих главах, здесь приведем в качестве примера колебания отношения ядерных ДНК/кпДНК у *T. cruzi* [95].

Форма Т.	ядДНК, %	мДНК, %
кровеная	63	37
тканевая	75	25
В культуре	80	20

В табл. 25 [51, с дополнениями из 58 и др.] приводятся некоторые особенности мДНК и кпДНК эндопаразитов.

В более поздней работе [79] приводятся другие цифры для кпДНК трипаносом и даются размеры колец. (табл. 26).

Последовательность нуклеотидов определена полностью у двух штаммов *T. brucei*, их миникольца содержали 983 и 1004 п. о. [79]:

Штамм с миникольцами (в п. о.)	А	Т	Г	Ц (в %)
Из 1004	37,8	34,8	21,2	6,2
Из 983	37,4	33,8	20,1	8,6

Несмотря на большое число работ, посвященных выяснению роли миникольца, на долю которых падает от 80 до 97% кпДНК, их функция остается загадочной. Миникольца выделяют, клонируют, искусственно размножают. Определена последовательность оснований постоянной части миникольца (1/4 окружности), показано удивительное непостоянство ва-

Таблица 25
Особенности мДНК и кпДНК эндопаразитов

Вид паразита	Строение	Размер, мкм	Масса, кД
Митохондриальная ДНК эндопаразитов			
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	Кольцевая	12,8	26,5
<i>P. lophurae</i>	»	10,3	20,2
<i>A. lumbricoides</i>	»	4,85	14,8
<i>H. diminuta</i>	»	4,8	9,4
Вид паразита	Миникольца		Максикольца
	размер, мкм	масса 10^{-6} кД/п.о.	масса, 10^{-6} кД
Кинетопластная ДНК эндопаразитов			
<i>Blastocrithidia culicis</i>	12—15	0,89/1490	3,0—6,4
<i>C. fasciculata</i>	15—20	1,43/2390	
<i>Schizotrypanum</i> spp.		0,91/500	2,7—7,0
<i>T. cruzi</i>	10—15	0,91/500	
<i>T. mega</i>	12—15	1,49/2490	
<i>L. tarentolae</i>	8—10	0,65/1084	
<i>T. b. brucei</i>	4—6	0,56/940	1,4—12,0
<i>T. b. rhodesiense</i>	4—6	0,56/940	2,1

Таблица 26
Особенности кпДНК трипаносом, по [79]

Вид паразита	Мол. масса кинетопласта, 10^{-10} кД	Максикольца, тп. о.	Миникольца, тп. о.	Варианты структур миникольца
<i>C. fasciculata</i>	0,72	38	2,5	10—20
<i>C. luciliae</i>	2,2	38	2,5	10—20
<i>C. acanthocephali</i>	4,1	—	2,5	—
<i>T. brucei</i>	0,4	20—22	1,0	300
<i>T. equiperdum</i>	0,36	23	1,0	1
<i>T. mega</i>	—	26	2,3	70
<i>T. cruzi</i>	2,1	33	1,44	20
<i>L. tarentolae</i>	0,6	31	0,87	3
<i>P. davidi</i>	—	39	1,06	10

риабельной части, выяснен механизм размножения миникольца при помощи фермента топоизомеразы, но биологическое назначение этой удивительной структуры остается непонятым. Известно только, что миникольца несут гены, кодирующие синтез отдельных белков и дыхательных ферментов, и являются аналогами мДНК. Их функциональная активность у эндопаразитов меняется в зависимости от стадии цикла развития, причем в некоторых случаях может иметь место полное выпадение отдельных метаболических цепочек на определенных стадиях, т. е. то, что Фербер назвал «эпигенетической» потерей функции.

РНК эндопаразитов. В предыдущих разделах, посвященных геномам трипаносом и плазмодиев, подробно рассказано о работах по выделению и изучению рРНК, тРНК и иРНК у эндопаразитических простейших. Приведем некоторые данные о РНК гельминтов [42].

Таблица 27

Особенности РНК гельминтов

Вид паразита	Содержание, % от общей РНК	Содержание Г—Ц пар, мол. %
<i>A. lumbricoides</i> (яйца)	рРНК 73	52
То же	тРНК 10—15	64
<i>E. granulosus</i> (протосколексы)	рРНК 70—80	50—54
То же	тРНК 10—15	59

У гельминтов описаны типичные для эукариотов рибосомы и получены следующие значения для РНК (табл. 27).

Типичные для эукариотов тРНК и иРНК выделены из протосколексов *E. granulosus*, личиночных стадий *T. crassiceps*, *H. diminuta* и яиц *A. lumbricoides*.

Ферменты нуклеинового обмена у эндопаразитов остаются практически неизученными. Отдельные работы, посвященные рибонуклеазам, приведены в предыдущих разделах. У *A. lumbricoides* обнаружена ДНК-независимая полинуклеотид-полимераза, подобная ферменту прокариотов.

В целом геномы эндопаразитических простейших и гельминтов подобны геномам всех эукариотов, включая мозаичность строения генов. Имеются различия, которые пока трудно трактовать как адаптивные к эндопаразитизму. Накопившиеся данные показывают, что при переходе простейших и гельминтов к эндопаразитизму не произошло упрощения и деградации строения и функции генома.

ОБМЕН ПУРИНОВ И ПИРИМИДИНОВ У ЭНДОПАРАЗИТОВ

Пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды — предшественники ДНК и РНК, но, кроме того, они играют важную роль в обмене углеводов и энергии, входят в состав коэнзимов, являются модуляторами ферментов гликолиза, трикарбонового цикла, синтеза аминокислот.

Пути синтеза и распада пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов изучены у позвоночных, у которых имеются активные пути синтеза *de novo* и «сберегающие» пути, позволяющие реиспользовать для новых синтезов продукты полураспада нуклеотидов. Обмен пуринов и пиримидинов у паразитов менее изучен, однако в последние годы появляется довольно много научных статей на эту тему; это объясняется тем, что были обнаружены различия между путями обмена хозяев и эндопаразитов и возникла надежда использовать для специфической химиотерапии эти различия, в частности избирательную чувствительность ферментов к аллопуринолу (пиразолопиримидинам).

Обмен пуринов. В клетках млекопитающих, за исключением отдельных клеток (как лейкоцитов, эритроцитов, клеток костного мозга), происходит интенсивный синтез пуринов и их производных. Из глутамина, глицина, аспарагина, формиата и углекислоты в серии последовательных энзиматических реакций синтезируется при участии производных тетрагидрофолата гетероцикл инозина. На последнем этапе синтеза 5-фос-

форибозил-5-формаидоимидазол-4-карбоксамид под действием ИМФ-циклогидролазы превращается в инозинмонофосфат (ИМФ). Из ИМФ синтезируется аденозинмонофосфат (АМФ) через промежуточное соединение (аденилосукцинат), а также ксантозинфосфат (КМФ) и гуанозинфосфат (ГМФ). При дальнейшем фосфорилировании образуются соответствующие нуклеозидтрифосфаты.

Катаболизм пуринов у позвоночных происходит по цепочке последовательных превращений: АМФ—ИМФ—гипоксантин—ксантин—урат—аллантоин—аллантоиновая кислота. Последняя распадается на мочевину и глиоксиловую кислоту. У человека конечным, выводимым из организма, продуктом является урат, у приматов — аллантоин, у большинства рыб и амфибий — мочевина (мочевина, выводимая из организма человека, синтезируется из аммиака и углекислоты).

Помимо путей синтеза и распада, у млекопитающих имеются пути реиспользования или сбережения пуринов: например, гипоксантин, образованный при катаболизме пуринов, не окисляется дальше в мочевую кислоту, а превращается в инозин, инозинфосфат и далее в адениловые нуклеотиды.

Пуриновые основания и нуклеозиды постоянно образуются в организме млекопитающих при распаде нуклеотидов. В сыворотке крови человека содержится, например, до $15 \cdot 10^{-6}$ М гипоксантина, $5 \cdot 10^{-6}$ М инозина, $1-5 \cdot 10^{-6}$ М ксантина и $1 \cdot 10^{-7}$ аденозина. Из этого «общего котла» черпают необходимые пуриновые нуклеозиды те клетки, которые лишены путей биосинтеза пуриновых оснований.

Ферменты биосинтеза пуринов у эндопаразитов систематически не изучены, и имеются лишь сообщения об обнаружении некоторых энзиматических активностей у отдельных видов, как, например, наличие двух последних ферментов пути синтеза ИМФ у *T. brucei gambiense* [83], однако широко использованы меченые предшественники (серин, глицин и формиат) для выявления включения радиоактивных атомов в нуклеотиды и обнаружения таким образом наличия у паразитов путей биосинтеза пуринов. В табл. 28 приводятся данные о биосинтезе пуринов эндопаразитическими простейшими и некоторыми гельминтами (по включению меченых серина, глицина и формиата).

Приведенных в таблице данных достаточно, чтобы сделать вывод о том, что эндопаразитические простейшие лишены способности синтезировать пурины и полностью зависят от хозяина в своем обеспечении этими биологически важными соединениями. Единственным исключением можно было бы считать *S. deanei*, у которой было обнаружено включение предшественников в нуклеотиды, если бы не было вскоре доказано, что биосинтез пуринов зависит от наличия в этом простейшем эндосимбиотических включений [98]. Что касается эндопаразитических гельминтов, то у них вопрос о биосинтезе пуринов остается открытым, поскольку у двух из четырех изученных видов обнаружен очень слабый синтез (метка содержалась в 1—4% синтезированных пуринов), а у одного вида синтез *de novo* отсутствовал [102]. Необходимо изучить другие виды облигатных эндопаразитов, прежде чем можно будет утверждать, что гельминты потеряли (или сохранили) пути биосинтеза пуринов при переходе к эндопаразитизму.

Т а б л и ц а 28
Биосинтез пуринов у эндопаразитов (по разным источникам)

Вид	Активность	Вид	Актив- ность
Простейшие			
<i>Trypanosoma cruzi</i>	—	<i>Trichomonas vaginalis</i>	—
<i>T. equiperdum</i>	—	<i>Tritrichomonas foetus</i>	—
<i>L. donovani</i>	—	<i>Crithidia deanei</i>	—
<i>L. braziliensis</i>	—	<i>Strigomonas oncopelti</i>	—
<i>T. rhodesiense</i>	—	<i>Plasmodium berghei</i>	—
<i>T. b. gambiense</i>	—	<i>P. lophurae</i>	—
<i>T. mega</i>	—	<i>P. knowlesi</i>	—
		<i>P. chabaudi</i>	—
		<i>P. falciparum</i>	—
		<i>Leishmania mexicana</i>	—
Гельминты			
<i>Schistosoma mansoni</i>	—		
<i>Metastrongylus apri</i>	+ (слабая актив- ность)		
<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	+ То же		
<i>Mesocercoides tetrahyridia</i>	+		

Примечание. Плюс (+) — наличие активности, минус (—) — отсутствие активности.

Потеря способности синтезировать пурины из простых предшественников является, видимо, адаптивным признаком, поскольку синтез пуринов сохранен у свободноживущих гетеротрофных сапрофитов. Если это так, то нарушение обмена пуринов должно быть более или менее выражено у отдельных таксонов в зависимости от их более или менее далеко зашедшей адаптации к эндопаразитизму. Несомненный интерес представляет сравнительное изучение особенностей обмена пуринов у эндопаразитических простейших. Из практических соображений наиболее изученными являются представители родов *Leishmania* и *Trypanosoma*, и им посвящены наиболее полные обзоры, опубликованные в последние годы [102, 150].

Обмен пуринов у эндопаразитов из семейства *Trypanosomatidae* характеризуется хорошо развитыми путями сбережения пуринов при практически полном отсутствии синтеза из простых предшественников. Взаимное превращение пуринов и их нуклеозидов у трипаносоматид объясняет способность многих видов расти в среде, содержащей лишь одно из пуриновых оснований или соответствующий нуклеозид. Имеются, однако, четко выраженные предпочтения: так, промастиготы *Leishmania braziliensis* и *L. donovani* неохотно используют инозин и в отсутствии других пуринов используют инозин только после двухдневной лог-фазы [142]. У других видов иные предпочтения [46], причем, как правило, меченые аденин и гипоксантин включаются в адениновые нуклеотиды, а радиоактивные гуанин и ксантин — в гуаниновые нуклеотиды. В рис. 6 представлены особенности путей сбережения пуринов у трипаносоматид (по [102], с изменениями).

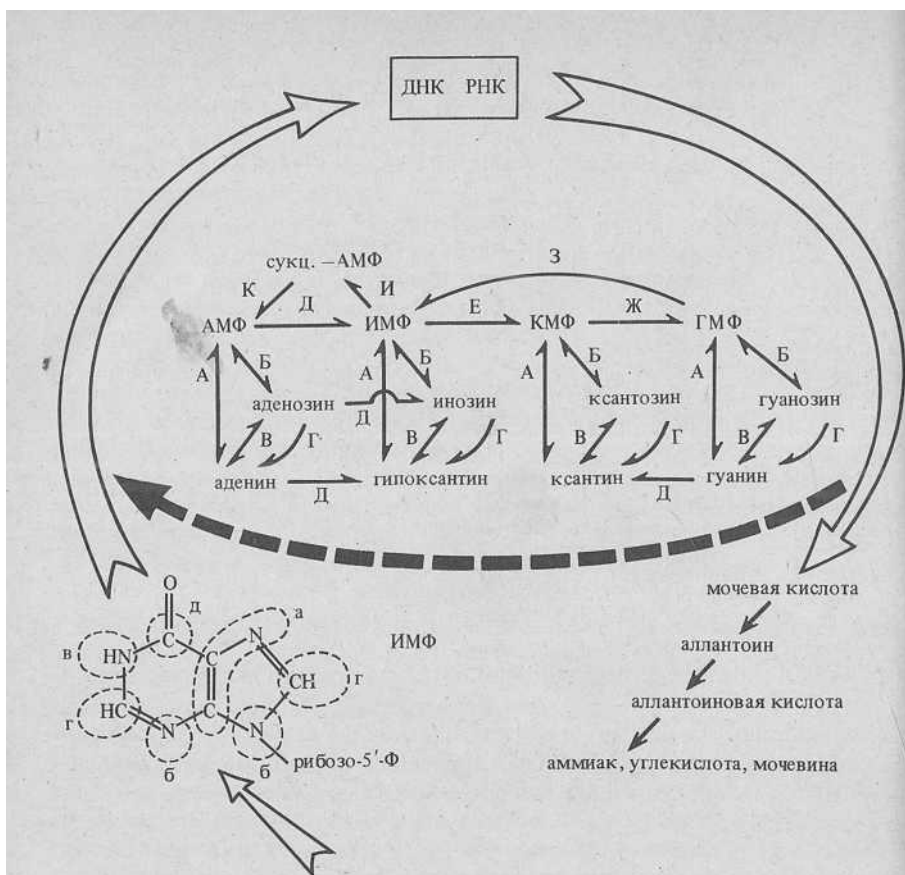


Рис. 6. Пути сбережения пуринов

Предшественники: а — глицин; б — глутамин; в — аспарагин; г — формат; д — углекислота. А — фосфорибозилтрансферазы; Б — киназы; В — фосфорилазы; Г — нулеозидазы; Д — деаминазы; Е — дегидрогеназа ИМФ; Ж — синтетаза ГМФ; З — редуктаза ГМФ; И — синтетаза аденилсукцината; К — лиаза аденилсукцината

Пути сбережения пуринов у трипаносоматид и млекопитающих заметно отличаются между собой:

в обмене пуринов у трипаносоматид они играют основную роль, у млекопитающих — второстепенную;

фосфо-рибозилтрансферазы трипаносоматид локализованы в гликосомах, не угнетаются мононуклеотидами. У лейшманий найдена ксантин-Ф-рибозилтрансфераза (у млекопитающих нет такого фермента);

аденозин и гуанозин-фосфорилазы имеются у одних видов (*T. cruzi*, *L. mexicana amazoniensis*), отсутствуют у других (*T. vivax*, *T. brucei*). Инозин фосфорилаза есть у млекопитающих и отсутствует у простейших;

нуклеозидазы отсутствуют у млекопитающих, но активны и разнообразны у трипаносоматид;

деаминазы трипаносоматид и млекопитающих различаются по субстратной специфичности и свойствам;

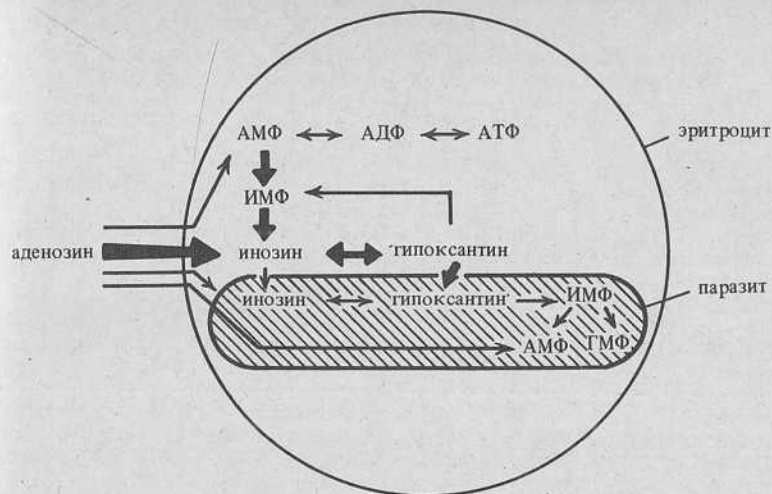


Рис. 7. Обмен пуринов в эритроците, инвазированном *Plasmodium chabaudi*, по [205]

наиболее интересной и необычной особенностью ферментов сбережения пуринов у трипаносоматид является способность этих ферментов метаболизировать аналог естественного субстрата — аллацуринол и его производные — вплоть до включений в ДНК.

у *Tritrichomonas foetus*, паразитирующего у крупного рогатого скота и приспособленного к анаэробным условиям, отсутствуют митохондрии, но имеются активные гидрогеносомы; также обнаружены пути сбережения пуринов, близкие к описанным выше путям [197]. Интересное исследование выполнено на *Trichomonas vaginalis*: из более 60 испытанных обнаружено и определено 43 активных энзима, участвующих в обмене пуринов и пиримидинов. Показаны различия в путях обмена хозяина и паразита [144, 199].

У мерозоитов и спорозоитов *Eimeria tenella*, кишечной кокцидии кур, изучены пути сбережения пуринов и определены активности ферментов [129, 196]. Измеренные на цельных паразитах методом включения радиометки, активности синтеза РНК и путей сбережения пуринов оказались намного выше у мерозоитов, чем у спорозоитов, что коррелирует с более интенсивным обменом мерозоитов и их высокой активностью.

Особый интерес представляют исследования обмена пуриновых нуклеотидов у плазмодиев, внутриэритроцитарные стадии которых развиваются в зрелых эритроцитах, т. е. безъядерных клетках, лишенных способности синтезировать пурины *de novo*. Это ставит эндопаразита и клетку хозяина в необычные условия конкуренции за поступающие извне пурины, необходимые плазмодию для синтеза ДНК и РНК в процессе размножения и не менее необходимые для энергетических биосистем эритроцита, обеспечивающих цельность и сохранность клетки.

Пути сбережения пуринов имеются у *P. berghei*, *P. lophurae*, *P. gallinaceum*, *P. vinckei*, *P. chabaudi*, *P. falciparum*. Ямада и Шерман [204,

Таблица 29

Активность ферментов обмена пуринов и пиримидинов
в трофозонтах *P. falciparum* (в нМ/ч/мг белка), по [162]

Фермент	Пара- зит	Эрит- роцит	Фермент	Пара- зит	Эрит- роцит
Гипоксантин—гуанин фосфорибозилтранс- фераза			Оротат-Ф-рибозил- трансфераза	683	0,2
с гипоксантином	5 250	83	ОМФ-декарбоксила- за УМФ—ЦМФ-ки- наза	305	0,3
с гуанином	2 040	102	с УМФ	2 290	496
Ксантин-ФР-транс- фераза	4 830	0	с ЦМФ	5 190	754
Аденин-ФФ-транс- фераза	32	39	ТМФ-киназа	516	0
Пуриннуклеозид- фосфорилаза			ЦТФ-синтетаза	0	0
ионозин	5 410	1 340	Урацил-Ф-рибозил- трансфераза	74	0
гуанозин	896	822	Уридинцитидинки- наза		
аденозин	0	0	с уридином	0	0
ксантозин	0	0	с цитидином	0	0
Аденозиндеаминаза	28 500	35,7	Деоксицитидинки- наза	0	0
Аденозинкиназа	7,3	7,2	Тимидинкиназа	0	0
Киназы нуклеозинов	0	0	Цитидиндеаминаза	0	3,9
Ксантиноксидаза	0	0			
Фрибозил-ФФ-синте- таза	28,8	34,3			

205) определили пути включения меченого аденина в пораженный эритроцит и гипоксантина — в паразита (*P. chabaudi*). На рис. 7 представлена обнаруженная ими взаимная адаптация и интеграция путей обмена пуриновых производных в эритроците, содержащем шизонт. Паразит использует гипоксантин, в норме выделяемый эритроцитом, и не конкурирует с ним за аденозин.

Ввиду большой практической значимости тропической малярии для медицины приводим в табл. 29 удельную активность ферментов путей обмена пуринов и пиримидинов у трофозитов *P. falciparum*.

Обмен пуринов менее изучен у эндопаразитических гельминтов, чем у паразитических простейших.

В табл. 30 представлены данные о содержании рибонуклеотидов в тканях нематод *Haemonchus contortus*, *Oestertagia circumcinata*, *Trichostrongylus calibriformis*, *Nippostrongylus braziliensis*, *Ascaris suum*, *Stephanurus dentatus*, цестоды *Moniezia expansa* и трематоды *Fasciola hepatica* [73], данные по отдельным нематодам [41, 59, 73, 164].

Из приведенных цифр видно, что содержание АТФ у гельминтов примерно равно содержанию АТФ в тканях позвоночных, однако содержание АМФ и АДФ значительно выше у гельминтов (соответственно в 5—10 и в 2—5 раза). Отношение совокупности гуаниновых нуклеотидов к адениновым выше у гельминтов, чем у позвоночных. Это отношение непостоянно в течение цикла развития (>4 в яйце *A. suum* до начала эмбрионального развития и 0,1—в мышцах половозрелой аскариды

Т а б л и ц а 30
Содержание рибонуклеотидов в тканях гельминтов
(в моль/г⁻¹ от сырого веса)

Вид паразита	АМФ	АДФ	АТФ	АМФ+АДФ+АТФ	$\frac{1/2\text{АДФ}+\text{АТФ}}{\text{АМФ}+\text{АДФ}+\text{АТФ}}$
6 нематод M. expansa F. hepatica	0,11—0,35 0,35 0,65	0,40—0,90 0,72 1,10	1,10—2,20 0,65 1,32	2,05—3,10 1,72 0,37	0,70—0,87 0,59 0,61
Вид паразита	ГМФ	ГДФ	ГТФ	ГМФ+ГДФ+ГТФ	
6 нематод M. expansa F. hepatica	0,05—0,26 0,03 0,10	0,11—0,36 0,14 0,28	0,35—0,88 0,17 0,30	0,66—1,33 0,34 0,68	0,67—0,83 0,71 0,65
Вид паразитов	ИМФ	ИДФ	УДФ	ЦМФ	ЦДФ
6 нематод M. expansa F. hepatica	0,015—0,070 0,023 0,047	0,003—0,033 0,075 0,025	0,055—0,180 0,120 0,202	0,026—0,042 0,021 0,033	0,088—0,592 0,755 0,066
					0,284—0,655 0,325 0,344

[41, 81]). У паразитических гельминтов отсутствуют фосфагены, играющие заметную роль в обмене позвоночных как накопители энергии [42]. Содержание циклического АМФ, который является регулятором обмена у эукариотов, в тканях гельминтов не определяли, но у *F. hepatica* обнаружена необычайно высокая активность аденилатциклазы [147], а у *S. mansoni* показано, что при развитии от церкария до половозрелого гельминта резко возрастает активность аденилатциклазы и изменяются ее свойства, возникает явление активации серотонином и подавления ГТФ [120].

У *S. mansoni* отсутствуют пути синтеза пуринов *de novo* [167], но имеются активные пути сбережения пуринов [168, 169]. При помощи импульсной радиометки показано, что у молодых шистозомул, полученных из церкарий, имеется активный путь сбережения пуринов, в котором ИМФ играет центральную диспетчерскую роль [75]. У нематод *Angiostrogylus cantonensis* и *Metastrongylus apri* показан малоактивный путь биосинтеза пуринов *de novo* и высокоактивные пути сбережения. Особенностью этих путей является прямое фосфорилирование аденозина (помимо обычного пути через гипоксантин) и лимитирующее влияние двух реакций ИМФ—АМФ и ИМФ—ксантозин-5'-монофосфат [203]. Необычный путь биосинтеза пуриновых рибонуклеотидов найден у *Brugia pahangi* и *Dirofilaria immitis*, которые превращают полученный от хозяина 5-метилтетрагидрофолат в 5,10-метилентетрагидрофолат и другие производные, из которых и синтезируются пуриновые нуклеотиды [113]. Пути биосинтеза пуринов у цестоды *Mesocostoides tetrahyridia* неясны [100]. Интересно отметить, что в поверхностном слое кутикулы *H. diminuta* найден фермент, связывающий и гидролизующий пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды из кишечника хозяина, что может способствовать обеспечению гельминта пуринами [154].

Поверхностные рецепторы, связывающие пуриновые основания и нуклеозиды, имеются и у эндопаразитических простейших (*T. congolense*, *T. brucei*, *C. fasciculata*, *T. vivax*, *L. braziliensis panamensis*, *P. berghei*, *P. falciparum* и др.) [98, 99, 102].

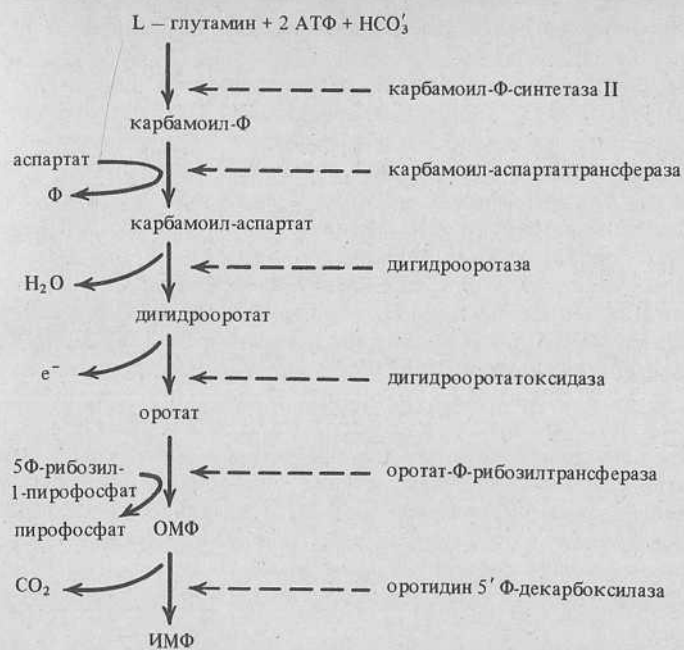
Обмен пиримидинов. Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов из простых предшественников (L-глутамина, бикарбоната и L-аспартата) при одновременном наличии путей сбережения пиримидинов — характерная особенность многих свободноживущих и паразитических животных. При распаде пиримидиновых нуклеотидов до основания последние выделяют или вступают в реакции катаболизма с образованием малонового полуальдегида и ацетил-КоА из урацила и метилмалонового полуальдегида и сукцинил-КоА — из тимина.

В организме человека и млекопитающих имеются свободные пиримидины, например, в плазме крови человека — 5 мкМ уридина, 0,5 мкМ цитидина и 0,1—0,6 мкМ тимидина.

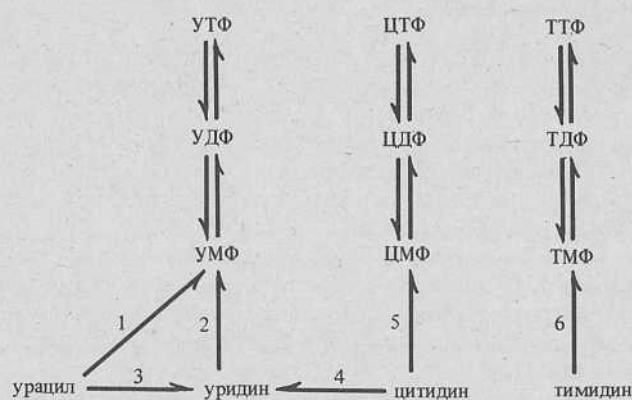
Приводим общую схему биосинтеза пиримидинов (рис. 8).

В приведенной схеме особого внимания заслуживает исходный фермент — карбамоил-Ф-синтетаза, который играет роль лимитирующего синтез пиримидинов звена у многих млекопитающих.

У уреотелических животных имеется несколько ферментов, катализирующих первый этап синтеза пиримидинов:



Р и с. 8. Схема биосинтеза пиримидинов



Р и с. 9. Схема путей обмена пиримидинов у *Trichomonas vaginalis*

Ферменты (активность, $\text{нМ} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ белка): 1 — урацилфосфорибозилтрансфераза (0,06); 2 — уридинфосфотрансфераза (1,76); 3 — уридинфосфорилаза (60); 4 — цитидиндеаминаза (156); 5 — цитидинфосфотрансфераза (1,28); 6 — тимидинфосфотрансфераза (0,99)

1) карбамоил-Ф-синтетаза I специфически активируется N-ацетил-L-глутаматом (ЕС 6.3.4.16).

2) карбамоил-Ф-синтетаза II не активируется ацетилглутаматом, но активируется ИТФ (конечным продуктом) по схеме отрицательного аллостерического эффектора и активируется положительным аллостерическим эффектором: 5-Ф-рибозил-1-ФФ (ЕС 6.3.5.5).

Наконец, для фермента карбамоил-Ф-синтетаза III субстратом служит L-глутамин и требуется N-ацетил-L-глутамат. Он содержится в митохондриях беспозвоночных (моллюсков, червей).

У млекопитающих в раковых клетках и у дрозофилы карбамоил-Ф-синтетаза II объединена в один мультиферментный комплекс с карбамоил-трансферазой (ЕС 2.1.3.2) и дигидрооротазой (ЕС 3.5.2.3.)

Паразитические простейшие могут иметь одновременно путь биосинтеза и пути сбережения, например, *Toxoplasma gondii* [34, 166], или только путь биосинтеза из простых предшественников, как плазмодии [96], или только пути сбережения пиримидинов, как *T. vaginalis*, который не способен включать меченые бикарбонат, аспартат или оротат в синтезируемые пиридиннуклеотиды и нуклеиновые кислоты [198].

Приводим схему путей обмена у *Trichomonas vaginalis* [198] с обозначением активности ферментов (рис. 9).

Интересно отметить обособленность путей обмена тимидина у *T. vaginalis*.

Активность ферментов биосинтеза пиримидинов *de novo* определена у ряда паразитических простейших и гельминтов [102]. Приводим в объединенной таблице результаты, полученные несколькими авторами (табл. 31).

У трипаносоматид наблюдается необычное внутриклеточное распределение ферментов (дигидрооротатоксидаза — в цитоплазме, оротатфосфорибозилтрансфераза и оротидин-5'-Ф-декарбоксилаза — в гликосомах).

У лейшманий и трипаносом вместо оротатфосфорибозилтрансферазы имеется урацилфосфорибозилтрансфераза.

Дигидрооротаза, не найденная авторами у *T. gondii*, вскоре была обнаружена другими исследователями.

Наличие путей биосинтеза пиримидинов показано, кроме того, у *P. lophurae*, *P. knowlesi*, *L. mexicana* (по включению меченого предшественника). Отсутствие путей биосинтеза пиримидинов обнаружено у двух паразитических простейших с типично анаэробным обменом: *T. vaginalis* и *Gardia lamblia* [138].

На основании анализа литературы и собственных исследований с мечеными предшественниками А. Е. Хованских приходит к выводу, что «пуриновые нуклеотиды у *Eimeria* и *Toxoplasma gondii* синтезируются из готовых оснований и нуклеозидов, а затем используются для биосинтеза ДНК и РНК. Пиримидиновые же нуклеотиды *Eimeria* и *Toxoplasma* синтезируют двумя метаболическими путями: *de novo* и из готовых оснований и нуклеозидов» [24].

Более подробно пути биосинтеза пиримидинов и их регуляция изучены у гельминтов *S. mansoni* [32], *A. suum* [128], *Angiostrongylus cantonensis* [31], *Paragominus ohirai* [126], *F. hepatica* [187]. В яйчиках *A. suum* соотношение активностей трех первых энзимов пути биосинтеза

Таблица 31

Ферменты биосинтеза пиримидинов у некоторых эндопаразитов
(активность, нМ/мин/мг белка)

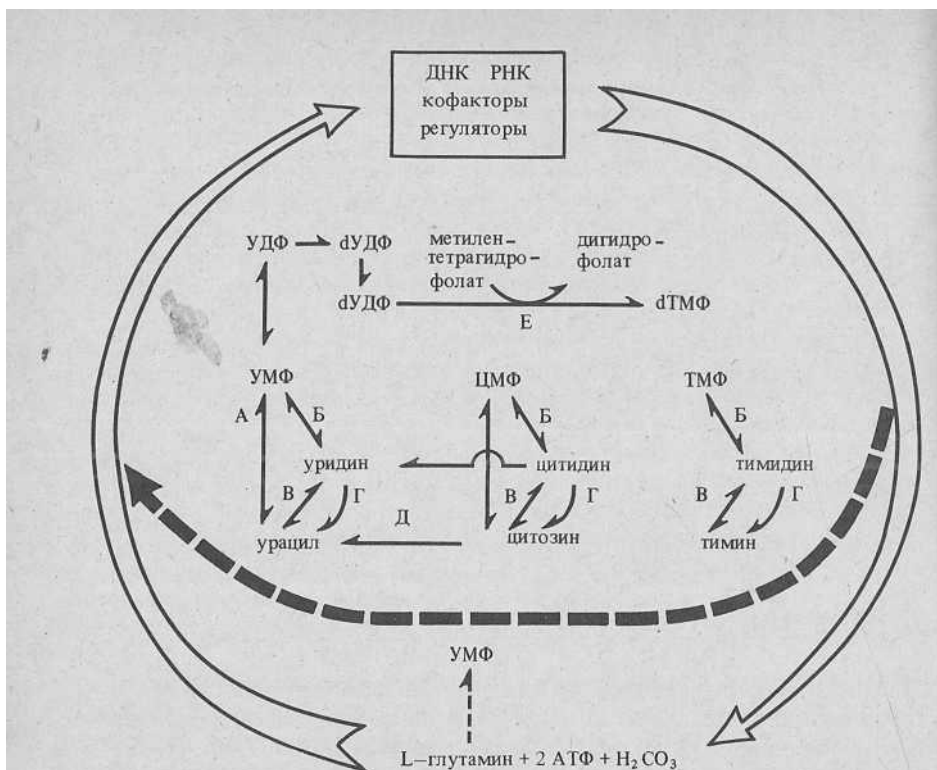
Паразит	Ферменты				
	1	2	3	4	5
Простейшие					
<i>C. fasciculata</i>	3,5	74,8	4,4	9,0	9,0
<i>T. cruzi</i>	1,3	70,0	0,5	0,1	1,7
<i>L. major</i>	4,8	133,0	20,0	0,1	1,7
<i>T. vaginalis</i>	0,5	1,5	0	0	0
<i>E. tenella</i>	0	4,4	0	0,1	1,1
<i>P. berghei</i>	0,1	17,4	6,3	1,6	2,7
<i>T. gondii</i>	1,0	74,7	?	2,1	7,0
Гельминты					
<i>F. gigantica</i>	0,4	9,4	4,9	0,6	0,9
<i>S. mansoni</i>	0,5	8,0	1,0	0,2	0,5
<i>N. braziliensis</i>	0,1	3,5	2,2	1,7	2,9
<i>T. muris</i>	0,1	16,3	1,1	0,1	0,2
<i>H. diminuta</i>	0,7	1,2	0,3	0,1	0,1

Примечание. Ферменты: 1 — карбамоилфосфатсинтетаза II, 2 — карбамоилас-
партаттрансфераза, 3 — дигидрооротаза, 4 — оротатфосфорибозилтрансфераза, 5 — оротидиндекарбоксилаза.

оказалось равным 1:850:60, причем первый лимитирующий фермент — карбамоил-Ф-синтетаза II — подвержен аллостерическому регулированию положительными и отрицательными эффекторами [128]. Подобная регуляция имеется у позвоночных и у паразитических простейших [98, 102], но не у свободноживущих нематод. Таким образом, фермент аскариды оказался ближе гомологичному ферменту хозяина и эндопаразитических простейших, чем ферменту свободноживущих нематод. Можно ли думать о молекулярной адаптации к эндопаразитизму?

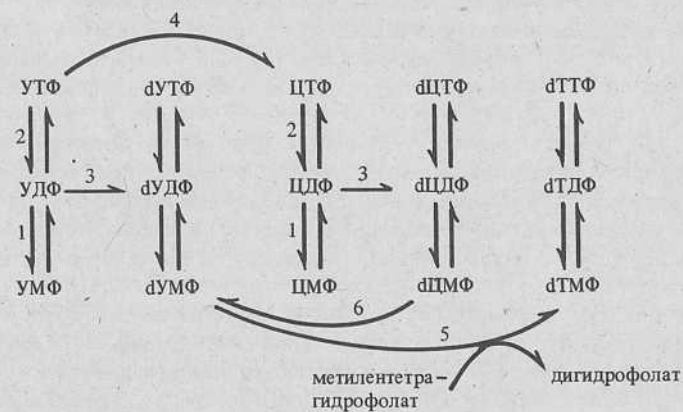
Взаимопревращения пиримидинов и реакции сбережения относительно хорошо изучены у трипаносоматид [98]. На рис. 10 представлена общая схема обмена пиримидинов, на рис. 11 — пути взаимопревращений пиримидинов.

Выводы. Выводы приходится делать с большой осторожностью по двум основным причинам: приведенные выше данные получены, как правило, при изучении лабораторных штаммов эндопаразитов и на разных стадиях цикла развития. Известно, что длительное культивирование паразитов на искусственных средах приводит к изменению активности, а то и к выпадению некоторых ферментов, что коррелирует в отдельных случаях со снижением патогенности или потерей способности к прохождению полного цикла развития. Известно также, что активности ферментов и их наличие зависят от стадии цикла развития эндопаразита, о чем будет сказано более подробно в одном из дальнейших разделов. Поэтому сопоставлять пути обмена и сравнивать активность энзимов у отдельных эндопаразитов вряд ли оправдано. Тем не менее накопилось достаточно данных об эндопаразитических простейших и гельминтах, чтобы сделать несколько, пусть пока предварительных, выводов.



Р и с. 10. Пути сбережения пиримидинов у трипаносоматид

А — фосфорибозилтрансферазы; Б — киназы; В — фосфорилазы; Г — нуклеозидазы; Д — деаминазы; Е — тимидилатсинтаза



Р и с. 11. Схема превращений пиримидинов у трипаносоматид

1, 2 — киназы; 3 — рибонуклеотидредуктазы; 4 — цитозинтрифосфатсинтаза; 5 — тимидилат синтаза; 6 — деоксцитидилатдеаминаза

Эндопаразитические простейшие лишены путей биосинтеза пуринов, но, за исключением двух анаэробных видов, имеют пути синтеза пиримидинов. У эндопаразитических гельминтов синтез пуринов пока под вопросом, биосинтез пиримидинов доказан.

И у хозяев и у эндопаразитов интенсивность синтеза пуринов регулируется первым звеном цепочки: карбамоил-Ф-синтетазой II.

Пути сбережения пуринов и пиримидинов высокоактивны и разнообразны у эндопаразитов, они отличаются от путей сбережения у хозяев.

У хозяина основные пути обмена пуринов и пиримидинов сводятся к биосинтезу нуклеотидов из простых соединений и их распаду до конечных продуктов, пути сбережения играют второстепенную роль. У эндопаразитов главную роль играют пути сбережения, особенно пуринов.

* * *

Морфофункциональные особенности генома эндопаразитов и своеобразие путей обмена пуринов и пиримидинов отображают пройденный путь адаптации:

1. Переход к эндопаразитизму не привел к упрощению генома. Даже у наиболее древних и морфологически деградировавших во взрослом состоянии эндопаразитов не отмечается морфофункционального упрощения генома и путей обмена предшественников.

2. У представителей некоторых крупных таксонов эндопаразитических простейших имеются особенности, которые не встречаются ни у прокариотов, ни у многоклеточных, например кинетопластная ДНК у трипаносоматид. Их биологическое значение в целом не выяснено. Некоторые особенности, как считываемые и транслируемые повторы у инвазионных стадий эндопаразитов, трактуются, как адаптивные приспособления для «истощения» защитных иммунных систем хозяина, о чем будет сказано дальше.

3. В течение жизненного цикла эндопаразита периоды выживания или биопаузы сменяются периодами интенсивных и быстрых морфологических и функциональных перестроек и усиленного размножения. В эти периоды эндопаразит не может полагаться на получение предшественников нуклеиновых кислот от хозяина и использует пути сбережения оснований. Эти пути потеряны или, может быть, не приобретены позвоночным хозяином, у которого в целом наблюдается плавное снижение интенсивности биосинтезов от дробления оплодотворенной яйцеклетки до смерти взрослого организма.

4. Адаптация к эндопаразитизму проявляется в онтогенезе эндопаразита, т. е. на последовательных стадиях цикла развития по мере раскрытия всей совокупности генетической информации особи, хранимой в геноме. Проявление во времени «сценария», заложенного в геноме, определяет онтогенез и хозяина и эндопаразита.

У млекопитающих эволюция узаконила развитие зародыша в организме матери на начальных, наиболее ответственных этапах развития, но и после рождения продолжается дифференцировка тканей, становление функций, созревание полового аппарата и т. д. Все это протекает закономерно, с четко закрепленной последовательностью, причем исполнение сценария, заложенного в геноме, идет по своим внутренним законам, сперва под защитой организма матери, затем во внешней среде.

Прохождение эндопаразитом последовательных стадий онтогенетического развития до достижения половой зрелости сопряжено с риском, с приспособлением к нескольким хозяевам и борьбой с ними, со способностью практически мгновенно перестраивать свои пути обмена и свои средства агрессии и защиты. Эндопаразиту надо улавливать сигналы извне о смене среды, целенаправленно реагировать на них. Временной сценарий в геноме эндопаразита сложный, точный, надежный, он ведет зародыша через превратности нелегкой судьбы к пристанищу — организму дефинитивного хозяина. Здесь эндопаразит отбрасывает, как отслужившие и уже ненужные, многие биохимические системы, органеллы и органы и полностью переключается на половой процесс. На половозрелой стадии эндопаразит представляется упрощенным и деградированным по сравнению с хозяином, но не следует забывать, что высокую специализацию и совершенство систем он проявил ранее, при прохождении цикла развития и точно тогда, когда это было необходимо.

Владение в половозрелом возрасте многими высокоразвитыми функциями — признак высокоспециализированного организма, но экономное, целесообразное проявление своих потенциальных возможностей только на нужных стадиях прохождения сложного жизненного цикла — признак не менее высокой специализации. Если сравнить начальные этапы онтогенеза, то каким беспомощным представляется рядом с зародышем эндопаразита эмбрион млекопитающего, завершающий почти весь цикл развития в «своем» генетически очень близком организме, да еще в органе, специально приспособленном для «комфортабельного» паразитирования.

Мы только начинаем познавать особенности биосинтезов у эндопаразитов. Механизмы биосинтеза белков, конечно, те же, что у всех эукариотов, но какие тонкие регуляторы пускают и останавливают биосинтезы избирательно и почти мгновенно в ответ на сигналы извне (далее будет приведен пример, когда продолжительность синтеза определенного белка не превышает 90 мин), по какой программе заранее синтезируются те ферменты, которые потребуются в следующем хозяине?

В заключение следует уточнить еще раз понятие онтогенеза применительно к эндопаразитам со сложным циклом развития, например трематодам. Формально цикл состоит из нескольких последовательных онтогенезов: от мирацидия до спороцисты, от спороцисты до редии, от церкарии до мариты. Каждый раз зарождается «новый» организм, который размножается и умирает, т. е. проходит свой онтогенез. При этом материализуется часть информации, хранимой в геноме. Но ни одна из промежуточных стадий развития эндопаразита не является самостоятельной, не может сама по себе существовать и развиваться. Только реализация всей генетической информации, проигрывание во времени всего сценария, заложенного в геноме, иными словами, завершение всего жизненного цикла может обеспечить существование эндопаразита. Думается, что разумно считать онтогенезом эндопаразита весь цикл его развития до половозрелой стадии в дефинитивном хозяине.

Эта концепция не нова. В 1983 г. В. Д. Каллиникова предложила рассматривать жизненные циклы паразитических простейших как форму онтогенеза [9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Астафьев А. К. Надежность и прогрессивная эволюция // Закономерности прогрессивной эволюции. Л.: Изд-во АН СССР, 1972. С. 39—47.
2. Баев А. А., Краев А. С., Ильин Ю. В. Первичная структура концевых областей мобильного диспергированного гена М.Д.Г.З. у *Drosophila melanogaster* // ДАН СССР. 1981. Т. 261, № 2. С. 494—496.
3. Баев А. А., Билл Б., Финнеган Д. Первичная структура длинных концевых повторов мобильного диспергированного элемента 412 у *Drosophila melanogaster* // ДАН СССР. 1981. Т. 261, № 3. С. 749—752.
4. Дубинин Н. П. Молекулярная организация генов у эукариотов // Молекулярные механизмы генетических процессов. М.: Наука, 1982. С. 3—12.
5. Заварзин Г. А. Бактерии и состав атмосферы. М.: Наука, 1984. 192 с.
6. Заварзин Г. А. Фенотипическая систематика бактерий. Пространство систематических возможностей. М.: Наука, 1974. 142 с.
7. Зайцева Г. Н., Ильин А. В., Шульга А. В., Белозерский А. Н. Нуклеиновые кислоты различных органелл простейшего *Strigomonas opocopelti* // ДАН СССР. 1968. Т. 180, № 4. С. 967—970.
8. Зайцева Г. Н., Ильин А. В., Чугунов В. А., Шульга А. В. Нуклеиновые кислоты и рибосомы ядер и цитоплазмы жгутикового простейшего *Strigomonas opocopelti* // Клеточное ядро и его ультраструктура М.: Изд-во МГУ. 1970. С. 306—310.
9. Калинин В. Д., Северцов А. С. Жизненные циклы паразитических простейших, как форма онтогенеза // Журн. общ. биологии 1983. № 2. С. 227—238.
10. Калинин В. Д., Чугунов В. А., Шишов А. Г., Зайцева Г. Н. Иммунохимическая специфичность клеточных органелл простейшего *Crithidia (Strigomonas) opocopelti* // Цитология. 1973. Т. 15, № 6. С. 774—779.
11. Колесников А. А., Маслов Д. А., Резепкина Л. А., Зайцева Г. Н. Характеристика кинетопластной ДНК *Leptomonas pessoai* // Молекуляр. биология, 1984. Т. 18. С. 591—594.
12. Кузьмин Е. В., Чистосердова А. Ю., Зайцева Г. Н. Экспрессия клонированных фрагментов максикольцевой кинетопластной ДНК *Crithidia opocopelti* в бесклеточной системе синтеза белка из *Escherichia coli* // ДАН СССР, 1983. Т. 270, № 5. С. 1246—1248.
13. Маслов Д. А., Энтелис Н. С., Колесников А. А. и др. Клонирование и рестрикционное картирование фрагмента максикольцевой молекулы кинетопластной ДНК *Crithidia opocopelti* // ДАН СССР. 1981. Т. 261. С. 1271—1273.
14. Маслов Д. А., Энтелис Н. С., Колесников А. А., Зайцева Г. Н. ДНК кинетопласта *Crithidia opocopelti*; рестрикционное картирование максикольцевой ДНК // Биоорг. химия, 1982. Т. 8, № 5. С. 676—685.
15. Медников Б. М. Закономерности эволюции генома // Молекулярные механизмы генетических процессов. М.: Наука, 1982. С. 76—85.
16. Метт И. Л., Кузьмин Е. В., Зайцева Г. Н. Локализация генов двух РНК на максикольцевой молекуле кинетопластной ДНК зоофлагеллята *Crithidia opocopelti* // ДАН СССР. 1981. Т. 261. С. 1274—1276.
17. Мошковский Ш. Д. Природа и структура бактерий // Изменчивость микроорганизмов и бактериофагия / Под ред. В. Д. Тимакова. М.: Медгиз, 1960. С. 161—182.
18. Резепкина Л. А., Маслов Д. А., Колесников А. А. ДНК кинетопласта *Crithidia opocopelti*. Выявление принципов структурной организации миникольцевых молекул ДНК // Биохимия, 1984. Т. 49, № 3. С. 444—454.
19. Солт Г. Конкуренция между паразитоидными насекомыми // Механизмы биологической конкуренции. М.: Мир, 1966. С. 124—154.
20. Сухарева-Немакова Н. Н., Хачатуров Е. Н. Люминесцентно-цитохимическое исследование ДНК-содержащих органоидов *Strigomonas opocopelti* // Цитология. 1969. Т. 11, № 9. С. 1105—1111.
21. Сыромятников Е. Ю., Широков А. Т., Зайцева Г. Н. Функциональные особенности блок-синтезирующей системы кинетопласта зоофлагеллята *Strigomonas opocopelti* // Биохимия, 1973. Т. 38, № 1. С. 471—477.
22. Финнеган Д. Дж., Уилл Б. Х., Баев А. А. и др. Мобильные последовательности ДНК эукариот // Эволюция генома / Под ред. Г. Даувера, Р. Флейвелла. М.: Мир, 1986. С. 40—50.

23. Флейвелл Р. Амплификация, делеция и перегруппировка последовательностей: основные источники изменчивости в процессе дивергенции видов // Эволюция генома. М.: Мир, 1986. С. 291—356.
24. Хованских А. Е. Биохимия кокцидий и кокцидиозов. Л.: Наука, 1984. 192 с.
25. Шмальгаузен И. И. Факторы эволюции. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1946. 396 с.
26. Adam K. M. C., Blewett D. A. Studies on the DNA of *Acanthamoeba* // Ann. Soc. belge méd. trop. 1974. Vol. 54. P. 163—169.
27. Agabian N., Tonashow L., Milhausen M., Stuart K. Structural analysis of variant and invariant genes in trypanosomes // Amer. J. Trop. Med. and Hyg. Suppl. 1980. Vol. 29. P. 1043—1049.
28. Agosin M., Naquira C. Translation of *Taenia crassiceps* mRNA in cell-free heterologous systems // Comp. Biochem. and Physiol. B. 1978. Vol. 60. P. 183—187.
29. Albach R. A., Prachayasittikul V., Heebner G. M. Isolation and characterization of RNA of *Entamoeba histolytica* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 12. P. 261—272.
30. Amikan D., Rzin S., Glaser G. Ribosomal RNA genes in mycoplasma // Nucl. Acids Res. 1982. Vol. 10. P. 4215—4222.
31. Aoki T., Oya H. Glutamine-dependent carbamoyl-phosphate synthetase and control of pyrimidine biosynthesis in *Ascaris suum*, *Angiostrongylus cantonensis* and *Schistosoma mansoni* // Fourth Intern. Conf. Parasitol. Poland. Warsaw, 1978. P. 74.
32. Aoki T., Oya H. Glutamine-dependent carbamoyl-phosphate synthetase and control of pyrimidine biosynthesis in parasitic helminth *Schistosoma mansoni* // Comp. Biochem. and Physiol. B. 1979. Vol. 63. P. 511—515.
33. Arnot D. E., Barker D. C. Biochemical identification of cutaneous leishmaniasis by analysis of kinetoplast DNA. II: Sequence homologies in *Leshmania* kDNA // Mol. and Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 3. P. 47—56.
34. Asai T., O'Sullivan W. J., Kobayasci M. et al. Enzymes of the de novo pyrimidine biosynthetic pathway in *Toxoplasma gondii* // Ibid. 1983. Vol. 7. P. 89—100.
35. Astolfi F., Martins C. de Sa, Gonder E. S. On the chromatin structure of *Trypanosoma cruzi* // Ibid. 1980. Vol. 1. P. 45—53.
36. Atkinson K. H. Chromosome analysis of *Schistosoma rodhaini* (Trematoda: Schistosomatidae) // Canad. J. Genet. and Cytol. 1980. Vol. 22. P. 143—147.
37. Barker D. C., Arnot D. E. Biochemical identification of cutaneous leishmaniasis by analysis of kinetoplast DNA. I: Ultrastructural and buoyant density analysis // Mol. and Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 3. P. 33—46.
38. Barker D. C. Differentiation of *Entamoeba* patterns of nucleic acids and ribosomes during encystement and excystation // Biochemistry of parasite and host-parasite relationships / Ed. H. Van Den Bosshe. Amsterdam, 1976. P. 253—260.
39. Barker D. C., Swales L. S. Characteristics of ribosomes during differentiation from trophozoite to cyst in axenic *Entamoeba* sp. // Cell Differ. 1972. Vol. 1. P. 297—306.
40. Barker D. C., Arnot D. E., Butcher J. DNA characterization as a taxonomic tool for identification of kinetoplastic flagellate protozoans // Biochemical characterization of leishmania. Geneva: WHO, 1982. P. 139—180.
41. Barrett J. Nucleoside triphosphate metabolism in the muscle tissue of *Ascaris lumbricoides* // Intern. J. Parasitol. 1973. Vol. 3. P. 393—400.
42. Barrett J. Biochemistry of parasitic helminths. L.: McMillan, 1981.
43. Barrois M., Riou G., Galibert F. Complete nucleotide sequence of mini-circle kinetoplast DNA from *Trypanosoma equiperdum* // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1981. Vol. 78. P. 3323—3327.
44. Battaglia P. A., Del Bue M., Ottavio M., Pozi M. The molecular biology of Trypanosomes // Annu. Rev. Biochem. 1982. Vol. 51. P. 695—726.
45. Belnat P., Paoletti J., Rion G. Subunit organization of chromatin from *Trypanosoma cruzi* sensitive and resistant to ethidium bromide // Mol. and Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 2. P. 167—176.
46. Berens R. L., Joseph Marr J., La Fon S. W., Nelson D. J. Purine metabolism in *Trypanosoma cruzi* // Ibid. Vol. 3. P. 187—196.
47. Bhasin V. K., Clayton C., Trager W., Cross G. A. M. Variations in the organization

- of repetitive DNA sequences in the genomes of *Plasmodium falciparum* clones // Ibid. 1985. Vol. 15, N 2. P. 149—158.
48. Birago C., Bacci A., Dore E. et al. Mosquito infectivity is directly related to the proportion of repetitive DNA in *Plasmodium berghei* // Ibid. 1982. Vol. 6. P. 1—12.
 49. Bone N., Gibson T., Goman M. et al. Investigation of the DNA of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* by in vitro cloning into phage λ // Molecular biology of parasite / Ed. G. Guardiola, L. Luzzatto, W. Trager. N. Y.: Raven press, 1983.
 50. Borgers M., Van den Bossche H. Cytochemical and biochemical studies of the intestinal cells of *Ascaris suum* // Comparative biochemistry of parasites / Ed. H. Van den Bossche, N. Y.: Acad. press, 1972. P. 259—274.
 51. Borst P., Fairlamb A. H. DNA of parasites, with special reference to kinetoplast DNA // Biochemistry of parasites and host-parasite relationships / Ed. H. Van den Bossche. Amsterdam, 1976. P. 169—191.
 52. Borst P., Fase-Fowler F., Frasch A. C. C. et al. Characterization of DNA from *Trypanosoma brucei* and related Trypanosomes by restriction endonuclease digestion // Mol. and Biochem. Parasitol. 1980. Vol. 1. P. 221—246.
 53. Borst P., Fase-Fowler F. The maxi-circle of *Trypanosoma brucei* kinetoplast DNA // Biochim. et biophys. acta. 1979. Vol. 565. P. 1—12.
 54. Borst P., Fase-Fowler F., Gibson W. C. Quantitation of genetic differences between *Trypanosoma brucei* gambiense, rhodesiense and brucei by restriction enzyme analysis of kinetoplast DNA // Ibid. 1981. Vol. 3. P. 117—131.
 55. Borst P., Van den Ploeg M., Van Hoek J. F. M., James J. On the DNA content and ploidy of Trypanosomes // Ibid. 1982. Vol. 6, N 1. P. 13—24.
 56. Borst P., Fase-Fowler F., Weijers P. J. et al. Kinetoplast DNA from *Trypanosoma vivax* and *T. congolense* // Ibid. 1985. Vol. 15. P. 129—142.
 57. Bowtell D. D. L., Saint R. B., Rickard M. D., Mitchell G. F. Expression of *Taenia taeniaeformis* antigens in *Escherichia coli* // Ibid. 1984. Vol. 13. P. 173—185.
 58. Brack C., Bickle T. A., Yuan R. et al. The use of restriction endonucleases in the investigation of kinetoplast DNA // Biochemistry of parasites and host-parasite relationships / Ed. H. Van den Bossche. Amsterdam, 1976. P. 211—218.
 59. Campbell J. W. Amino acids and nucleotides of the cestode *Hymenolepis diminuta* // Comp. Biochem. and Physiol. 1963. Vol. 8. P. 181—185.
 60. Castro C., Craig S. P., Castañeda M. Genome organization and ploidy number in *Trypanosoma cruzi* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 4, N 5/6. P. 273—282.
 61. Castro C., Hernandez R., Castañeda M. *Trypanosoma cruzi* ribosomal RNA: internal break in the large-molecular-mass species and number of genes // Ibid. Vol. 2. P. 219—233.
 62. Čerkasova A., Čerkasov J., Kulda J., Reischig J. Circular DNA and cardiolipin in hydrogenosomes, microbody-like organelles of trichomonads // Folia parasitol. 1976. Vol. 23. P. 33—37.
 63. Chen K. K., Donelson J. E. Sequence of two kinetoplast mini-circles of *Trypanosoma brucei* // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1980. Vol. 77. P. 2445—2449.
 64. Chester J. K. Protein synthesis by cell-free extracts of *Crithidia oncopelti* // Biochim. et biophys. acta. 1966. Vol. 114. P. 385—397.
 65. Cordingley J. S., Taylor D. W., Dunne D. W., Butherworth A. E. Clones banks of cDNA of parasite *Schistosoma mansoni*: isolation of clones containing a potentially immunodiagnostic antigen gene // Gene. 1983. Vol. 26. P. 25—39.
 66. Cordingley J. S., Turner M. J. 6.5 S RNA: preliminary characterization of unusual small RNAs in *Trypanosoma brucei* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1980. Vol. 1. P. 91—96.
 67. Cordingley J. S., Turner M. J. Isolation and characterization of polysomes from *Trypanosoma brucei* // Parasitology. 1980. Vol. 81. P. 537—551.
 68. Cornelissen A. W. C. A., Langsley G., Walliker D., Scaife J. G. Gametocytogenesis and ribosomal rRNA gene organization in the rodent malarial *Plasmodium Chabaudi* and *Plasmodium berghei* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 14. P. 165—174.
 69. Costas M., Griffiths A. J. The suitability of starch-gel electrophoresis of este-

- rases and acid-phosphatases for the study of *Acanthamoeba* taxonomy // Arch. Protistenk. 1980. Bd. 123. S. 272—279.
70. Crossman A. I., Kemzie R. Mc., Cain C. D. Sex heterochromatin in *Schistosoma mansoni* // J. Parasitol. 1981. N 66. P. 368—370.
 71. Cumming D. J. Evolutionary divergence of mitochondrial DNA from *Paramecium aurelia* // Mol. and Gen. Genet. 1980. Vol. 180. P. 77—84.
 72. Dame J. B., McCutchan T. F. Identification of 5S and 5.8S ribosomal RNA molecules in their genes in *Plasmodium berghei* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 11. P. 301—308.
 73. Darwish A. A., Sangter N. C., Pichard R. K. Ribonucleotide levels in six nematodes, a cestode and a trematode // Ibid. 1983. Vol. 8, N 2. P. 109—118.
 74. Davison J., Thi V. H. The *Trypanosoma brucei* maxi circle DNA contains ARS elements active in *Saccharomyces cerevisiae* // Curr. Genet. 1982. Vol. 6. P. 19—20.
 75. Dovey H. F., McKerrow J. H., Wang C. C. Purine salvage in *Schistosoma mansoni* schistosomules // Ibid. 1984. Vol. 11. P. 157—168.
 76. Dore E., Birago C., Frontali C., Battaglia P. A. Kinetic complexity and repetitivity of *Plasmodium berghei* DNA // Mol. and Biochem. Parasitol. 1980. Vol. 1. P. 199—208.
 77. Dore E., Frontali C., Forte T. et al. Further studies and electron-microscopic characterization of *Plasmodium berghei* DNA // Ibid. 1983. Vol. 8. P. 339—352.
 78. Eckert W. A., Kaffenberger W., Krohne G., Franke W. W. Introduction of hidden breaks during rRNA maturation and ageing in *Tetrahymena pyriformis* // Europ. J. Biochem. 1978. Vol. 87. P. 607—616.
 79. Englund P. T. Kinetoplast DNA // Biochemistry and physiology of protozoa / Lewandowskij, Hutinter: 2nd ed. N. Y.: Acad. press. 1981. Vol. 4. P. 333—383.
 80. Fairlamb A., Weislogel P., Hoeijmakers J., Borst P. Isolation and characterization of kinetoplast DNA from blood-stream from *Trypanosoma brucei* // J. Cell Biol. 1978. Vol. 76. P. 293—309.
 81. Farland W. H., McInnis A. J. Purine nucleotide content of developing *Ascaris lumbricoides* eggs // Intern. J. Parasitol. 1978. Vol. 8. P. 177—186.
 82. Finnegan D. J. Transposable elements and proviruses // Nature. 1981. Vol. 292. P. 800—801.
 83. Fish W. R., Marr J. J., Berens R. L. Purine metabolism in *Trypanosoma brucei gambiense* // Biochim. et biophys. acta. 1982. Vol. 14. P. 422—428.
 84. Frasch A. C. C., Gojman S. C., Cazzulo J. J., Stoppani A. O. M. Constant and variable regions in DNA minicircle from *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangelli*: application to species and stock differentiation // Ibid. 1981. Vol. 4. P. 163—170.
 85. Frasch A. C. C., Carrasco A. E., Gojman S. G., Sanchez D. O. Repetitive sequences scattered throughout the genome of *Trypanosoma cruzi* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1983. Vol. 8, N 3. P. 207—282.
 86. Gbenle G. O. Simultaneous isolation of cytoplasmic endoribonuclease and exoribonuclease of *Trypanosoma brucei* // Ibid. 1985. Vol. 15. P. 37—47.
 87. Gbenle G. O., Akinrimisi E. O. Studies on the catalytic properties of the calcium-dependent endoribonuclease of *Trypanosoma brucei* cytoplasm // Ibid. 1982. Vol. 5. P. 213—220.
 88. Gbenle G. O., Akinrimisi E. O. A calcium-dependent endoribonuclease from *Trypanosoma congolense* cytoplasm // Ibid. 1984. Vol. 12. P. 15—24.
 89. Gibson W. C., Marshall T. F., Godfrey D. G. Numerical analysis of enzyme polymorphism: New approach to the epidemiology and taxonomy of *Trypanosomes* of the subgenus *Trypanozoon* // Adv. Parasitol. 1980. Vol. 18. P. 175—246.
 90. Gibson W., Borst P., Fase-Fowler F. Further analysis of intraspecific variation in *Trypanosoma brucei* using restriction site polymorphism in the maxi-circle of kinetoplast DNA // Ibid. 1985. Vol. 15. P. 21—36.
 91. Goldbach R. W., Arnberg A. C., Van Bruggen E. F. J. et al. The structure of *Tetrahymena pyriformis* mitochondrial DNA. I: Strain differences and occurrence of inverted repetitions // Biochim. et biophys. acta. 1977. Vol. 477. P. 37—50.
 92. Goman M., Iangsley G., Hyde J. E. et al. The establishment of genomic DNA libraries for the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and identifica-

- tion of individual clones by hybridization // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1982. Vol. 5. P. 391—400.
93. Grausz D., Dissous C., Capron A., Roskam W. Messenger RNA extracted from *Schistosoma mansoni* larval forms codes for parasite antigens when translated in vitro // *Ibid.* 1983. Vol. 7. P. 293—302.
 94. Grossi de Sa M. F., De Sa C., Pereira de Almeida E. R. et al. Optimization of a protein synthesizing lysate system from *Trypanosoma cruzi* // *Ibid.* 1984. Vol. 10, N 3. P. 347—354.
 95. Gutteridge W. E. Isolation of blood and intracellular forms of *Trypanosoma cruzi* and comparative aspects of nucleic acid metabolism // *Biochemistry of parasite and host-parasite relationships* / Ed. H. Van den Bossche. Amsterdam, 1976.
 96. Gutteridge W. E., Coombs G. H. *Biochemistry of parasitic protozoa*. L.: McMillan, 1977.
 97. Hajduk S. L., Vickerman K. Absence of detectable alteration in the kinetoplast DNA of a *Trypanosoma brucei* clone following loss of infect the insect vector (*Glossina morsitans*) // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 4. P. 17—28.
 98. Hammond D. J., Gutteridge W. E. Purine and pyrimidine metabolism in the trypanosomatidae // *Ibid.* Vol. 13. P. 243—261.
 99. Hansen B. D., Sleeman H. K., Pappas P. W. Purine base and nucleoside uptake in *Plasmodium berghei* // *J. Parasitol.* 1980. Vol. 66. P. 205—212.
 100. Heath R. L., Hart J. L. Biosynthesis de novo of purines and pyrimidines in *Mesocostoides* (Cestoda) // *Ibid.* 1970. Vol. 56. P. 340—345.
 101. Hernandez R., Castaneda M. An endonuclease restriction analysis of the ribosomal RNA genes of *Trypanosoma cruzi* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1983. Vol. 8. P. 305—315.
 102. Hill B., Kilsby J., Rogerson G. W. et al. The enzymes of pyrimidine biosynthesis in a range of parasitic protozoa and helminths // *Ibid.* 1981. Vol. 2. P. 123—134.
 103. Holder A. A., Freeman R. R. Immunization against blood-stage rodent malaria using purified parasite antigens // *Nature*. 1981. Vol. 294. P. 361—364.
 104. Holder A. A., Lockyer M. J., Odink K. G. et al. Primary structure of the precursor of the major surface antigens of *Plasmodium falciparum* merozoites // *Ibid.* 1985. Vol. 317. P. 270—273.
 105. Holmes A. M., Cheriathundam E., Kalinski A., Chang L. Isolation and partial characterization of DNA polymerases from *Crithidia fasciculata* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 10. P. 195—205.
 106. Huang P. L., Roberts B. E., McMahon-Pratt D. et al. Structure and arrangement of the β -tubulin genes of *Leishmania tropica* // *Mol. and Cell. Biol.* 1984. Vol. 4. P. 1372—1383.
 107. Hughes D., Simpson L., Kayne P. S., Neckelmann N. Autonomous replication sequences in the maxi-circle kinetoplast DNA of *Leishmania tarentolae* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 13 N 3. P. 263—276.
 108. Hyde J. E., Zolg J. W., Scaife J. G. Isolation and characterization of ribosomal RNA from the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* // *Ibid.* 1981. Vol. 3. P. 283—290.
 109. Hyde J. E., Goman M., Hall R. et al. Characterization and translation studies of messenger RNA from the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and construction of a cDNA library // *Ibid.* Vol. 10. P. 269—285.
 110. Inselburg J., Banyal H. S. Synthesis of DNA during the asexual cycle of *Plasmodium falciparum* in culture // *Ibid.* 1984. Vol. 10. P. 79—88.
 111. Irving D. O., Howell M. J. Preparation and in vitro translation of mRNA from *Fasciola hepatica* // *Ibid.* 1981. Vol. 4. P. 337—348.
 112. Ishikawa H. Comparative studies on the thermal stability of animal ribosomal RNAs // *Comp. Biochem. and Physiol. B.* 1973. Vol. 46. P. 217—227.
 113. Jaffe J. J., Crin L. R. Involvement of tetrahydrofolate cofactors in de novo purine ribonucleotide synthesis by adult *Brugia pahangi* and *Dirofilaria immitis* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1981. Vol. 2. P. 259—270.
 114. Jagt van der D. L., Hunsaker L. A., Heidrich J. E. Partial purification and characterization of lactate dehydrogenase from *Plasmodium falciparum* // *Ibid.* Vol. 4. P. 255—264.
 115. Johnson B. J. B., Hill G. C., Fox T. D., Stuart K. The maxi-circle of *Trypanosoma*

- brucei kinetoplast DNA hybridizes with a mitochondrial gene including cytochrome oxidase subunit II // *Ibid.* 1982. Vol. 5. P. 381—390.
116. Johnson B. J. B., Hill G. C., Donelson J. E. The maxi-circle of *Trypanosoma brucei* kinetoplast DNA encodes apocytochrome b // *Ibid.* 1984. Vol. 13. P. 135—146.
117. Jordan B. R. Demonstration of intact 26 S ribosomal RNA molecules in *Drosophila* cells // *J. Mol. Biol.* 1975. Vol. 98. P. 277—280.
118. Jungery M., Boyle D., Patel I. et al. Lectin-like polypeptides of *Plasmodium falciparum* bind to red cell sialoglycoproteins // *Nature*. 1983. Vol. 301. P. 704—705.
119. Kahan D., Zahalsk A. C., Hutner S. H. Protein synthesis in cell-free preparation of *Crithidia fasciculata* // *J. Protozool.* 1968. Vol. 15. P. 385—390.
120. Kasschau M. B., Mansour T. E. Adenylate cyclase in adults and cercariae of *Schistosoma mansoni* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1982. Vol. 5. P. 65—132.
121. Kemp D. J., Easton K. E., Cowman A. F. Accurate transcription of a cloned gene from *Babesia bovis* in *Saccharomyces cerevisiae* // *Ibid.* 1984. Vol. 12. P. 61—67.
122. Keulen van H., Loverde P. T., Bobek L. A., Rekosh D. M. Organization of the ribosomal RNA genes in *Schistosoma mansoni* // *Ibid.* 1985. Vol. 15. P. 215—230.
123. Kim R., Ray D. A 189 base-pair fragment of *Crithidia fasciculata* maxi-circle DNA confers autonomous replication in *Saccharomyces cerevisiae* // *Mol. and Biochem. Parasit.* 1984. Vol. 12. P. 183—192.
124. Kleisen C. M., Borst P. Sequence heterogeneity of the mini-circle of kinetoplast DNA of *Crithidia luciliae* and evidence of presence of a component more complex than mini-circle in the kinetoplast network // *Biochim. et biophys. acta.* 1975. Vol. 407. P. 473—478.
125. Kleisen C., Borst P., Weijers P. The mini-circles of *Crithidia luciliae* are heterogeneous in base sequence // *Europ. J. Biochem.* 1976. Vol. 64. P. 141—151.
126. Kobayashi M. et al. Pyrimidine nucleotide biosynthesis in *Paragonimus ohirai* // *Intern. J. Parasitol.* 1978. Vol. 8. P. 471—477.
127. Koduri R., Ray D. S. Identification of autonomous replication sequences in genomic and mitochondrial DNA of *Crithidia fasciculata* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 10. P. 151—160.
128. Kurelec B. Initial steps of the de novo pyrimidine biosynthesis in *Ascaris suum* // *J. Parasitol.* 1973. Vol. 59. P. 1006—1011.
129. La Fon S. W., Nelson D. J. Purine metabolism in the intact sporozoites and merozoites of *Eimeria tenella* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 14. P. 11—22.
130. Lanar D. E., Levy L. S., Manning J. E. Complexity and content of DNA and RNA in *Trypanosoma cruzi* // *Ibid.* 1981. Vol. 3. P. 327—341.
131. Lanar D. E., Pearce E. J., Sher A. Expression in *Escherichia coli* of two *Schistosoma mansoni* genes that encode major antigens recognized by immune mice // *Ibid.* 1985. Vol. 17. P. 45—60.
132. Landfear S. M., Wirth D. F. Control of tubulin gene expression in the parasitic protozoa *Leishmania enrietti* // *Nature*. 1984. Vol. 309. P. 716—717.
133. Landfear S. M., Wirth D. F. Structure of mRNA encoded by tubulin genes in *Leishmania enrietti* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 15. P. 61—82.
134. Leaver J. L., Rampani G. Occurrence of histones in the trypanosomatid flagellate *Crithidia oncopelti* // *Biochem. J.*, 1971. Vol. 125. P. 44.
135. Laub-Kupersztein R., Thirion J. Existence of two-distinct protein synthesis systems in the trypanosomatid *Crithidia luciliae* // *Biochem. et biophys. acta.* 1974. Vol. 340. P. 314—322.
136. Leon W., Fouts D. L., Manning J. Sequence arrangement of the 16 S and 26 S rRNA genes in the pathogenic haemoflagellate *Leishmania donovani* // *Nucl. Acids. Res.* 1978. Vol. 5. P. 491—504.
137. Leon W., Frank A., Hoeijmakers J. et al. Maxi-circles and mini-circles in kinetoplast DNA from *Trypanosoma cruzi* // *Biochim. et biophys. acta.* 1980. Vol. 607. P. 221—231.
138. Lindmark D. G., Jarroll E. L. Pyrimidine metabolism in *Giardia lamblia* trophozoites // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1982. Vol. 5. P. 291—296.
139. Macina R. A., Sanchez D. O., Ajfranchino J. L. et al. Polymorphisms within

- mini-circle sequence classes in the kinetoplast DNA of *Trypanosoma cruzi* clones // *Ibid.* 1985. Vol. 16. P. 61—74.
140. *Mc Cutchan T. F., Dame J. B., Miller L. H., Barnwell J.* Evolutionary relatedness of *Plasmodium* species as determined by structure of DNA // *Science*. 1984. Vol. 225. P. 808—811.
 141. *Mc Manus D. P., Knight M., Simpson A. J. G.* Isolation and characterization of nucleic acids from the hydatid organisms, *Echinococcus* sp. (Cestoda) // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 16. P. 251—266.
 142. *Marr J. J., Berens R. L., Nelson D. J.* Purine metabolism in *Leishmania donovani* and *Leishmania braziliensis* // *Biochim. et biophys. acta*. 1978. Vol. 544. P. 360—371.
 143. *Maslov D. A., Kolesnikov A. A., Zaitzeva G. N.* Conservative and divergent base sequence regions in the maxi-circle kinetoplast DNA on several trypanosomatid flagellates // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 12. P. 351—364.
 144. *Miller R. L., Lindstead D.* Purine and pyrimidine metabolizing activities in *Trichomonas vaginalis* extracts // *Ibid.* 1983. Vol. 7. P. 41—51.
 145. *Miller F. W., Ilan J.* Evidence for major differences in ribosomal subunit proteins from *Plasmodium berghei* and rat liver // *Ibid.* P. 249—260.
 146. *Munich M. L., Simpson L., Simpson A. M.* Comparison of maxi-circles DNA's from *Leishmania tarentolae* and *Trypanosoma brucei* // *Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1983. Vol. 80. P. 4060—4064.
 147. *Northup J. K., Mansour T. E.* Adenylate cyclase from *Fasciola hepatica*: 1) Ligand specificity of adenylate cyclase-coupled serotonin receptors // *Mol. Pharmacol.* 1978. Vol. 14. P. 804—819.
 148. *Ninuno-Smith R. H., Keeling J. E. D.* Some hydrolytic enzymes of the parasitic nematode *Trichuris muris* // *Exp. Parasitol.* 1960. Vol. 10. P. 337—355.
 149. *Ntambi J. M., Marini J. C., Bangs J. D. et al.* Presence of a bent helix in fragments of kinetoplast DNA mini-circles from several trypanosomid species // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 12. P. 273—286.
 150. *Ogbunode P. O. J., Ikediobi C. O.* Comparative aspects of purine metabolism in some african trypanosomes // *Ibid.* 1983. Vol. 9. P. 279—287.
 151. *Odink K. G., Nicholls S. C., Lockyer M. J., Hillman Y.* Cloning of malarial genes coding for high molecular weight antigens: isolation of fragments of *Plasmodium falciparum* genes coding for proteins of 145000 molecular weight // *Ibid.* Vol. 10. P. 55—66.
 152. *Orozco E. M., Cray P. W., Hallick R. B.* *Euglena gracilis* chloroplast ribosomal RNA genes // *J. Biol. Chem.* 1980. Vol. 255. P. 10991—10996.
 153. *Pace N. R.* Structure and synthesis of the ribosomal ribonucleic acid of prokaryotes // *Bacteriol. Rev.* 1983. VVol. 37. P. 562—603.
 154. *Pappas P. W.* Nucleotide hydrolysis by solubilized membrane-bound enzymes in the brush border plasma membrane of *Hymenolepis diminuta* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1983. Vol. 8. P. 1—16.
 155. *Pappas P. W., Gamble H. R.* *Hymenolepis diminuta*: action of worm RNAase against RNA // *Exp. Parasitol.* 1978. Vol. 46. P. 256—261.
 156. *Payne M., Rothwell V., Jasmer D. P. et al.* Identification of mitochondrial genes in *Trypanosoma brucei* and Homology to cytochrome c oxidase II in two different reading frames // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 15. P. 159—170.
 157. *Perrin L. H., Dagal R.* Immunity to asexual erythrocytic stages of *Plasmodium falciparum*: role of defined antigens in the humoral response // *Immunol. Rev.* 1982. Vol. 61. P. 245—269.
 158. *Ponzi M., Birago C., Battaglia P. A.* Two identical symmetrical regions in the mini-circle structure of *Trypanosoma lewisi* kinetoplast DNA // *Ibid.* 1984. Vol. 13. P. 111—119.
 159. *Price M., Specht C., Bondrean R. E. et al.* Preliminary characterization of ribosomes of *Entamoeba invadens* // *Ibid.* 1983. Vol. 8. P. 137—143.
 160. *Pierce R. J., Aimar C., Balloul J. M. et al.* Translation of *Schistosoma mansoni* antigens in xenopus oocytes microinjected with mRNA from adult worms // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 15. P. 171—188.
 161. *Reijnders L., Stoof P., Sival J., Borst P.* Gel electrophoresis of RNA under denaturing conditions // *Biochim. et biophys. acta*. 1973. Vol. 324. P. 320—333.

162. Reyes P., Rathod P. K., Sanchez D. J. et al. Enzymes of purine and pyrimidine metabolism from the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1982. Vol. 5. P. 275—290.
163. Riou G., Pantrizel R. Nuclear and kinetoplasmic DNA from trypanosomes // J. Protozool. 1969. Vol. 16. P. 509—513.
164. Riou G., Saucier J. Characterization of the molecular components in kinetoplast-mitochondrial DNA of *Trypanosoma equiperdum* // J. Cell. Biol. 1979. Vol. 82. P. 248—263.
165. Romanowski R. D. Purification and properties of a ribonuclease from the excretory gland cells of *Stephanurus dentatus* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1982. Vol. 5. P. 77—92.
166. Schwartzman J. D., Pfeifferkorn E. R. Pyrimidine synthesis by intracellular *Toxoplasma gondii* // J. Parasitol. 1981. Vol. 67. P. 150—158.
167. Senft A. W., Miech R. P., Brown P. R., Senft D. G. Purine metabolism in *Schistosoma mansoni* // Intern. J. Parasitol. 1972. Vol. 2. P. 249—260.
168. Senft A. W., Senft D. G., Miech R. P. Pathways of nucleotide metabolism in *Schistosoma mansoni*. II: Disposition of adenosine by whole worms // Biochem. Pharmacol. 1973. Vol. 22. P. 437—447.
169. Senft A. W., Crabtree G. W., Agarwal K. C. et al. Pathways of nucleotide metabolism in *Schistosoma mansoni*. III: Identification of enzymes in cell-free extracts // Biochem. Pharmacol. 1973. Vol. 22. P. 449—458.
170. Short R. B., Menzel M. Y., Pathak S. Somatic chromosomes of *Schistosoma mansoni* // J. Parasitol. 1979. Vol. 65. P. 471—473.
171. Simpson L., Da Silva A. Isolation and characterization of kinetoplast DNA from *Leishmania tarentolae* // J. Mol. Biol. 1971. Vol. 56. P. 443—473.
172. Simpson A. M., Simpson L. Isolation and characterization of kinetoplast DNA networks and mini-circle from *Crithidia fasciculata* // J. Protozool. 1974. Vol. 21. P. 774—781.
173. Simpson A. M., Simpson L. Kinetoplast DNA and RNA of *Trypanosoma brucei* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1980. Vol. 2. P. 93—108.
174. Simpson A. M., Simpson L., Livingston L. Transcription of the maxi-circle kinetoplast DNA of *Leishmania tarentolae* // Ibid. 1982. Vol. 6. P. 237—252.
175. Simpson A. J. G., Sher A., Cutohan T. F. Mc. The genome of *Schistosoma mansoni*: isolation of DNA, its size bases and repetitive sequences // Mol. and Biochem. Parasitol. 1982. Vol. 6. P. 67—140.
176. Simpson L., Spithill T. W., Simpson A. M. Identification of maxi-circle DNA sequences in *Leishmania tarentolae* that are homologous to sequences of specific yeast mitochondrial structural genes // Mol. and Biochem. Parasitol. 1982. Vol. 6. P. 253—264.
177. Simpson A. J. G., Dame J. B., Lewis F. A., Gutchan T. F. Mc. The arrangement of ribosomal RNA genes in *Schistosoma mansoni*: Identification of polymorphic structural variants // Europ. J. Biochem. 1984. Vol. 130. P. 41—45.
178. Sonto-Padron T., de Souza W. Ultrastructural localization of basic proteins in *Trypanosoma cruzi* // J. Histochem. and Cytochem. 1978. Vol. 26. P. 349—358.
179. Spencer R., Cross G. A. M. Lability of RNA from the large cytoplasmic ribosomal subunit of the protozoan *Crithidia oncopelti* // J. Gen. Microbiol. 1976. Vol. 93. P. 82—88.
180. Stevens A. R., Pachler P. F. Discontinuity of 26S rRNA in *Acanthamoeba castellanii* // J. Mol. Biol. 1972. Vol. 66. P. 225—237.
181. Stevens A. R., Kilpatrick T., Willaert E., Capron A. Serological analysis of cell-surface antigens of *Acanthamoeba* // J. Protozool. 1977. Vol. 22. P. 245—256.
182. Stuart K. Kinetoplast DNA of *Trypanosoma brucei*: Physical map of the maxi-circle // Plasmid. 1979. Vol. 2. P. 520—528.
183. Sugane K., Oshina T. Purification and characterization of excretory and secretory antigen of *Toxocara canis* larvae // Immunology. 1983. Vol. 50. P. 113—120.
184. Sugane K., Irving D. O., Howell M. J., Nicholas W. L. In vitro translation of mRNA from *Toxocara canis* larvae // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 14. P. 275—282.

185. Swanson-Beck J., Walker P. J. Antigenicity of trypanosome nuclei: evidence that DNA is not coupled to histones in these protozoa // *Nature*. 1964. Vol. 204. P. 194—195.
186. Taylor D. W., Cordingley J. S., Butterworth A. E. Immuno-precipitation of surface antigen precursors from *Schistosoma mansoni* messenger RNA in vitro translation products // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 10. P. 305—318.
187. Togan J., Güllen S. Pyrimidine biosynthesis in *Fasciola hepatica* // 3rd Intern. Conf. Parasitol. Munich, 1974. Vol. 3. P. 1492.
188. Turner G., Müller M. Failure to detect extranuclear DNA in *Trichomonas vaginalis* and *Trichomonas foetus* // *J. Parasitol.* 1983. Vol. 69. P. 234—236.
189. Tyndall R. L., Willaert E., Stevens A. R., Nicholson A. Pathogenic and enzymatic characteristics of *Acanthamoeba* isolated from cultured tumor cells // *Protistologica*. 1979. Vol. 15. P. 17—22.
190. Unnath T. R., Mc Lafferty M., Wirth D. F. The primary structure of the rRNA insertions of *Plasmodium lophurae* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 16. P. 149—161.
191. Vezza A. C., Trager W. Preliminary characterization of the major RNA species from *Plasmodium falciparum* // *Ibid.* 1981. Vol. 4. P. 149—162.
192. Visvesvara G. S., Balamuth W. Comparative studies of related free-living and pathogenic amoebae with special reference to *Acanthamoeba* // *J. Protozool.* 1975. Vol. 22. P. 245—256.
193. Wallach M. Efficient extraction and translation of *Plasmodium falciparum* messenger RNA // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1982. Vol. 6. P. 335—342.
194. Wallach M., Kilejan A. The importance of tRNA for the in vitro cell-free translation of messenger RNA isolated from the malaria parasite *Plasmodium lophurae* // *Ibid.* 1982. Vol. 5. P. 245—262.
195. Wallach M., Cully D. F., Haas L. O. C. et al. Histidine-rich protein genes and their transcripts in *Plasmodium falciparum* and *P. lophurae* // *Ibid.* 1984. Vol. 12. P. 85—94.
196. Wang C. C., Simashkevich P. M. Purine metabolism in the protozoan parasite *Eimeria tenella* // *Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1981. Vol. 78. P. 6618—6622.
197. Wang C. C., Verham R., Rice A., Tzeng S. Purine salvage by *Trichomonas foetus* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1983. Vol. 8. P. 325—327.
198. Wang C. C., Cheng H. W. Salvage of pyrimidine nucleosides by *Trichomonas vaginalis* // *Ibid.* 1984. Vol. 10. P. 171—184.
199. Wang A. L., Wang C. C. Isolation and characterization of DNA from *Trichomonas foetus* and *Trichomonas vaginalis* // *Ibid.* 1985. Vol. 14. P. 323—335.
200. Weber J. L., Hockmeyer W. T. Structure of the circumsporozoite protein gene in 18 strains of *Plasmodium falciparum* // *Ibid.* 1985. Vol. 15. P. 305—316.
201. Wieslogel P., Hoeijmakers J., Fairlamb A. et al. Characterization of kinetoplast DNA networks from the insect trypanosome *Crithidia luciliae* // *Biochim. et biophys. acta*. 1977. Vol. 478. P. 167—179.
202. Williamson D. H., Wilson R. J. M., Bathes P. A. et al. Nuclear and mitochondrial DNA of the primate malaria parasite *Plasmodium knowlesi* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 14. P. 199—209.
203. Wong P. C. L., Yeung S. B. Pathways of purine ribonucleotide biosynthesis in the adult worm *Metastrongylus apri* (Nematoda: Metastrongyloidea) from pig lung // *Ibid.* 1981. Vol. 2. P. 285—294.
204. Yamada K. A., Sherman I. W. Purine metabolising enzymes of *Plasmodium lophurae* and its host cell, the duckling (*Anas domestica*) erythrocyte // *Ibid.* P. 349—358.
205. Yamada K. A., Sherman I. W. Purine metabolism by the avian malaria parasite *Plasmodium lophurae* // *Ibid.* Vol. 3. P. 253—264.
206. Yao M. C., Gall J. G. A single integrated gene for ribosomal RNA in eukaryote, *Tetrahymena pyriformis* // *Cell*. 1977. Vol. 12. P. 121—132.

ОБМЕН БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ

ТРАДИЦИОННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Особенностям белков у эндопаразитов посвящено большое число исследований. Отрабатывались способы выделения и очистки отдельных белков, определялся их аминокислотный состав, пути синтеза и распада. В нашей стране первые исследования в этом направлении были начаты И. А. Смородинцевым и К. В. Бебешиним еще в начале 30-х годов в Институте им. Е. И. Марциновского, затем серия работ по ферментам белкового обмена у гельминтов была выполнена в Институте гельминтологии им. К. И. Скрябина под руководством О. И. Поляковой, и, наконец, третий центр изучения обмена белков и биологически активных веществ у гельминтов возник в Гельминтологической лаборатории АН СССР под руководством О. А. Шишовой-Касаточкиной и З. К. Леутской. Изучение обмена эндопаразитических простейших, определение у них белков и аминокислот и выяснение их пищевых потребностей проводилось в основном в академических лабораториях, а также в МГУ и ЛГУ. Ознакомиться с этими интересными исследованиями можно по публикациям т. XVII Трудов Всесоюзного института гельминтологии им. К. И. Скрябина [23], книге О. А. Шишовой-Касаточкиной, З. К. Леутской [28], монографии А. Е. Хованских [25], по обзорным статьям [19, 20, 22, 26, 75] и по работам иностранных авторов [33, 35, 51, 68]. Здесь мы ограничимся лишь кратким обзором обмена аминокислот и белков у эндопаразитов и разбором некоторых работ последних лет, в которых намечаются новые направления исследований.

Цифры, выражающие содержание белка в целом эндопаразите или отдельных его тканях или органеллах, многократно менялись и уточнялись. В ранних работах пользовались коэффициентом пересчета азота на белок, равным 6,25, что оказалось малоприменимым для эндопаразитов и вообще для многих беспозвоночных, затем стали совершенствовать методы экстракции и разделения. Ниже приводим содержание суммарного белка у некоторых эндопаразитов (в % от сырого веса [34]) с дополнением: *T. cruzi* (в культуре) — 43—53%, ооцисты *Eimeria acervulina* — 41, *Eutodinium caudatum* — 25, *Fasciola hepatica* — 58, *F. gigantica* — 67, *Gastrothylax crumenifer* — 49, *Paramphistomum explanatum* — 53; *Cittotaenia perplexa* — 21, сколексы *Echinococcus granulosus* — 61, *Hymenolepis diminuta* — 32—33, *Moniezia expansa* — 22, *Raillietina cisticillus* — 27—29, личиночная стадия *Taenia taeniaeformis* — 27—29, взрослая стадия *T. taeniaeformis* — 45, *Thysanosoma actinoides* — 29, *Ascaris lumbricoides* — 48—57, *Macrocanthorhynchus hirudinaceus* — 70, личинки *Nippostrongylus brasiliensis* — 76, половозрелые *N. brasiliensis* — 43%. Из приведенных ориентировочных цифр можно сделать вывод о том, что, во-первых, цифры сильно колеблются, и, видимо, не коррелируют ни с таксономической принадлежностью, ни с образом жизни паразита, во-вторых, что на разных стадиях развития одного паразита (*T. taeniaeformis*, *N. brasiliensis*) цифры могут разниться между собой почти вдвое.

Отдельные белки некоторых эндопаразитов, в основном гельминтов,

изучены довольно подробно, что позволило выявить определенные отличия от белков хозяев. Так, белок кутикулы аскариды, как и других нематод, не является ни коллагеном, ни кератином. Коллаген беспозвоночных содержит 30% глицина, 12 — пролина, 10 — оксипролина; 5 — оксиглицина, от 5 до 15% углеводов. В кутикулярном белке аскариды: глицина — 18,1, 20,4, или 26% (по разным источникам), пролина — 22,1, 22,7 или 29%, оксипролина — 1,58 или 2%, оксиглицина вовсе не содержится, углеводов — 0,04%. В то же время для белка аскариды характерны дисульфидные мостики и наличие катехолоксидазы (кроме этого фермента, имеются эстераза, АТФ-аза, кислая фосфатаза, РНК-аза и другие ферменты). Показана складчатая четвертичная структура кутикулярного белка аскариды, наличие в кутикуле активных систем транспорта отдельных соединений [33].

Подробно изучен в последние годы и сократительный белок мышц аскариды [33]. Актиниозин составляет 10% белков мышц (55% у млекопитающих); миозин разделен на тяжелую (220 кД) и две легкие фракции (16 и 18 кД). Показано фосфорилирование этих белков цАМФ-зависимой протеинкиназой, актин разделен на α - и β -фракции, очищен тропомиозином, который оказался близким тропомиозину гладкой мускулатуры хозяина. В целом (за небольшими отличиями) подтвердился общий биохимический план строения сократительных белков у животных, несмотря на морфологические и функциональные разнообразия мышц [50, 52].

Кроме того, выделены и частично изучены: кутиктин, склеротин, поверхностный белок кутикулы яиц, аскариды и другие белки аскариды. Для дальнейшего изложения важно упомянуть только о свойствах гемоглобинов. У аскариды, как у некоторых других паразитических нематод, два разных гемоглобина: в стенке тела и в целомической жидкости. Необычно высокое сродство к кислороду, особенно у Нв целомической жидкости ($P_{50} = 0,001—0,0038$ мм Hg при 20° и pH 7,0), заставляет сомневаться в том, что гемоглобин аскариды участвует в переносе кислорода. Его назначение, видимо, в том, чтобы служить запасом гематина для яиц [63]; гематин не синтезируется в тканях паразита (имеется лишь система превращения протопорфирина IX в гем), но запас гематина должен быть заложен в яйца для обеспечения аэробной фазы жизненного цикла. Кроме того, порфирины являются необходимым фактором роста для половозрелой аскариды.

В обзоре, посвященном распространению и функциям гемоглобинов у паразитических животных, Ли и Смит [64] приводят список более ста паразитов, у которых определяли содержания гемоглобина в тканях и целомической жидкости. Вот обобщенный результат обследования (табл. 32).

Описаны отдельные курьезные случаи наличия гемоглобина у паразита (*Proctococcus*) при отсутствии гемоглобина у хозяина. У *Heterakis Nippostrongylus* гемоглобин играет роль переносчика O_2 . У *Ascaris* эта роль сомнительна, у *Diocotophyme*, *Strongylus* и *Proctococcus* гемоглобин определенно не является переносчиком, поскольку он не отдает кислород даже под вакуумом и при химическом воздействии. Можно ли думать, что мы имеем здесь пример утраты сперва функции, потом самой

Т а б л и ц а 32
Наличие гемоглобина у беспозвоночных

Таксон	Число изученных видов	Есть гемоглобин	Нет гемоглобина
Трематоды	27	9	18
Цестоды	6	0	6
Нематоды	33	18	15
Акантоцефалы	6	0	6
Аннелиды	3	3	0
Личинки насекомых	12	3	9
Ракообразные	17	6	11
Клещи	3	0	3

молекулы при переходе к эндопаразитизму? Причем сперва выпали пути синтеза тетрапиррольного кольца из простых предшественников и порфирины стали фактором роста, а гемоглобин — резервом гематина и аминокислот, например у аскариды.

Не будем рассматривать здесь вопрос о наличии функциональной активности цитохромов и цитохромоксидазы у эндопаразитических простейших и гельминтов, это относится больше к разделу «Углеводный и энергетический обмен», чем к обмену белков и аминокислот.

Синтез белков протекает у эндопаразитов интенсивно по общей для эукариотов схеме. Трансляция иРНК изучалась в бесклеточных системах из сколексов *E. granulosus*, из личинок *T. crassiceps* и из *H. diminuta*, а также в гетерологичных системах из ретикулоцитов кролика и др. Синтез белка у аскариды протекает и в анаэробных условиях.

Ингибиторы циклогексимид и хлорамфеникол использованы для выявления синтеза митохондриальных пептидов у простейших. На долю митохондриальных пептидов приходится 2,15% от всего синтеза белка у *Neurospora crassa*, 5,7% — у *Trypanosoma brucei brucei* и почти 50% — у *Crithidia luciliae*. У *Plasmodium falciparum* синтез митохондриальных пептидов не найден, практически весь синтез является цитоплазматическим и осуществлялся на 80S-рибосомах [53]. По сравнительной биохимии обмена белков см. обзоры [60, 80].

Интенсивность биосинтезов у эндопаразитов определяется скоростью роста и размножения. Так, например, в период экспоненциальной фазы развития *H. diminuta* удваивает свой вес каждые 24 часа, *D. latum* — каждые 27 часа, *Schistosoma mansoni* — каждые 3 дня, *Hydatigera taenipaeformis* — каждые 8 дней. Темпы увеличения биомассы эндопаразитических простейших еще выше. Количество яиц, откладываемых в сутки половозрелой самкой гельминта, весьма значительно: *Haemonchus contortus* — 5000, *Ancylostoma duodenale* — 24 000, *Fasciolopsis buski* — 25 000, *Ascaris lumbricoides* — 200 000. Масса яиц и секрета, выделяемого самкой аскариды в сутки, равна одной десятой части веса ее собственного тела. Естественно, что напряженный синтез белков требует наличия запасов аминокислот и мощных систем обеспечения биосинтеза строительными материалами [80].

Опубликованы интересные данные о потреблении гельминтами пеп-

Т а б л и ц а 33

Зависимость от температуры константы скорости (в мг/мин)
и энергии активации (в кал/моль) уреазы гельминтов млекопитающих,
рыб и птиц, по [28]

Т° С	Ascaris suum		Contracaecum aduncum		Ascaridia galli	
	а	б	а	б	а	б
17	Не активна		$1,08 \cdot 10^{-3}$	5280	Не активна	
27	$1,33 \cdot 10^{-4}$	—	$1,32 \cdot 10^{-3}$	6784	»	
37	$3,28 \cdot 10^{-4}$	13 880	$2,31 \cdot 10^{-3}$	9800	$1,16 \cdot 10^{-4}$	—
47	$14,8 \cdot 10^{-4}$	29 976	$2,31 \cdot 10^{-3}$	—	$1,31 \cdot 10^{-4}$	2560

Примечание. а — константа скорости; б — энергия активации.

тидов и аминокислот из внешней среды [9, 10, 11, 12, 24, 26], об активности и специфичности их протеолитических ферментов [13, 15, 20, 22, 28], об избирательности активного транспорта аминокислот через их кутикулу [17, 18, 21, 26, 75], о системах деградации белков и образования мочевой кислоты, мочевины и аммиака в качестве конечных продуктов [14, 19, 20, 24, 27]. В табл. 33 объединены данные двух таблиц [28]. Показано, что адаптация эндопаразитов к температуре тела хозяина выражается в изменении констант изученных ферментов белкового обмена.

Содержание свободных аминокислот в тканях эндопаразитов выше, чем в тканях млекопитающих (50—100 мг/100 г сырой ткани), но ниже, чем в тканях свободноживущих беспозвоночных (300—2000 мг/100 г сырой ткани) [33]. Для гельминтов приводятся следующие цифры: *Ascaris lumbricoides* — 20, *Schistosoma mansoni* — 112, *Fasciola hepatica* — 300, *Paragonimus westermani* — 522, цестоды — от 100 до 400 мг на 100 г сырой ткани.

В табл. 34 приведены данные из разных источников о наличии отдельных аминокислот у гельминтов.

Тканевые и кишечные паразиты поглощают свободные аминокислоты из среды через покровы тела, пищевые вакуоли или пищевой аппарат. У некоторых видов описано выделение протеолитических ферментов и пристеночный протеолиз. Многие паразиты, в основном гельминты, у которых эти реакции лучше изучены, способны синтезировать отдельные аминокислоты, как аспартат из оксалацетата и глютамат — из 2-оксoglutarата путем переаминирования, аланин — путем аминирования пирувата, глицин — из серина в присутствии тетрагидроfolата [45, 78, 88].

В последние годы опубликованы работы по культивированию отдельных стадий эндопаразитов *in vitro*, для некоторых видов удалось воспроизвести в искусственных условиях почти целиком цикл развития. В этих работах применялись или сложные среды неопределенного состава, или среды, заведомо избыточные по составу и количеству компонентов, поэтому истинные, минимальные потребности эндопаразитов в аминокислотах и пептидах остаются невыясненными. В качестве примера приводим (из разных источников) число аминокислот, поглощаемых из среды отдельными паразитическими простейшими: 1. Жгутиконосцы *C. fasciculata* — 10, *L. donovani* — 2 (глутамин и аспартат), *L. tarento-*

Таблица 34
Наличие аминокислот у гельминтов, по [34] (сокращенный вариант)

Аминокислота	Гельминты							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Аланин	x	x	x	x	x	x	x	x
Глицин	x	x	x	x	x	x	x	x
Валин	x	x	x	x	x		x	x
Лейцин		x	x	x	x	x	x	x
Изолейцин		x	x	x	x	x	x	
Пролин	x	x	x	x		x	x	x
Фенилаланин	x	x	x	x		x	x	x
Тирозин	x	x	x	x		x	x	x
Серин	x	x	x	x		x	x	x
Треонин	x	x	x	x			x	x
Цистин								
Цистеин	x							
Метионин	x	x		x			x	x
Аргинин	x	x	x	x	x			x
Лизин	x	x	x	x			x	x
Гистидин	x	x		x	x		x	x
Аспартат	x	x	x	x	x		x	x
Глутамат	x	x	x	x	x		x	x
Гидроксипролин		x						
Триптофан		x	x		x			x
Орнитин	x	x						
Аспарагин		x						x
Глютамин								x

Примечание. 1 — *Trichomonas foetus* (аминокислоты свободные в составе белков); 2 — *Echinococcus granulosus* (аминокислоты в жидкости цисты); 3 — то же (аминокислоты в составе белков и жидкости цисты); 4 — то же (аминокислоты в сколексах); 5 — *Mopiezia expansa*; 6 — *Ascaris lumbricoides* (аминокислоты в стенках тела); 7 — то же (свободные аминокислоты в овариях); 8 — то же (аминокислоты белков в овариях); 9 — то же (свободные аминокислоты в целомической жидкости); 10 — то же (аминокислоты белков в целомической жидкости); 11 — то же (аминокислоты в личинках); 12 — *Trypanosomidae*

lae — 15, *L. oncopelti* — 4 (глютамин, аспарагин, глютамат, аспартат), *T. foetus* — по одним данным — 2 (глютамин и глютамат), по другим — 13, *T. vaginalis* — 4 (аргинин, цистин, гистидин, метионин), *T. lewisi* — 4 (глютамин, аспарагин, глютамат, аспартат), *T. rhodesiense* — 2 (глютамат и глютамин); II. Споровики: *P. knowlesi* — 2 (цистеин и метионин), *P. falciparum* — 7. Эти данные приведены только для того, чтобы показать большой разброс цифр и их неопределенность. Понятие «потребность в незаменимых аминокислотах» имеет четкий смысл в применении к свободноживущим видам, но не к эндопаразитам. Эндопаразит использует те аминокислоты, которые ему предоставляет хозяин (так же, как используют аминокислоты некоторые ткани и органы самого хозяина), при этом одни пути аминокислотного обмена могут быть усилены в связи со специфическими потребностями паразита, как, например, яйцекладка, другие — быть малоактивными в обычных условиях, но включаться в особых случаях, например при голодании хозяина, третьи — отсутствовать при сохранении на отдельных стадиях цикла развития способности к реактивации за счет дерепрессии временно нетранслируемой ин-

Таблица 35
Амины, синтезируемые гельминтами, по [33] (с добавлениями)

Вид паразита	Адреналин	Норадреналин	Допа-мин	Триптамин	Серотонин	Гистамин
Нематоды						
<i>A. lumbricoides</i>	x	x				x
<i>A. galli</i>	—				x	
<i>H. contortus</i>	x	x				
<i>L. carinii</i>		x			x	x
		x	x		x	x
<i>Parrocaecum diciens</i>		x	x	x		
Трематоды						
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>					x	
<i>F. hepatica</i>	x	x				x
<i>Paragonimus ohirai</i>		x				
<i>P. westermani</i>		x				x
<i>Schistosoma haematobium</i>						x
<i>S. japonicum</i>	x	x				x
<i>S. mansoni</i>	x	x				x
Цестоды						
<i>H. diminuta</i> , <i>H. nana</i> , <i>D. caninum</i> , <i>Meso-</i> <i>uotoides corti</i> , <i>Spiro-</i> <i>metra mansanridis</i> , <i>Moniezia expansa</i> , <i>E. granulosus</i> , <i>Taenia</i> <i>solium</i>						x

Наконец, возникает вопрос о микрофлоре, которая сопутствует эндопаразитам. Для чистых экспериментов необходимы аксенические культуры паразитов. Приводим список паразитических и свободноживущих стадий отдельных гельминтов, которые научились поддерживать в аксенических культурах [80]:

1. Свободноживущие стадии видов: *Haemonchus contortus*, *Ancylostoma duodenale*, *A. braziliense*, *A. caninum*, *Necator americanus*, *N. brasiliensis*, *Nematospiroides ratti*, *Strongyloides* sp., *Cooperia punctata*.

2. Паразитические стадии видов: *H. contortus*, *Ostertagia* sp., *Hyostongylus rubidus*, *Oesophagostomum radiatum*, *O. quadrispinulatum*, *Cooperia* sp., *C. punctata*, *C. oncophora*, *Ostertagia ostertagi*, *O. circumcincta*, *O. trifurcata*, *Trychostrongylus axei*, *Oesophagostomum* sp., *Nematodirus* sp., *Cooperia pectinata*, *Hyostongylus rubidus*, *Oesophagostomum dentatum*.

Аминокислоты используются эндопаразитами для синтеза белков, для образования биологически активных соединений (аминов), в качестве горючего материала для удовлетворения биоэнергетических потребностей и, вероятно, для сохранения осмоотичности с организмом хозяина. Многие аминокислоты выбрасываются во внешнюю среду как отходы: судьба приживалы не способствует выработке склонности к самоограничению. В табл. 35 приведены биологически активные амины у гельмин-

Таблица 36

Влияние добавления аминокислот в среду
на потребление кислорода *Tetrahymena pyriformis*, по [51]

Аминокислота	Увеличение потребления O ₂ , %	Аминокислота	Увеличение потребления O ₂ , %
L-фенилаланин	52,1	L-пролин	21,6
L-тирозин	49,1	L-изолейцин	19
L-цистеин	35,2	L-лейцин	17,6
D-цистеин	26,7	D-лейцин	12,6

Примечание. Добавление других 28 аминокислот не оказало влияния.

Таблица 37

Состав конечных продуктов обмена белков,
выделяемых некоторыми гельминтами (в % от общего азота), по [80]

Вид гельминта	Аммиак	Моче- вина	Пептиды	Амино- кислоты	Амины	Мочевая кислота
<i>Ditylenchus trifurmis</i>	39	0	+	28	+	0
<i>A. lumbricoides</i> (+O ₂)	69	7	21	+	—	0
<i>A. lumbricoides</i> (—O ₂)	71	6	18	+	—	0
При циркуляции среды в V-образной трубке	27	51	19	—	—	0
<i>A. galli</i> (+O ₂)	56	12	15	+	—	0
<i>A. galli</i> (—O ₂)	59	15	15	+	—	0
<i>Nematodirus</i> sp. (+O ₂)	42	14	35	+	—	3
<i>Nematodirus</i> sp. (—O ₂)	29	4	35	+	—	4
<i>T. spiralis</i> (+O ₂)	33	0	21	28	7	0

Примечание. +O₂ — присутствие кислорода; —O₂ — отсутствие кислорода.

тов, а в табл. 36 показано активирующее действие добавления аминокислот на потребление кислорода простейшим; в табл. 37 дан также состав конечных продуктов азотистого обмена, выделяемых отдельными гельминтами.

Синтез и накопление белка в эндозонитах *Toxoplasma gondii* изучала Т. В. Бейер с сотр. [2], состав свободных аминокислот в ооцистах *Eimeria tenella* — Е. С. Сванбаев [21]. Показано, что при споруляции ооцист содержание метионина падает в 7 раз, глутамата — в 6 раз, фенилаланина, глицина, аланина, треонина, серина — в 4 раза, лизина — в 3, пролина — в 2,5, тирозина и аргинина — в 2 и валина — в 1,5 раза [25]. Кокцидии *E. tenella* избирательно поглощают аминокислоты клетки хозяина [24].

Экскреция аминокислот составляет значительную часть экскреции продуктов азотистого обмена у паразитических нематод. У некоторых видов выделяется в среду до 24 разных аминокислот, на долю которых приходится до 49% всего азота, выделяемого эндопаразитом [80]. Думается, что к этим результатам следует относиться осторожно, поскольку они получены в условиях, далеких от естественных.

Среди аминов, выделяемых эндопаразитическими гельминтами, определены этилендиамин, кадаверин, этаноламин, метиламин, пропиламин, бутиламин (у *Nippostrongylus brasiliensis*); у *T. spiralis* обнаружены,

кроме того, этиламин, амиламин, гептиламин и 1-амино-2-пропанол. О. А. Шишова-Касаточкина [28] указывает на возможность образования токсических аминов кадаверина, путресцина, гистамина путем декарбосилирования соответствующих аминокислот в тканях аскариды.

Ферменты цикла мочевины — аргиназа и орнитинтранскарбомилаза — выявлены у 11 цестод, 4 трематод и многих нематод, но функциональная значимость самого цикла неодинакова у разных видов и в целом сомнительна: у многих эндопаразитических гельминтов нет полного набора ферментов цикла мочевины, а у тех, у которых этот набор имеется, цикл проявляет свою активность только в определенных, искусственно создаваемых условиях.

Если у млекопитающих сохранились древние рудиментарные органы и малоактивные пути обмена, почему не могли сохраниться в качестве реликтов свободной жизни некоторые цепочки обмена, потерявшие свою значимость при переходе к эндопаразитизму простейших и гельминтов?

Систематического исследования ферментов основных путей обмена не проводилось, насколько нам известно, ни у эндопаразитических простейших, ни у гельминтов. Имеются, однако, многочисленные разрозненные работы, которые обобщены в обзорах, например в трехтомнике «Химическая зоология» [33]. Гидролазы (нуклеазы, фосфатазы и др.) описаны у 26 видов паразитических простейших и гельминтов; протеиназы и пептидазы (у гельминтов они подразделены на пищеварительные и тканевые) описаны у более 20 видов и, как обычно, подразделены на эндо- и экзопептидазы; описаны карбогидразы, поли- и олигосахаридазы, эстеразы и липазы эндопаразитов [80].

У ряда ферментов найдены отличия от гомологических ферментов хозяина (различия в оптимуме pH, специфичности, кофакторах, оптимуме температуры, кинетике и т. д.). Перечислять особенности нет смысла, поскольку пока не удастся выявить общие закономерности, которые можно было бы связать с переходом к эндопаразитизму. Наблюдаемые различия можно объяснить систематическим положением эндопаразита, но только предположительно, поскольку свободноживущие организмы, родственные эндопаразитическим видам, еще менее изучены биохимически, чем эндопаразиты. Мы уже отмечали, что интересной закономерностью, которую можно, без сомнения, объяснить адаптацией к эндопаразитизму, является приуроченность оптимума температуры ферментов эндопаразитов к температуре тела хозяина: у ферментов паразитов пойкилотермных животных оптимумы ниже, чем у ферментов паразитов теплокровных, а из паразитов теплокровных они наиболее высокие у паразитов птиц [27, 86].

Другой особенностью, связанной с образом жизни, можно считать наличие целлюлазы и гиалуронидазы у эндопаразитов, которые активно внедряются в ткани хозяина. С эндопаразитизмом, видимо, также связано широко распространенное явление выделения ферментов (амилаз, фосфатаз, протеиназ, РНК'аз, ДНК'аз и других энзимов) во внешнюю среду, т. е. в организм хозяина [69, 79, 83].

НОВЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

В последние годы изучение белков эндопаразитов проводится более целенаправленно, в нескольких преобладающих направлениях:

1) сравнивают наборы полипептидов или изоферментов у близких видов или подвидов эндопаразитов в надежде найти биохимические различия, пригодные для систематики;

2) изучают строение и функции поверхностных белков эндопаразитов и их роль в паразито-хозяйственных отношениях;

3) определяют смену состава белков на последовательных стадиях жизненного цикла паразита и механизмы, определяющие эту вариабельность;

4) ведут целенаправленный поиск антигенов, пригодных для иммунодиагностики и иммунопрофилактики эндопаразитов.

По каждому из этих направлений имеются десятки отечественных и иностранных работ. Кратко излагая отечественные работы, которые, как правило, известны читателям-паразитологам, приведем примеры из публикаций последних лет, появившихся в специализированных журналах, малодоступных широкому кругу читателей.

Биохимическая таксономия эндопаразитов. В систематике паразитов все шире находят применение методы молекулярной биологии: метод рекомбинантных ДНК, создание банка ДНК, отбор рекомбинантных плазмид, применение блотгибридизации моноклональных антител для выявления антигенных детерминантов, анализ продуктов трансляции генов в бесклеточных системах и другие методы. Широко используется определение электрофоретического полиморфизма энзимов [71]. (табл. 38).

Биохимический полиморфизм *Parascaris equorum*, *Toxosaga canis* и *Toxosaga cati* недавно изучен С. Надлером [70]. Изучены 26 различных белков, из них 24 фермента (9 оксидоредуктаз, 4 трансферазы, 8 гидролаз, 2 изомеразы). Среди всех классов энзимов обнаружены мономорфные и высокополиморфные белки, наиболее выраженный полиморфизм наблюдается у гидролаз, наименьший — у оксидоредуктаз. Процент полиморфных локусов и среднее значение гетерозиготности были следующими: у *P. equorum* — 22,2% и $0,085 \pm 0,042$; у *T. canis* — 33,3% и $0,135 \pm 0,061$; у *T. cati* — 38,9% и $0,137 \pm 0,057$.

Полученные цифры указывают на высокую генетическую гетерогенность популяций аскарид лошади, собаки и кошки.

Применение двухмерного электрофореза в полиакриламидном геле для разделения пептидов, синтезированных после импульсной радиометки, позволило показать гетерогенность популяций возбудителя малярии из одного изолята: 5 генетически различных типов возбудителя тропической малярии выделены из одного изолята и 2 типа — из другого на основании анализа вариаций 12 гомологических белков [49].

Выделение поли (A⁺) РНК из трипаносом и их трансляция в бесклеточной системе из ретикулоцитов кролика с последующим выявлением синтезированных иммуноактивных полипептидов специфическими антисыворотками успешно применено для сравнения между собой вариабельных поверхностных гликопротеинов разных видов паразитических трипаносом [41].

Выделение и очистка после радиометки поверхностного белка (мол.

Таблица 38

Степень генетической близости морфологически неразличимых нематод, рассчитанная по полиморфизму ферментов, по [37]

Вид нематод	I	D
<i>Ascaris suum</i> — <i>A. lumbricoides</i>	0,76	0,27
<i>Anisakis simplex</i> A — <i>A. simplex</i> B	0,72	0,33
<i>Toxocara canis</i> — <i>T. cati</i>	0,32	1,14
<i>Parascaris univalens</i> — <i>P. equorum</i>	0,14	1,96

Примечание: I — показатель стандартной генетической близости (по Ней), колеблется от 0 до 1; D — показатель стандартной генетической отдаленности (по Ней), колеблется от 0 до бесконечности и выражает число накопившихся, электрофоретически выявляемых вариаций в геноме, произошедших после дивергенции.

масса 63 000) из кутикулы промастигот трех видов лейшманий — *L. major*, *L. donovani*, *L. tropica* — с последующим сравнением разогнанных пептидов, полученных после частичного протеолиза, позволили показать общность биохимической структуры лейшманий Старого Света, причем *L. major* и *L. donovani* значительно более близки между собой (судя по первичной структуре изученного белка), чем *L. tropica* [44].

Анализ сконструированного банка геномной ДНК трофозоитов и шизонтов *Plasmodium lophurae* позволил отобрать клоны, содержащие рекомбинантные плазмиды с генами, кодирующими характерный для плазмодиев белок, богатый гистидином (73% гистидина, 7,5% пролина, 7% аланина, 6% глутамата и 2,1% аспартата). иРНК получена из трофозоитов, очищена аффинной хроматографией и после рестрикции использована для построения банка комплементарной ДНК. Отобраны рекомбинантные клоны, содержащие гены, кодирующие белок, богатый гистидином, проведен рестрикционный анализ и показано наличие у всех изученных изолятов общих инсерций размером 0,3—1,5 тп.о. и тандемных полигистидиновых повторов. Показано, что строение богатого гистидином белка и кодирующие гены имеют много общего у разных видов плазмодиев, вызывающих малярию у человека [61].

Применение довольно сложных и тонких микрометодов [30] позволяет, как выше показано, выявлять различия, значимые для таксономии, однако не следует забывать, что для всех эукариотов характерна однотипность биохимического строения и путей обмена. Чтобы напомнить об этом, приводим табл. 39.

Роль белков в паразито-хозяйинных отношениях. Вопрос будет подробно рассмотрен в специальном разделе на примере трипаносом, здесь мы ограничимся упоминанием целенаправленного воздействия малярийного плазмодия на эритроцит и обратным примером сигнального воздействия аминокислоты хозяина на белковый обмен паразита и его дифференциацию.

У возбудителя малярии птиц *Plasmodium lophurae* показано наличие экзопептидазы, напоминающей по свойствам катепсин D хозяина, но отличающийся по оптимуму pH, действию некоторых ингибиторов и по мол. массе [82]. Протеиназа плазмодия выделяется им во внутриэритроцитарное пространство, расщепляет гемоглобин и мембранные белки эритроцита, особенно те, которые составляют цитоскелет и способствуют

Т а б л и ц а 39
Молекулярные веса
и число субъединиц гомологичных ферментов *T. cruzi* и человека, по [56]

Фермент	Трипаносома		Человек	
	Мол. масса, Д	Число субъединиц	Мол. масса, Д	Число субъединиц
Маликэнзим	135 000	2	245 000	4
Изоцитратдегидрогеназа	91 000	2	96 000	2
Аспаратаминотрансфераза	86 000	2	92 000	2
Аланинаминотрансфераза	114 000	2	100 000	2
Фосфоглюкомутаза	61 500	1	60 000	1
Аконитаза	89 000	1	85 000	1
Пептидаза	117 000	2	100 000	2
Пептидаза С	249 000	4	245 000	4

поддержанию формы эритроцита. Протеолитический энзим малярийного плазмодия способствует, видимо, разрушению эритроцита в конце шизогонии и высвобождению мерозоитов.

Примером обратного воздействия аминокислотного состава среды на обмен и дифференциацию эндопаразита может служить недавно описанный триггерный эффект пролина на превращение эпимастигот *Trypanosoma cruzi* в метациклических трипомастигот [40]. В искусственной минеральной среде, в условиях аксенического содержания показано избирательное действие добавляемых отдельных аминокислот на метациклогенез *T. cruzi* (табл. 40).

Смена белкового состава в течение жизненного цикла. Таких исследований выполнено много как на эндопаразитических простейших, так и на гельминтах. В табл. 41, составленной по материалам отчетов Спецпрограммы ВОЗ, в схематическом виде представлено наличие отдельных белков на последовательных стадиях цикла развития малярийных плазмодиев (*P. falciparum*, *P. knowlesi*, *P. berghei*, *P. chabaudi*, *P. yoelii*, *P. gallinaceum*).

У амёб инцистирование сопровождается сменой поверхностных белков. Так, при инцистировании аксенически выращенных трофозоитов *Entamoeba invadens* (паразита рептилий) исчезают характерные для трофозонта белки с мол. массой 75 и 70 кД [38].

Приведенные примеры прекращения и возобновления синтеза отдельных белков у эндопаразитов объясняются репрессией и дерепрессией отдельных генов, активность которых проявляется на определенных стадиях цикла развития. Надо думать, что имеются триггерные механизмы, срабатывающие в ответ на внешние сигналы и запускающие считывание информации с генома или тормозящие биосинтез. Механизмы эти практически не изучены у эндопаразитов, но срабатывают они очень четко как у простейших, так и у гельминтов.

Такие механизмы известны у цестод и нематод, но наиболее наглядным является пример последовательной смены синтеза белков у *Schistosoma mansoni* при развитии от церкарии до половозрелого гельминта [31, 32, 62, 81]. Применение импульсивной радиометки на отдельных стадиях цикла позволило уловить начало и окончание синтеза различных пептидов [55]. Более того, импульсная радиометка лейцином

Таблица 40
Влияние аминокислот на дифференцировку *T. cruzi* (сокращена), по [40]

Состав среды		% превращения эпимастигот в метациклические трипомастиготы
Солевая среда		Гибель паразита в течение 24 ч
»	+лейцин	То же
»	+аланин	»
»	+валин	»
»	+глицин	»
»	+цистеин	Гибель паразита в течение 48 ч
»	+гистидин	То же
»	+метионин	0
»	+фенилаланин	0
»	+аспарагиновая кислота	25±8
»	+пролин	86±5
Среды, богатые пептидами и аминокислотами		4—50

Таблица 41
Белки, специфические для отдельных стадий развития плазмодиев малярии (по разным источникам)

Мол. масса белка, кД	Трофозонт	Кольцо	Шизонт	Мерозонт	Культуральная среда	Гамета	Зигота	Оокинета
260—280	x	x						
190—230			x					
130, 155				x	x			
120, 135		x						
130—250					x			
100—150				x				
140, 70, 35				x				
140			x	x				
40—80				x				
90	x		x					
74			x			x		
66				x				
55, 60, 260						x	x	x
36	x	x	x	x				

Примечание. Связующая черточка между значениями мол. массы означает наличие нескольких полипептидов в указанных пределах мол. массы.

in vivo в разные сроки до выхода церкарии из промежуточного хозяина *Biomphalaria glabrata* показала, что перед выходом во внешнюю среду происходит драматическая перестройка: прекращается синтез белков в 230, 220 и 175 кД, а также белков, подобных актину и миозину (43 и 200 кД), и начинается интенсивный биосинтез полипептидов с мол. массой 35, и 53 и 58 кД (табл. 42).

При дальнейшем развитии, когда церкарии внедряются в постоянного хозяина, возобновляется временно приостановленный синтез белков с мол. массой 43, 175, 200, 220 и 230 кД и прекращается синтез полипептидов с мол. массой 35, 53 и 58 кД [85].

Таблица 42

Смена синтеза белков у церкарии *S. mansoni*, по [55] (изменена)

Часы до выхода церкарии из моллюска <i>B. glabrata</i>	Синтез полипептидов			
	35 кД	53 кД	58 кД	43 кД
72	0	10	46	100
48	10	60	54	85
24	66	77	58	43
4	100	100	100	5

0 — выход из церкарии во внешнюю среду.

Очистка антигенов для иммунопрофилактики и иммунодиагностики эндопаразитозов. Это один из наиболее увлекательных и поучительных разделов молекулярной паразитологии. Иммунодиагностика и иммунопрофилактика эндопаразитарных болезней разрабатывается широко и успешно, но до создания эффективных вакцин еще предстоит пройти большой и трудный путь. Разработать вакцину против паразита-эукариота — принципиально иная и значительно более трудная задача, чем создать вакцину, защищающую от возбудителя-прокариота или вируса. Возьмем пример поиска противомалерийной вакцины и в хронологическом порядке кратко расскажем о пройденном пути и достигнутых успехах.

Давно известно, что иммунитет при малярии видоспецифичный и нестойкий. С другой стороны, известно, что в гиперэндемических очагах тропической малярии у местных жителей развивается нестерильный иммунитет, напряженность которого поддерживается повторными заражениями. Этим объясняется сосуществование популяций человека и плазмодия в равновесном, но шатком состоянии (об этом было сказано во «Введении»). Когда выяснилась иллюзорность надежд, основанных только на борьбе с переносчиками и на химиотерапии, паразитологи стали тщательно обсуждать возможность иммунопрофилактики малярии. Для создания вакцины уже были необходимые предпосылки: научились вести культуру возбудителя тропической малярии *in vitro*, развитие гибридного метода позволяло получать в нужном количестве моноклональные антитела, была разработана на обезьянах модель тропической малярии человека и, наконец, было показано, что более половины белков, выделяемых плазмодием на отдельных стадиях цикла развития или содержащихся в его поверхностном кутикулярном слое, обладают антигенными свойствами. Опыты с облученными цельными паразитами были успешными, была также показана принципиальная возможность пассивного переноса иммунитета.

Международная программа поиска противомалерийных вакцин была разработана в 1976 г. Финансирование исследований со стороны Спецпрограммы ВОЗ позволило привлечь ряд крупных научных центров к поиску вакцин. В общих чертах предполагалось: использовать моноклональные антитела для выявления наиболее перспективных антигенов среди белков возбудителя малярии на отдельных стадиях цикла, использовать технологию рекомбинантных ДНК для выделения кодирующих генов из банка рДНК и применить методы генной инженерии для



Рис. 12. Строение иммуоактивной части поверхностного антигена
1 — полярные отрезки, общие для семи видов плазмодиев; 2 — зона дегенерированных повторов (?); 3 — тандемные повторы додекапептидов кутикулы у *Plasmodium knowlesi* [73]

получения и испытания антигенов в качестве протективных вакцин на животных и добровольцах [89].

Работа проводилась параллельно на возбудителях тропической малярии человека и малярии грызунов и птиц, изучалась возможность разработки антиспорозитной и антимерозитной вакцин [43]. Из поверхностного слоя кутикулы спорозонта выделено пять иммуоактивных белков, получены моноклональные антитела к ним и показано, что можно подавлять на 70—95% внедрение спорозитов в гепатоциты. Для получения гена, кодирующего нужный антиген, из грудного отдела переносчика выделена поли (A⁺) РНК паразита, построен банк рДНК, отобраны рекомбинантные клоны, проведено определение последовательности оснований и сделан вывод, что иммуоактивная часть антигена состоит из 12 тандемных повторов специфического додекапептида, состоящего из 3 аланинов, 3 глицинов, 3 глутаминов, по одному аспартату, аспарагину и пролину. Додекапептид синтезирован, он обладает антигенными свойствами и в концентрации 10^{-10} М снимает взаимодействие очищенного спорозитного антигена с соответствующим моноклональным антителом. Показано, что первичная структура додекапептида видоспецифична (кодирующие нуклеотидные последовательности ДНК подвержены эволюционному отбору), однако в эпитопах нативного белка имеются дополнительные иммуокомпетентные структуры, общие для семи видов малярийных плазмодиев (они кодируют два полярных сегмента, из которых один прилегает к повторам с N-конца, другой расположен на некотором расстоянии от С-конца [72, 73, 77] (рис. 12).

Не менее интересные исследования выполнены с внутриэритроцитарными стадиями малярийных паразитов. Показано наличие широкого спектра антигенов для каждой стадии развития плазмодия (некоторые из них как 66 кД, синтезируются только в течение 1,5 ч до разрыва эритроцита и высвобождения мерозоитов [59]). Изучена структура эпитопов активных белков, гликофорины — сialogликопротеины мембраны эритроцитов, взаимодействующие с одним из 5000 рецепторов на поверхности каждого мерозоита, выделены и клонированы гены, кодирующие иммуоактивные белки, показано, что ген, кодирующий активный белок, состоит из 763 п. о. с 23-кратным повтором 33 п. о. Олигопептид из 11 аминокислот, — Про — Ала — Лиз — Ала — Сер — Гли — Гли — Лей — Глу — Асп —, определяющий активность эпитопа антигена, синтезирован, и его биологические свойства изучаются [73].

В процессе работы над иммуокомпетентными белками плазмодиев были отработаны два метода, представляющие несомненный интерес для паразитолога: иммуоэлектрономикроскопическое определение

внутриклеточных антигенов на ультратонких срезах клетки без нарушения ее внутренней структуры и применение антисывороток для обнаружения антигенов среди продуктов трансляции генов из банка рекомбинантной ДНК в бесклеточной системе. Такой подход упрощает поиск, облегчает отбор генов для определения последовательности нуклеотидов, кодирующих эпитоп, позволяет избежать нелегкого гибридного метода. Разработаны также иммуодиагностические тесты, позволяющие обнаружить несколько пораженных эритроцитов из 10^6 клеток.

Исследования белков-антигенов эндопаразитов, подобные тем, которые приведены выше в отношении плазмодиев, проводятся со многими паразитическими простейшими и гельминтами, особенно с теми видами, которые можно содержать в лаборатории в аксенических условиях [39, 43, 67].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Длительное время белки эндопаразитов изучались со сравнительно-биохимической точки зрения, что представляло, конечно, значительный интерес, но мало способствовало решению практических проблем паразитологии, которые быстро приобретают глобальное значение [36]. В последние годы стало заметным стремление придать практическую направленность исследованиям и развивать направления, которые мы условно обозначили как «новые». К ним мы вернемся подробнее в заключительной главе «Задачи молекулярной паразитологии».

Мы отмечали, что интенсивность обмена белков резко меняется в течение жизненного цикла эндопаразитов — от практически полного прекращения обмена на покоящихся стадиях до резких усиления обмена в периоды интенсивного размножения или развития. Во «Введении в паразитологию» А. В. Джонса приводятся следующие ориентировочные колебания численности популяций трематод: взрослые особи — десятки; мирацидии — миллионы; материнские спорозиты — единицы; редии — сотни, тысячи; церкарии — десятки миллионов; метацеркарии — тысячи; взрослые особи — десятки.

Значительные колебания численности эндопаразитических простейших можно наблюдать в синхронизированных культурах *P. falciparum* и *P. knowlesi* [42, 87].

К сожалению, мало работ посвящено определению интенсивности биосинтезов белков и активности ферментов на последовательных стадиях жизненного цикла одного эндопаразита. Т. В. Бейер и сотр. определили цитохимически в цистах и на кишечных стадиях развития *Toxoplasma gondii* содержание нуклеиновых кислот и белков [5, 6], активности фосфатазы [3, 7], окислительно-восстановительных ферментов [4, 8]. Ими же определено изменение сукцинатдегидрогеназной активности в течение жизненного цикла *Eimeria intestinalis* [1]. Показана избирательная экспрессия отдельных генов на последовательных стадиях цикла *T. brucei* [47, 48]. Интересные особенности синтеза рРНК, иРНК и белка нашли в процессе оогенеза, сперматогенеза и на первых стадиях дробления оплодотворенных яиц *A. lumbricoides* [57, 58, 74, 76]. Напомним, что потерю активности метаболического звена на одной стадии жизнен-

ного цикла при сохранении активности на других стадиях Ферберн [46] назвал «эпигенетической потерей». Чередование активаций, репрессий и дерепрессий считывания генетической информации в течение цикла развития — обычное явление у эндопаразитов. Характерна для них и полная потеря генетической информации об одном из жизненно важных звеньев обмена. Этим завершается переход к эндопаразитизму и придается ему необратимый характер. Андре Львов [65] давно заметил: «Напрасно искать биологическое преимущество, которое получает трипаносома от потери способности к биосинтезу гематина или аскорбиновой кислоты. Эта потеря просто исключает обратный путь к прежней жизни».

У эндопаразитических простейших биосинтез белков определяется не только филогенетически обусловленными особенностями строения генома [29, 66], но и обменом мобильных внехромосомных генетических элементов на определенных стадиях цикла развития. Гардиола [54] показал, что плазмиды *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonadaceae* могут встраиваться в геном представителей *Erwinia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Providencia*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas* и др. Это наблюдение еще раз подчеркивает полифилогенетичность и полигенетичность эндопаразитов. Мы еще мало знаем о механизмах, регулирующих биосинтез белков в течение жизненного цикла.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бейер Т. В. О распределении сукцинатдегидрогеназы в жизненном цикле *Eimeria intestinalis* // Цитология. 1962. Т. 4, № 2. С. 232—237.
2. Бейер Т. В., Сиим Й. Х., Хатчинсон У. М. Цитохимическое исследование разных стадий жизненного цикла *Toxoplasma gondii* I. Нуклеиновые кислоты и белки в эндозонатах // Цитология. 1977. Т. 19, № 6. С. 676—680.
3. Бейер Т. В., Сиим Й. Х., Хатчинсон У. М. Цитохимическое исследование разных стадий жизненного цикла *Toxoplasma gondii* III. Фосфатазы в эндозонатах // Цитология. 1977. Т. 19, № 7. С. 809—812.
4. Бейер Т. В., Сиим Й. Х., Хатчинсон У. М. Цитохимическое исследование разных стадий жизненного цикла *Toxoplasma gondii* VII. Ферменты окисления — восстановления в цистных формах // Цитология. 1977. Т. 19, № 11. С. 1261—1265.
5. Бейер Т. В., Сиим Й. Х., Хатчинсон У. М. Цитохимическое исследование разных стадий жизненного цикла *Toxoplasma gondii* V. Нуклеиновые кислоты и белки в цистных формах // Цитология. 1977. Т. 19, № 8. С. 930—934.
6. Бейер Т. В., Сиим Й. Х., Хатчинсон У. М. Цитохимическое исследование разных стадий жизненного цикла *Toxoplasma gondii* VIII. Распределение нуклеиновых кислот в паразитах на стадиях развития из кишечника кошки и вопрос о систематическом положении токсоплазмы // Цитология. 1977. Т. 19, № 12. С. 1362—1368.
7. Бейер Т. В., Сиим Й. Х., Хатчинсон У. М. Цитохимическое исследование разных стадий жизненного цикла *Toxoplasma gondii* X. Фосфатазы в паразитах на стадиях развития из кишечника кошки // Цитология. 1978. Т. 20, № 1. С. 93—96.
8. Бейер Т. В., Сиим Й. Х., Хатчинсон У. М. Цитохимическое исследование разных стадий жизненного цикла *Toxoplasma gondii* XI. Ферменты окисления — восстановления в паразитах на стадиях развития из кишечника кошки // Цитология. 1978. Т. 20, № 1. С. 97—101.
9. Бердыева Г. Т., Дрюченко Е. А. Обмен гистидина у *Ascaris suum*, *Ascaridia galli* и *Fasciola hepatica* // Паразитология. 1975. Т. 9, № 1. С. 28—30.
10. Дрюченко Е. А., Бердыева Г. Т. Потребление нематодами некоторых аминокислот из гидролизата казеина // Паразитология. 1972. Т. 6, № 4. С. 356—359.

11. Дрюченко Е. А., Бердыева Г. Т. Специфика потребления аминокислот *Ascaris suum* и *Ascaridia galli* // Паразитология. 1974. Т. 8, № 3. С. 208—211.
12. Дубовская А. Я. Исследование особенностей потребления различных белков цестодами, паразитирующими у позвоночных разных классов // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1973. № 5. С. 548—552.
13. Дубовская А. Я. Исследование протеолитической активности у некоторых видов цестод // Паразитология. 1973. Т. 7, № 2. С. 154—159.
14. Дубовская А. Я. Исследование активности аргиназы у плероцеркоидов и взрослых форм цестод // Тр. ГЕЛАН СССР. 1978. Т. 29. С. 62.
15. Мажуга Н. А., Шишова-Касаточкина О. А. Изучение специфичности протеолитических ферментов *Ascaris suum* и *Ascaridia galli* // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1976. Т. 15, № 2. С. 184—186.
16. Николаишвили К. Г. Аргиназная активность в тканях *Ascaridia galli* // Паразитол. сб. 1973. Т. 3. С. 185—190.
17. Павлов А. В., Шишова-Касаточкина О. А., Волинская К. Б. О транспорте аминокислот у нематод // Паразитология. 1970. Т. 4, № 3. С. 231—235.
18. Полякова О. И. Переаминирование и восстановительное аминирование у *Dictyocaulus filaria* // Биохимия. 1962. Т. 27, № 3. С. 430—436.
19. Полякова О. И. Особенности белкового обмена у гельминтов // Тр. ВИГИС. 1971. Т. 17. С. 21—26.
20. Салменкова Е. А. Обмен аминокислот у *Ascaris suum* и действие некоторых антигельминтных препаратов на реакции переаминирования: Дис... канд. биол. наук. М., 1966.
21. Сванбаев Е. С. Содержание свободных аминокислот в ооцистах *Eimeria tenella* // Материалы III съезда Всесоюз. о-ва протозоологов. Вильнюс. 1982. С. 323.
22. Сопрунов Ф. Ф., Бенедиктов И. И., Салменкова Е. А. и др. Особенности биохимического обмена аскариды в аспекте биохимической эволюции и экологической адаптации // Функциональная эволюция нервной системы. М.; Л.: Наука, 1965. С. 472—493.
23. Труды Всесоюзного института гельминтологии им. К. И. Скрыбина. М., 1971. Т. XVII. 307 с.
24. Хованских А. Е. Использование кокцидиями *Eimeria tenella* некоторых аминокислот из клетки хозяина для синтеза своих белков // Паразитология. 1974. Т. 8, № 5. С. 456—459.
25. Хованских А. Е. Биохимия кокцидий и кокцидиозов. Л.: Наука, 1984. 191 с.
26. Шишова-Касаточкина О. А. Исследование белкового обмена у гельминтов // Проблемы общей гельминтологии. М.: Наука, 1976. Т. 26. С. 196—211.
27. Шишова-Касаточкина О. А., Колоскова Т. Г., Сохина Л. И. Влияние температурного режима на кинетические и термодинамические функции фермента уреазы у гельминтов теплокровных и холоднокровных животных // Паразитология. 1976. Т. 10, № 3. С. 232—237.
28. Шишова-Касаточкина О. А., Леутская З. К. Биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина. М.: Наука, 1979. 278 с.
29. Allen S. L. Chemical genetics of protozoa // Chemical zoology / Ed. M. Florin, B. T. Scheer. N. Y.; L.: Acad. press, 1969. Vol. 1. P. 617—694.
30. Application of biochemical micromethods for the investigation of tropical disease pathogens // Proceedings of a course held in Novosibirsk, 1981. Special program for research and training in tropical diseases. Geneva, 1982. 219 p.
31. Atkinson K. H., Atkinson B. G. Protein synthesis in vivo by *Schistosoma mansoni* cercariae // Mol. and Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 4. P. 205—216.
32. Atkinson B. G., Atkinson K. H. *Schistosoma mansoni*: one- and two-dimensional electrophoresis of proteins synthesized in vitro by males, females and juveniles // Exp. Parasitol. 1982. Vol. 53. P. 26—38.
33. Barrett J. Biochemistry of parasitic helminths. L., 1981. 423 p.
34. Brandt T. von. Parasitenphysiologie. Stuttgart: Fischer, 1972. 353 S.
35. Brandt T. von. Biochemistry and physiology of endoparasites. Amsterdam: Elsevier, 1979. 420 p.
36. Economic aspects of parasitic diseases // Social Sci. and Med. 1984. Vol. 19, N 10. P. 1013—1126.
37. Billini L. Enzyme variants in the identification of parasites and vectors:

- methodological aspects of the electrophoretic approach // Tropical diseases research. Ser. 5. Basel, 1984. P. 53—71.
38. Chayen A., Avron B., Mirelman D. Changes in cell-surface proteins and glycoproteins during the encystation of *Entamoeba invadens* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 15. P. 83—94.
 39. Glegg J. A., Smith M. A. Prospects for the development of dead vaccines against helminths // Adv. Parasit. 1978. Vol. 16. P. 165—218.
 40. Conteras V. T., Salles J. M., Thomas N. et al. In vitro differentiation of *Trypanosoma cruzi* under chemically defined conditions // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 16. P. 315—328.
 41. Cook G. A., Honigberg B. M., Zimmermann R. A. Isolation and cell-free synthesis of variant-surface glycoproteins from *Trypanosoma congolense* // Ibid. Vol. 15. P. 281—293.
 42. Critzmacher C. A., Reese R. T. Protein and nucleic acid synthesis during synchronized growth of *P. falciparum* // J. Bacteriol. 1984. Vol. 160, N 3. P. 1165—1167.
 43. Deans J. A., Alderson T., Thomas A. W. et al. Rat monoclonal antibodies which inhibit the in vitro multiplication of *Plasmodium knowlesi* // Clin. and Exp. Immunol. 1982. Vol. 49. P. 297—309.
 44. Etges R. J., Bouvier J., Hoffman R., Bordier C. Evidence that the major surface proteins of three *Leishmania* species are structurally related // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 14. P. 141—149.
 45. Fairbairn D. The physiology and biochemistry of nematodes // Nematodology / Ed. J. N. Sasser, W. R. Jenkins. Chapel Hill. Univ. North Carolina press, 1960. P. 267—296.
 46. Fairbairn D. Biochemical adaptation and loss of genetic capacity in helminth parasites // Biol. Rev. 1970. Vol. 45. P. 29—72.
 47. Feagin J. E., Jasmer D. P., Stuart K. Apocytochrome b and other mitochondrial DNA sequences are differentially expressed during the life-cycle of *Trypanosoma brucei* // Nucl. Acids Res. 1985. Vol. 13. P. 4577—4596.
 48. Feagin J. E., Stuart K. Differential expression of mitochondrial genes between life-cycle stages of *Trypanosoma brucei* // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82. P. 3380—3384.
 49. Fenton B., Walker A., Walliker D. Protein variation in clones of *Plasmodium falciparum* detected by two-dimensional electrophoresis // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 16. P. 173—184.
 50. Florkin M. Isologie, homologie, analogie et convergence en biochimie comparée // Bull. Acad. sci. roy. Belg. 1962. Vol. 48. P. 819—824.
 51. Chemical zoology / Ed. M. Florkin, B. T. Sheer. N. Y.; L.: Acad. press, 1967—1969. Vol. 1, 2, 3.
 52. Florkin M. Comparative biochemistry, molecular evolution. Amsterdam: Elsevier, 1975. Vol. 29. P. 79—230.
 53. Gershon P. D., Howells R. E. Mitochondrial protein synthesis in *Plasmodium falciparum* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 18. P. 37—43.
 54. Guardiola J. Extrachromosomal genetic elements and their relation to parasitism // Molecular biology of parasites. N. Y.: Raven press, 1983. P. 62—71.
 55. Hockley D. J., McLaren D. J. *Schistosoma mansoni*: changes in the outer membrane of the tegument during development from cercaria to adult worm // Intern. J. Parasitol. 1973. Vol. 3. P. 13—25.
 56. Jeremiah S. J., Povey S., Miles M. A. Molecular size of enzymes of *Trypanosoma cruzi* considered in relationship to the genetic interpretation of isozyme patterns // Mol. and Biochem. Parasitol. 1982. Vol. 6. P. 297—302.
 57. Kaulenas M. S., Fairbairn D. RNA metabolism of fertilized *Ascaris lumbricoides* eggs during uterine development // Exp. Cell Res. 1968. Vol. 52. P. 233—251.
 58. Kaulenas M. S., Foor W. E., Fairbairn D. Ribosomal RNA synthesis during cleavage of *Ascaris lumbricoides* eggs // Science. 1969. Vol. 163. P. 1201—1203.
 59. Kemp D. J., Coppel R. L., Cowman A. F. et al. Expression of *Plasmodium falciparum* blood-stage antigens in *Escherichia coli*: detection with antibodies from immune humans // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 3787—3791.
 60. Kidder G. W. Nitrogen: distribution, nutrition and metabolism // Chemical zoology / Ed M. Florkin, B. T. Sheer. N. Y.; L.: Acad. press, 1967. Vol. 1. P. 93—152.

61. Kilejian A., Chen S., Sloma A. The biosynthesis of the histidine-rich protein of *Plasmodium lophurae* and the cloning of its gene in *Escherichia coli* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 14. P. 1—10.
62. Kusel J. R. Protein composition and protein synthesis in the surface membranes of *Schistosoma mansoni* // *Parasitology.* 1972. Vol. 65. P. 55—59.
63. Lee D. L. The organization of the nematode body // *The physiology of nematodes.* Edinburgh: Oliver and Boyd, 1965. P. 4—13.
64. Lee D. L., Smith M. H. Hemoglobins of parasitic animals // *Parasitol. Rev.* 1965. Vol. 16. P. 392—424.
65. Lwoff A. L'évolution physiologique: Études des pertes des fonctions chez les microorganismes. P.: Hermann, 1943. 239 p.
66. Mandel M. Nucleic acids of Protozoa // *Chemical zoology* / Ed. M. Florkin, B. T. Sheer. N. Y.; L.: Acad. press, 1969. Vol. 1. P. 541—570.
67. Parasitic diseases. Vol. I: Immunology / Ed. J. Mansfield. N. Y.; Basel: Dekker. 1981. 311 p.
68. Molecular biology of parasites. N. Y.: Raven press, 1983.
69. Müller M. Digestion // *Chemical zoology* / Ed. M. Florkin, B. T. Sheer. N. Y.; L.: Acad. press, 1969. Vol. II. P. 395—466.
70. Nadler S. A. Biochemical polymorphism in *Parascaris equorum*, *Toxocara canis* and *Toxocara cati* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1986. Vol. 18. P. 45—54.
71. New approaches to the identification of parasites and their vectors // *Tropical diseases research.* Ser. 5. Basel: Schwabe. 1984. 466 p.
72. Nussenzweig V., Nussenzweig R. S. Progress in immunology // *Proc. V Intern. Congr. Immunol. Kyoto. (Japan), 1983.* p. 1317—1322.
73. Nussenzweig V. Synthetic peptides and malaria surface antigens // *Ann. Sclavo.* 1984. Vol. 2. P. 187—189. (Proc. I Intern. Conf. Siena (Italy), 1984).
74. Panijek J., Pasteels J. Analyse cytochimique de certains phénomènes de recharge en ribonucléoprotéines: le cas de l'oeuf de *Parascaris equorum* lors de la fécondation // *Arch. biol. P.*, 1951. Vol. 62. P. 353—370.
75. Pappas P. W., Read C. P. Membrane transport in helminth parasites: A review // *Exp. Parasitol.* 1975. Vol. 37, № 3. P. 469—530.
76. Pasteels J. Recherches sur le cycle germinale chez l'*Ascaris*: Etude cytochimique des acides nucléiques dans l'oogénèse, la spermatogénèse et le développement chez *Parascaris equorum* Goeze // *Arch. biol. Paris*, 1948. Vol. 59. P. 405—446.
77. Philipp M., Rumjanek F. D. Antigenic and dynamic properties of helminth surface structure // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 10. P. 245—268.
78. Read C. P. Intermediary metabolism of flatworms // *Chemical zoology* / Ed. M. Florkin, B. T. Sheer. N. Y.; L.: Acad. press, 1968. Vol. 2. P. 327—357.
79. Rogers W. P. The nature of parasitism: The relationship of some metazoan parasites to their hosts. N. Y.: Acad. press, 1962. 287 p.
80. Rogers W. P. Nitrogen metabolism // *Chemical zoology* / Ed. M. Florkin, B. T. Sheer. N. Y., L.: Acad. press, 1969. Vol. 3. P. 379—428.
81. Ruppel A., Cioli D. A comparative analysis of various developmental stages of *Schistosoma mansoni* in respect to their protein composition // *Parasitology.* 1977. Vol. 75. P. 339—343.
82. Sherman I. W., Tanigoshi L. Purification of *Plasmodium lophurae* cathepsin D and its effects on erythrocyte membrane proteins // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1983. Vol. 8. P. 209—226.
83. Smyth J. D. The physiology of trematodes. Edinburgh; L.: Oliver and Boyd, 1969. 256 p.
84. Steiger R. F., Oppendoes F. R., Bontemps J. Subcellular fractionation of *Trypanosoma brucei* blood-stream forms with special reference to hydrolases // *Europ. J. Biochem.* 1980. Vol. 105. P. 163—175.
85. Torpier G., Capron M., Capron A. Structural changes on the tegumental membrane complex in relation to developmental stages of *Schistosoma mansoni* // *J. Ultrastruct. Res.* 1977. Vol. 61. P. 309—324.
86. Vernberg W. B., Vernberg F. J. Interrelationship between parasites and their hosts // *Exp. Parasitol.* 1967. Vol. 20, N 2. P. 225—231.
87. Webster H. K., Hant M. J., Martin L. K., Hildebrandt P. K. Purine and pyrimidine nucleotide profiles during synchronous malaria infection (*Plasmodium knowlesi*) in the rhesus monkey // *Intern. J. Parasitol.* 1982. Vol. 12, N 1. P. 75—79.

88. Weinbach E. C. Biochemistry of enteric protozoa // Trans. Inter. Biochem. Soc. 1981. Vol. 6. P. 254—257.
89. Young J. F., Hockmeyer W. T., Gross M. et al. Expression of Plasmodium falciparum circumsporozoite proteins in Escherichia coli for potential use in human malaria vaccine // Science. 1985. Vol. 228, N 4702. P. 958—962.

БИОЭНЕРГЕТИКА ЭНДОПАРАЗИТОВ

Пути обмена углеводов и жиров у эндопаразитов, особенности их энергетического обмена, систем тканевого дыхания и переноса электронов настолько интересны и необычны, что, несомненно, заслуживают отдельной монографии. Этим вопросам посвящены выполненные в ИМПитМ докторские диссертации И. И. Бенедиктова и Л. Н. Гринберга [6, 9], ряд кандидатских диссертаций [1, 12, 13, 18, 20, 25]; имеются хорошие обзоры и монографии на русском и иностранных языках [5, 14, 16, 44, 45, 68], к которым мы отсылаем читателя, желающего полнее ознакомиться с особенностями биоэнергетики эндопаразитических простейших и гельминтов.

В живой материи энергия выделяется в окислительно-восстановительных реакциях и накапливается при сопряженном синтезе «богатых энергией» молекул, таких, как АТФ. Известны два основных пути синтеза АТФ: при первом из них (субстратном фосфолировании) часть свободной энергии, выделяемой при расщеплении субстрата, улавливается сперва промежуточным соединением, которое передает ее синтезируемой молекуле АТФ; при втором (сопряженном фосфорилировании в цепочке тканевого дыхания) — синтез АТФ из АДФ возможен при достаточном электрохимическом градиенте реакции переноса электронов. Субстратное фосфорилирование осуществляется, как правило, водорастворимыми ферментами цитозоля, фосфорилирование в цепочке переноса электронов происходит в биологических мембранах. Говорят о «макроэргических фосфорных остатках», но лучше избегать этого термина, поскольку свойства химической связи определяются не какой-то особой фосфорной кислотой, а строением фосфорилируемой молекулы.

При написании окислительно-восстановительных молекулярных превращений удобно пользоваться не валентностью, а окислительным числом атомов, но это может затруднить чтение и лучше сохранить обычное написание формул. Следует только помнить о следующих общих положениях, о которых иногда забывают.

Некоторые молекулы как бы «заряжены энергией» и выделяют ее при распаде. Этот процесс не зависит от окислительного потенциала среды. Примером может служить глюкоза: при гликолизе образуется одинаковое количество энергии (в виде АТФ) как в аэробных, так и анаэробных условиях.

Энергия, которая выделяется при окислении других молекул и тоже улавливается в виде АТФ, зависит от потенциала внешней среды. В аэробных условиях жирные кислоты являются, например, ценным источником энергии, в анаэробных — только отбросом, лишенным энергетической

ценности. То же относится ко многим конечным продуктам гликолиза.

С энергетической точки зрения эффективность любого пути обмена определяется отношением количества энергии, улавливаемой в виде АТФ, к изменению свободной энергии системы, т. е. к разнице между свободной энергией исходных и конечных продуктов при данном потенциале среды. Эффективность молочнокислого брожения в анаэробной среде (2 моля АТФ) и эффективность окисления глюкозы до углекислоты и воды (38 молей АТФ) примерно равны и составляют 40%.

Эволюция живой материи длительно происходила при низком окислительном потенциале среды. Считается, что только в рифее (верхнем протерозое) стал накапливаться свободный кислород в атмосфере и достиг значения в 1% от современного уровня. С изменением потенциала среды изменялась энергетическая ценность биологических молекул, перестраивались и переключались, иногда в обратную сторону, цепочки биологических окислительно-восстановительных реакций, прямо или опосредованно связанных с биосинтезом АТФ. В палеозое и мезозое биохимическая эволюция животных определялась в значительной степени перестройкой их биоэнергетики.

Совершенство метаболизма определяется соответствием путей обмена среде обитания. Энергетический обмен обычно изучают на лабораторных животных, эволюционно высоко стоящих и адаптированных к современной аэробной среде. Ошибочно делать отсюда вывод, что их энергетический обмен более «совершенен», чем обмен древних беспозвоночных, адаптированных к иным условиям существования.

ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

Углеводный обмен изучен более или менее подробно у небольшого числа эндопаразитов, в основном у гельминтов, обитающих в кишечнике, крови или желчных путях хозяина, таких, как аскариды, шистосомы и фасциолы. Это объясняется прежде всего доступностью нужного количества биоматериала. Пути распада углеводов, тканевое дыхание и системы, сопряженные с фосфорилированием, изучены значительно хуже и менее полно у других эндопаразитов. Однако полученные у них данные, пусть фрагментарные, в целом хорошо согласуются с результатами изучения биоэнергетики у гельминтов, и это позволяет с определенной уверенностью говорить об особенностях энергетического обмена эндопаразитов вообще.

Первая особенность биоэнергетики эндопаразитов состоит в том, что практически единственным источником энергии у них являются углеводы. У нематод и акантоцефалов имеются значительные запасы гликогена (от 5 до 20% сухого веса и даже до 40% в плероцеркоидах некоторых цестод), тогда как содержание глюкозы в тканях меньше 1%. Интересно отметить относительно высокое содержание трегалозы, что характерно для беспозвоночных: аннелид, моллюсков и членистоногих. Приводим по несколько устаревшей, но тщательно выполненной работе [65] данные о резервных углеводах у некоторых гельминтов (табл. 43, 44, 45).

Опубликовано много других данных о содержании гликогена у гель-

Т а б л и ц а 43
Гликоген, глюкоза и трегалоза
в тканях аскариды свиньи, по [65]

Ткань	Гликоген, % от сырого веса	Глюкоза, %	Трегалоза, %
Наружные покровы			
самец	0,67	Следы	0,06
самка	0,53	»	0,11
Мышцы			
самец	13,2	»	0,82
самка	14,9	»	1,09
Кишечник			
самец	0,39	»	Следы
самка	0,42	»	»
Целомическая жидкость			
самец	0,50	»	0,62
самка	0,42	»	0,73
Половые органы			
самец	0,38	»	1,32
самка	5,33	»	1,10

Т а б л и ц а 44
Содержание гликогена в тканях некоторых гельминтов (в % от сырого веса)
(по разным источникам; данные для цестод взяты из [22],
для *Ascaridia galli* из [15], для *Mecistocirrus digitatus*—из [25])

Вид	Гликоген	Вид	Гликоген
Трематоды		Нематоды	
<i>Fasciola hepatica</i>	3,1—3,7	<i>Ancylostoma caninum</i>	1,6
<i>Schistosoma mansoni</i>		<i>Diröfilaria immitis</i>	1,9
самец	4,2—8,5	<i>Ascaridia galli</i>	3,9
самка	0,7—1,7	<i>Mecistocirrus digitatus</i>	5,3
Цестоды		Акантоцефалы	
<i>Diphyllobotrium latum</i>	1,9	<i>Macroranthorhynchus</i>	1,1—2,3
<i>Taenia saginata</i>	7,4	<i>hirudinaceus</i>	
<i>Taenia solium</i>	2,2	<i>Moniliformis dubius</i>	0,7—7,1
<i>Echinococcus granulosus</i>	2,8		
<i>Moniezia expansa</i>	3,0		

минтов; цифры колеблются в зависимости от метода определения и особенно от условий содержания гельминта [19, 21]. Структура гликогена изучена у некоторых видов, выделены две основные фракции с разной мол. массой и разными функциональными особенностями. Показано, что мол. масса гликогена гельминтов может колебаться в пределах от 50 до 900 млн. [31, 57].

Гликоген расщепляется фосфорилазой на глюкозо-1-Ф и декстрины, которые распадаются на гексозы под действием ами-1,6-глюкозидазы.

Трегалоза может расщепляться двумя путями:

у простейших (но не у гельминтов) имеется фосфорилаза, под действием которой трегалоза распадается на глюкозу и глюкозо-1-Ф;

у гельминтов и насекомых активная трегалаза расщепляет трегалозу на две глюкозы, которые фосфорилируются гексокиназой.

Таблица 45

Содержание трегалозы (в % от сырого веса)
у паразитических и свободноживущих беспозвоночных, по [17]

Вид	Трегалоза	Вид	Трегалоза
Простейшие		Аннелиды	
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	0,73	<i>Dioparta cupres</i>	0,22
<i>Trypanosoma cruzi</i>	0,05	<i>Lumbricus terrestris</i>	0,21
		<i>Dina fervida</i>	0,20
Гельминты		Моллюски	
<i>Fasciola hepatica</i>	0,11	<i>Bulinus africanus</i>	1,40
<i>Hymenolepis diminuta</i>	0,22	<i>Astralorbis glabratus</i>	1,06
<i>Raillietina cesticius</i>	0,10	<i>Pecten irradians</i>	0,31
<i>Thaenia taeniaeformis</i>	0	<i>Hlex illecebrosus</i>	0,33
<i>Moniezia expansa</i>	Следы	Членистоногие	
<i>Porrocaecum decipiens</i>	2,26	<i>Asellus militaris</i>	0,25
<i>Trichinella spiralis</i>	1,74	<i>Phormia regina</i>	0,122—3
<i>Heterakis gallinae</i>	0,10	<i>Schistocerca gregaria</i>	2
<i>Ascaridia galli</i>	0,4		
<i>Litomosoides carinii</i>	0,06		
<i>Trichuris ovis</i>	0,48		
<i>Moniliformis dubius</i>	2,3		

Глюкоза активно поглощается эндопаразитами: через внешнюю мембрану у простейших и через кутикулу или кишечник у гельминтов. У ряда паразитических простейших (*T. cruzi*, *T. lewisi*, *T. gambiense*, *T. equiperdum*, *Crithidia luciliae*, *Leishmania tropica*, *E. histolytica*) также описана система активного транспорта глюкозы. Структура и обмен полисахаридов у простейших рассмотрены Егоровым и др. [10]. Показано наличие некоторых особенностей: поглощения глицерола через кутикулу у *H. diminuta*, наличие отдельных систем транспорта глюкозы и галактозы, с одной стороны, и фруктозы у *T. crassiceps* — с другой, наличие своеобразной системы переноса глюкозы через слизистую кишечника у *A. lumbricoides* (система энерго- и CO₂-зависима).

Поглощенная извне глюкоза быстро превращается в гликоген, который также быстро расщепляется при голодании. Этим объясняются постоянные колебания содержания глюкозы в тканях эндопаразитов. По данным Фэрберна, крайние значения глюкоземии следующие: 0,01% от сухого веса у *L. carinii* и 3% от сухого веса у *M. dubius*. У трипаномы *T. cruzi* содержится, по тем же данным, 0,06% глюкозы на сухой вес.

Любопытную особенность обнаружили недавно у шистосом Корнфорд и Физпатрик [35]. Ими показано, что самец *S. mansoni* передает путем диффузии глюкозу самке, расположенной в его гинекофорном канале.

Вторая особенность энергетического обмена эндопаразитов заключается в том, что анаэробные ферментации с несколькими точками субстратного фосфорилирования и системами анаэробного транспорта электронов, сопряженного с фосфорилированием, значительно более разнообразны у них, чем у позвоночных хозяев. Известно, что у хозяев-млекопитающих пути распада макромолекул протекают по простым жестко фиксированным схемам деградации, которые в целом состоят из трех фаз:



Рис. 14. Пути гликолиза у беспозвоночных полуанаэробов

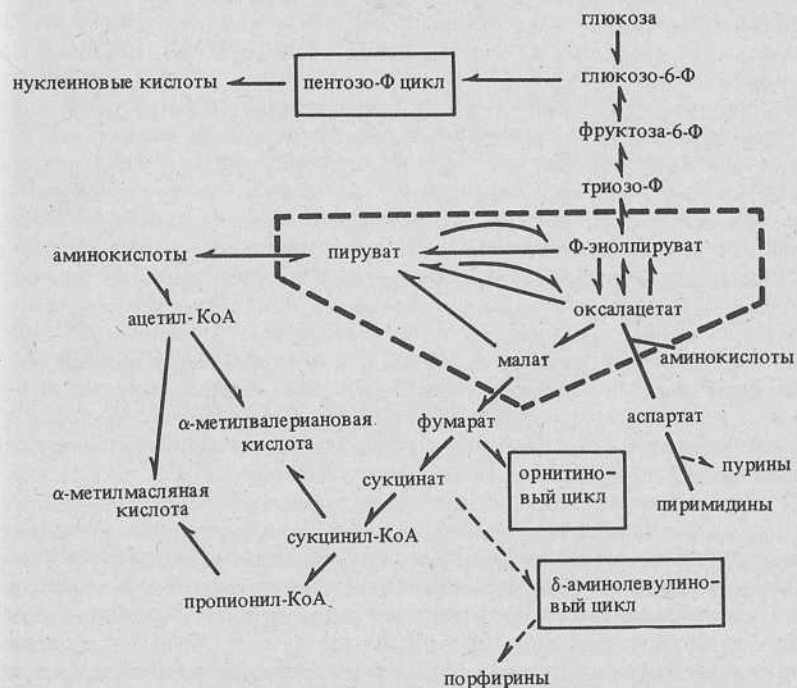


Рис. 15. Развилка на уровне фосфоэнолпирувата в общей схеме обмена у эндопаразитических гельминтов

Таблица 46
Лимитирующие реакции гликолиза у гельминтов, по [33]

Фермент	Мнимая константа равновесия	<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Fasciola hepatica</i>	<i>Moniezia expansa</i>
Гексокиназа	$5,5 \cdot 10^3$	—	0,4	0,02
Ф-глюкомутаза	$5,5 \cdot 10^{-2}$	$7 \cdot 10^2$	—	—
Глюкозо-Ф-изомераза	0,47	0,16	0,20	0,44
Ф-фруктокиназа	$1,2 \cdot 10^3$	0,11	0,16	0,48
Альдолоза	$6,8 \cdot 10^{-5}$	$8,5 \cdot 10^{-5}$	$3,7 \cdot 10^{-6}$	$3,3 \cdot 10^{-6}$
Триозо-Ф-изомераза	$4 \cdot 10^{-2}$	$4,7 \cdot 10^{-2}$	$2,9 \cdot 10^{-1}$	$3,1 \cdot 10^{-1}$
Ф-глицеромутаза	0,1	0,09	0,11	0,16
Ф-пируватгидратаза	4,6	2,6	3,3	1,22
Ф-пируватгидратаза	0,5	0,46	0,36	0,20
Пируваткиназа	$15 \cdot 10^3$	7,0	1,35	1,66

Примечание. В отличие от позвоночных хозяев у приведенных гельминтов три лимитирующие гликолиз энзима подчеркнуты.

у дошедших до наших дней древних почвенных полуанаэробных гетеротрофов-сапрофитов (грибов, простейших, бактерий) (рис. 13).

Пути обмена могут изменяться при изменении условий внешней среды.

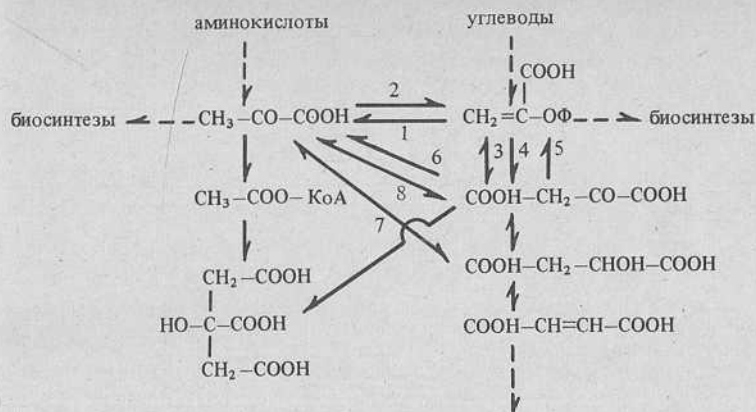
У современных беспозвоночных, адаптированных к полуанаэробным условиям существования (некоторые насекомые, моллюски, черви), пути гликолиза также обладают значительным разнообразием, как показано на рис. 14 [68].

У гельминтов начальные реакции гликолитического расщепления гексоз идентичны первым реакциям пути Эмбдена—Мейергофа [7, 8, 26], имеются, однако, особенности, которые связаны прежде всего с кинетическими различиями гомологических ферментов. Если в метаболическую цепочку последовательно включены ферменты с различной активностью, то активность метаболического пути в целом будут определять реакции, катализируемые наименее активными энзимами. Выявляются эти узкие места по соотношению молярных концентраций конечных и исходных продуктов реакций *in vivo*: если полученное значение резко отклоняется от мнимой константы равновесия фермента, то катализируемая им реакция является лимитирующей (и может быть использована как потенциальная точка приложения химиотерапии). Приводим табл. 46, в которой показаны, на основании данных нескольких авторов, лимитирующие звенья гликолиза у некоторых гельминтов.

В табл. 46 приведены данные о ферментах гликолиза крупных гельминтов, обитающих в средах, бедных кислородом (просвет кишечника и желчные пути хозяина). У других гельминтов пируваткиназа может быть высокоактивной и не лимитировать завершение гликолиза образованием молочной кислоты. В целом ориентировочно можно выделить две основные схемы гликолиза у эндопаразитов:

при первой из них гликолиз завершается выделением пирувата, лактата или ацетата;

при второй пируват карбоксилируется активной Ф-энолпируват-



Р и с. 16. Ферменты, участвующие в метаболизме фосфоэнолпирувата
 1 — пируваткиназа; 2 — фосфоэнолпируватсинтетаза; 3 — фосфоэнолпируват-
 карбоксилаза; 4 — фосфоэнолпируваткарбокситрансфосфорилаза; 5 — фосфоэнолпируват-
 карбоксикиназа; 6 — оксалацетатдекарбоксилаза; 7 — «малик-энзим» (малат:
 НАД. Н оксидоредуктаза, декарбоксилирующая. E.C.1.1.1.40); 8 — пируваткарбоксилаза

карбоксикиназой и обмен углеводов направляется в сторону синтеза раз-
 ветвленных жирных кислот [11, 24, 46, 47, 58, 66].

При первой схеме гликолиза, характерной для крупных анаэробных
 или полуанаэробных эндопаразитов, центральную роль играет развилка
 на уровне фосфоэнолпирувата (рис. 15).

Ферменты, участвующие в превращении метаболитов на уровне
 Ф-энолпирувата, приведены на рис. 16.

Из метаболитов, обозначенных на рис. 15, особую роль играет малат,
 который свободно проникает через внешнюю мембрану митохондрий и
 связывает реакции, протекающие в цитозоле, с реакциями в митохонд-
 риях. Особенности ферментов, путей обмена, состав конечных продуктов,
 роль митохондрий, системы субстратного и сопряженного фосфорилиро-
 вания изучены у *A. lumbricoides*, *F. hepatica*, *E. granulosus* сотрудниками
 нашей лаборатории (Бенедиктов [2, 3, 4,], Аннабаева [1], Сенутайте [20],
 Пушкарев [18], Лайнис [13], Куриленко [12] и др.), у *A. galli* в ВИГИСе
 (Полякова [15], Вертинская [7] и др.), у трематод *Calicophoron iijimai*,
Eurytrema pancreaticum и турбеллярий *Phagocata sibirica* — в Дальне-
 восточном научном центре АН СССР [73]. Большое количество работ
 выполнено за рубежом и все же надо признать, что мы только начинаем
 понимать, насколько сложны и изменчивы пути энергетического обмена
 эндопаразитов. Эти пути способны перестраиваться у некоторых гель-
 минтов (аскарид, фасциол) в зависимости от окислительного потенциала
 среды и наличия кислорода (табл. 47) или оставаться неизменными и
 независимыми от среды: например, анаэробный тип обмена у эндопара-
 зитов, живущих в богатой кислородом среде (филярии в крови хозяина).
 Гликолитические энзимы могут быть растворены в цитозоле (у гель-
 минтов) или находиться в гликосомах (у многих трипаносом). Одна и
 та же реакция, например превращение ацетил-КоА в ацетил, может
 быть связана с образованием АТФ через ацилтрансферазу и тиокиназу

Таблица 47

Влияние окислительного потенциала среды
на гликолиз у аскариды, по [23]

Eh, мВ	Потребление глюкозы, %	Выделение органи- ческих кислот, %	Отношение орга- нических кислот к глюкозе
От +250 до +150	100 (16,9 моль/г/ч)	100 (30,2 моль/г/ч)	1,8
От +150 до 0	81	95	2,1
От 0 до -150	64	107	3
От -150 до -400	75	150	4

Примечание. Кислоты даны в эквивалентах NaOH, необходимых для поддержания pH 8,0; при положительном потенциале гельминты выделяли CO₂, при отрицательном — поглощали.

или путем сопряжения, как у *Entamoeba histolytica* и *Lamblia intastinalis*, или протекать с потерей свободной энергии, как у ряда гельминтов [48, 61, 62].

Пушкарёв нашел, что при смене анаэробных условий содержания аскарид на анаэробные изменяется не только количество выделяемых летучих жирных кислот, но и их состав [18].

	Выделяемые кислоты, М%:	
	C ₂ —C ₃	C ₅ —C ₆
В аэробных условиях	46,0	45,0
В атмосфере CO ₂	34,0	58,0
В атмосфере N ₂	27,6	67,8

В общих чертах расшифрована схема углеводного обмена по пути карбоксилирования пирувата, инверсии дикарбоновой цепочки цикла Кребса и биосинтеза разветвленных летучих жирных кислот [49, 50, 63, 64, 69].

Точки субстратного и сопряженного с переносом электронов фосфорилирования в цитозоле и митохондриях аскариды показаны на схеме (рис. 17), составленной нами на основании двух схем, приведенных в интересном обзоре Келера, 1985 г. [45].

В зависимости от путей гликолиза получают следующие отношения синтезированного АТФ к расщепленной глюкозе [45]:

Глюкоза → 2 лактата = 2 АТФ/глюкоза
 3 глюкозы → 2 ацетата + 4 пропионата + 2 CO₂ = 5,3 АТФ/глюкоза
 10 глюкоз → 6 ацетатов + 4 пропионата + 4 метилбутирата + 4 метилвалерата + 10 CO₂ = 5 АТФ/глюкоза
 Глюкоза → 6 CO₂ = 38 АТФ/глюкоза.

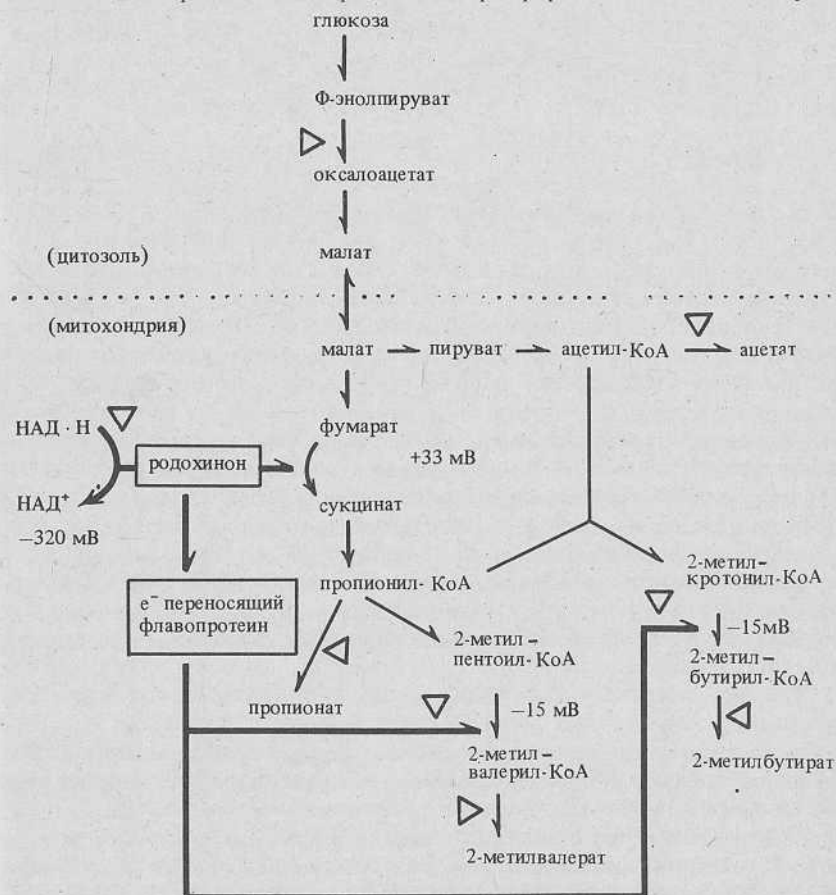
Пентозофосфатный путь широко представлен у гельминтов, но этот путь не имеет значения для биоэнергетики.

У эндопаразитических простейших пути распада углеводов, тканевое дыхание и особенности биоэнергетики были до последнего времени менее подробно изучены, чем у гельминтов. В последние годы появился ряд интересных обобщающих работ [29, 43, 44] и многие исследования по частным вопросам.

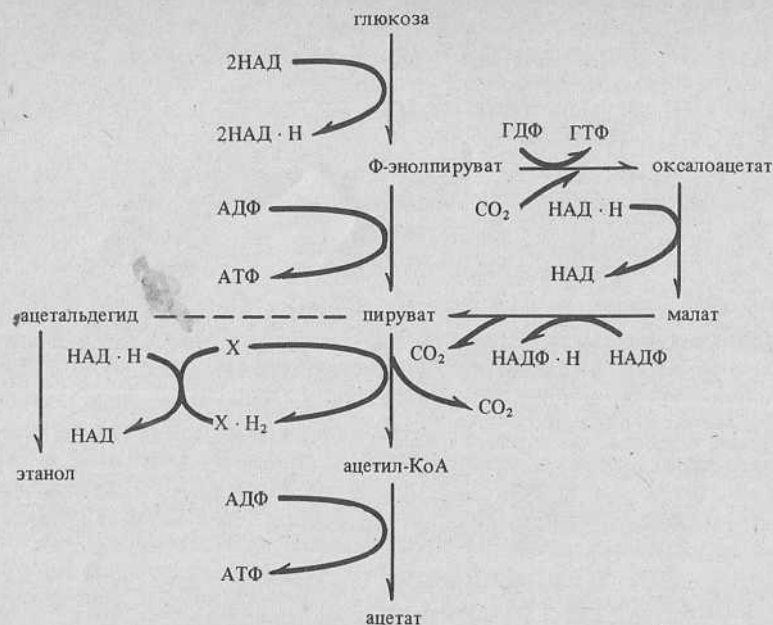
Показан активный транспорт глюкозы у промастигот *Leishmania donovani* и *L. tropica* [74], определена скорость потребления глюкозы плазмодиями и бабезиями при их нахождении внутри эритроцита [53], выявлено потребление глюкозы эритроцитом (в $\text{мол} \cdot 10^{-12} / \text{клетка} / \text{мин}$), по [53]:

	Здоровый	Инвазированный
<i>Babesia rhodani</i>	5	50
» <i>microti</i>	3	29
<i>Plasmodium berghei</i>	2	60
» <i>knowlesi</i>	2,8	140

Изучены глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы у четырех видов малярийных плазмодиев, гексокиназа и Ф-фруктокиназа у эпимастигот *T. cruzi*. В гликосомах *T. brucei brucei*, *Crithidia fasciculata* показано наличие активной фосфоэнолпируваткарбоксикиназы, изучена пируваткиназа *T. brucei*. Глицеролкиназа, переносящая фосфорный остаток с глицерола



Р и с. 17. Точки фосфорилирования в митохондриях аскариды, по [44]
 ▽ — реакции, в которых выделяемая энергия улавливается в виде АТФ



Р и с. 18. Гликолиз у *Lamblia intestinalis*, по [14]

на АТФ, обнаружена в гликозомах *T. brucei* (тот же фермент, но в меньшем количестве найден еще у девяти видов трипаносомид). По мере того как накапливалась информация об отдельных ферментах и звеньях обмена эндопаразитических простейших, росла уверенность в том, что по ряду характерных особенностей распад углеводов и энергетический обмен эндопаразитических простейших напоминает обмен гельминтов: значительную роль играет развилка на уровне фосфоэнолпирувата и восстановление фумарата; конечными продуктами гликолиза являются восстановленные или полувосстановленные соединения; углеводы являются единственным источником энергии (в редких случаях используются для этого аминокислоты); активный ацетат не используется для биосинтезов и т. д.

Разнообразие путей обмена при наличии общей схемы распада углеводов можно легко показать, сравнив метаболизм нескольких эндопаразитических простейших, адаптированных к разным условиям существования в организме хозяина.

Lamblia intestinalis (*Giardia lamblia*) — анаэробный, кислород-толерантный одноклеточный паразит, обитающий в кишечнике человека. *Lamblia intestinalis* является типичным эукариотическим организмом, но лишен митохондрий и микротелец, что его сближает с другими одноклеточными паразитами кишечника — энтамебами.

В присутствии кислорода лямблии проявляют довольно высокий уровень эндогенного дыхания независимого типа (потребление O_2 достигает почти 100 нмоль/мин/мг белка). Дыхание стимулируется глюкозой, но не другими углеводами, не органическими кислотами, не компонентами цикла Кребса. Дыхание не ингибируется малонатом, цианидом, динитро-

Т а б л и ц а 48
Состав выделяемых конечных продуктов у *L. intestinalis*
(в нмоль/мин/мг белка), по [51]

Условие	Этанол	Ацетат	CO ₂
В присутствии кислорода	4,8	23,7	20,1
В атмосфере азота	7,0	2,8	6,4
В атмосфере +5% CO ₂	13,3	3,9	—

Т а б л и ц а 49
Активности гликолитических энзимов у *T. brucei*
(в нмоль/мин/мг), по [56]

Фермент	Кровяные формы	Проциклические	Отношение
Гексокиназа	0,79	0,03	0,04
Глюкозо-Ф-изомераза	0,54	0,18	0,33
Фосфофруктокиназа	1,63	0,68	0,42
Триозо-Ф-изомераза	1,18	0,60	0,51
Глицерол-3Ф-дегидрогеназа	0,73	0,54	0,74
Глицеролкиназа	2,60	1,51	0,58
Ф-глицераткиназа	0,43	0,25	0,58
Малатдегидрогеназа	0,20	1,62	8,1
Аденилаткиназа	0,17	0,19	1,1
АТФ'аза общая	0,07	0,10	1,4
АТФ'аза чувствительная к олигомицину	0,02	0,04	2,0
Сукцинатдегидрогеназа	—	0,01	—
Глицерол-3Ф-дегидрогеназа (митох.)	0,05	0,01	0,2
Глицерол-3Ф-оксидаза	0,09	—	—
Треониндегидрогеназа	0,004	0,06	15
Карнитинацетилтрансфераза	0,06	0,75	13

фенолом и ротеноном, но подавляется атебрином — ингибитором флавопротеиновых переносчиков электронов. Отсутствие цикла Кребса и цитохромной цепочки дыхания при активном потреблении кислорода характерно также для трихомонад и энтамеб.

В качестве конечных продуктов распада углеводов лямблии выделяют этанол, ацетат и углекислоту. Как и другие эндопаразиты, *Lambia intestinalis* способна перестраивать в зависимости от условий среды пути углеводного обмена и, следовательно, состав конечных продуктов [51]. (табл. 48).

Углеводный обмен *L. intestinalis* представлен схематически на рис. 18, по [14].

Возбудитель сонной болезни кровепаразит *Trypanosoma brucei* проходит в своем жизненном цикле через паразитирование в крови позвоночного и развитие в кишечнике переносчика — мухи це-це (*Glossina* spp.). Углеводный обмен относительно хорошо изучен как у кровяной формы паразита, так и у проциклической трипомастиготы, культивируемой *in vitro* [30, 56]. Переход от кровяной формы к проциклической трипомастиготе сопровождается развитием митохондрия, появлением цитохромов и дыхания, чувствительного к цианидам и другим ингибиторам

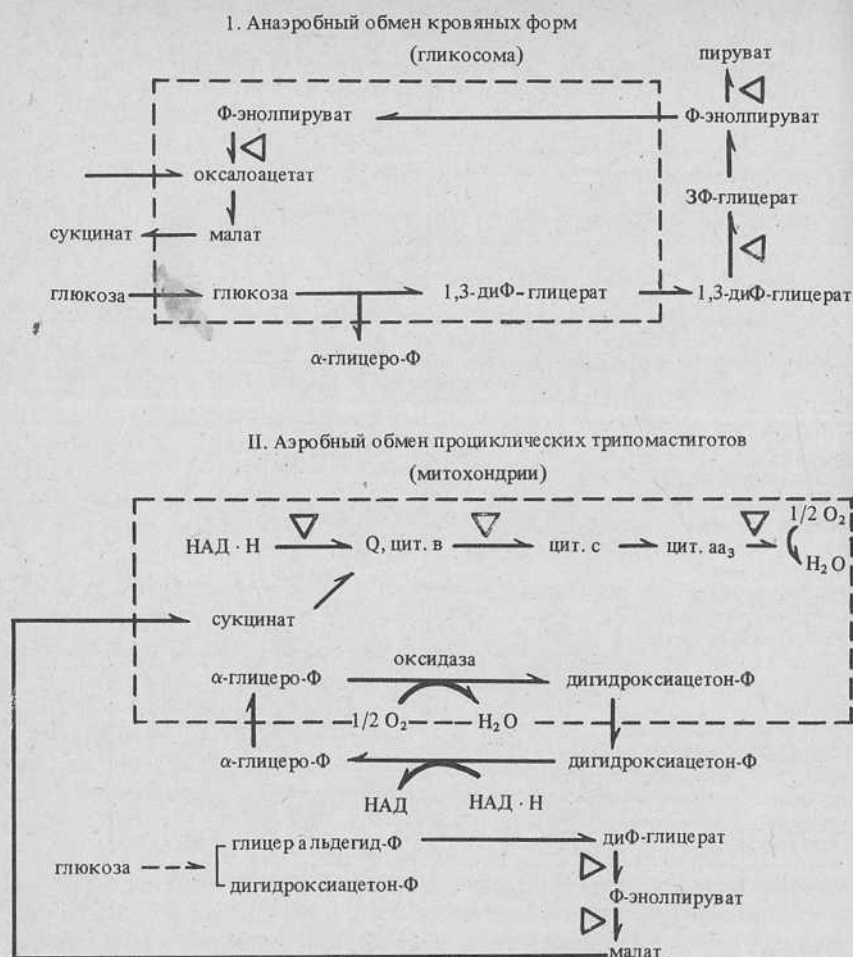


Рис. 19. Анаэробный и аэробный обмен углеводов у *Trypanosoma brucei* (мкм м/мин/мг белка), по [30, 55]
▽ — точка фосфорилирования

цепочки транспорта электронов. При этом глюкоза перестает быть единственным источником энергии, используются дополнительно пролин, глутамат и треонин. Ферменты гликолиза не растворены в цитозоле, а собраны в тельцах — гликосомах, что является характерной особенностью у всех представителей семейства *Trypanosomatidae*. Перестройка путей обмена с анаэробных у кровяных форм на аэробные у проциклических трипомастигот можно легко показать, сравнив гликолитические ферменты у обеих форм и схемы метаболизма глюкозы (табл. 49).

Снижение в 26 раз активности гексокиназы свидетельствует о переходе от анаэробного гликолиза к аэробному обмену с частичным использованием аминокислот в качестве источника энергии. Схемы обмена углеводов

Таблица 50

Отношение удельных активностей ферментов гликосом у *T. brucei* (удельная активность фермента у кровяной формы к удельной активности в проциклической трипомастиготе), по [40]

Фермент	Отношение активностей	Фермент	Отношение активностей
Гексокиназа	14,8	Глицеральдегид-Ф-де-гидрогеназа	8,1
Ф-глюкозоизомераза	7,4	Фосфоглицераткиназа	8,1
Ф-фруктокиназа	4,0	Глицеролкиназа	0,9
Фруктозо-ФФ-альдолаза	28,3	Аденилаткиназа	0,20
Триозо-Ф-изомераза	1,05	Малат дегидрогеназа	0,01
Глицерол-3Ф-дегидрогеназа	1,0	Ф-энолпируваткарбоксикиназа	0,10

Пути аэробных ферментаций у возбудителя болезни Шагаса *T. cruzi* изучены в научных центрах южноамериканских стран [32, 70, 71]. В общей схеме, составленной по данным нескольких авторов, приводим предположительное распределение цепочек превращения углеводов в гликосом, митохондриях и цитозоле эпимастигот *T. cruzi* (рис. 20).

У всех изученных представителей Kinetoplastidae в субстратном фосфорилировании участвует родокинон и в цепочке тканевого дыхания имеются обычные места сопряженного фосфорилирования, как и в митохондриях высших эукариот. В отличие от африканских трипаносом и от *Crithidia fasciculata*, у *T. cruzi* окисление НАД·Н не подавляется антимицином и цианидом и нет «дыхательного контроля» (зависимости дыхания от наличия акцептора фосфата).

Энергетический обмен трипаносом особенно интересен тем, что у этих эндопаразитических простейших имеются две субклеточные органеллы, приспособленные: одна (гликосома) — к анаэробному гликолизу, когда паразит размножается в кровяном русле позвоночного хозяина, другая (митохондрия) — к аэробному гликолизу и частично к аэробному дыханию, когда паразит находится в кишечнике переносчика (Triatomidae [27]). Чем объяснить такие фундаментальные перестройки путей распада углеводов при переходе от одной стадии жизненного цикла к другой? Ведь трипаносомы и в крови позвоночного хозяина, и в кишечнике насекомого-переносчика находятся в аэробных условиях. В крови парциальное давление O_2 выше и его запасы больше, чем в кишечнике насекомого, однако именно кровяные стадии трипаносом переключают свой обмен на пути брожения и теряют функционально активный митохондрия.

Перестройка путей углеводного обмена при переходе от кровяной формы к проциклической трипомастиготе проявляется не только в повышении активности митохондрия, который как бы «подключается» к гликолизу, но и в изменении удельной активности самих ферментов гликолиза в гликосоме [40].

Из табл. 50 видно, что ферменты гликосом *T. brucei* делятся на три категории: основные ферменты гликолиза, которые высокоактивны у кровяных форм и менее активны у культуральных форм кровепаразита; ферменты обмена глицерола, которые не меняют своей активности, и ферменты, повышающие свою активность на один, два порядка на стадии

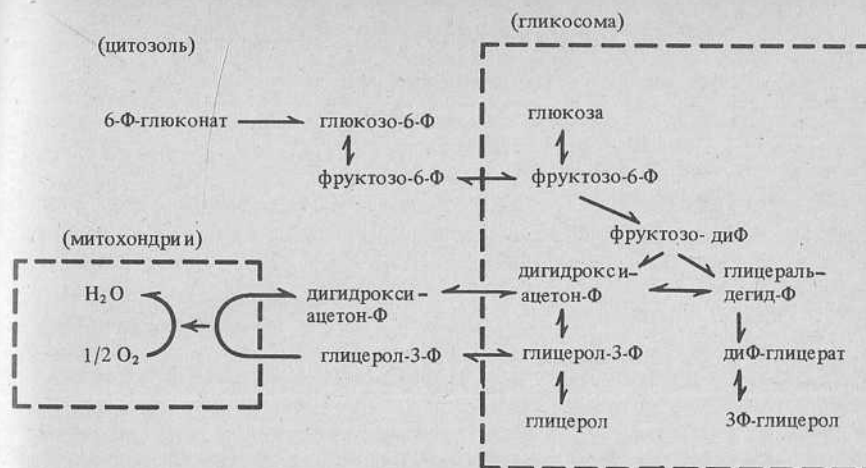


Рис. 21. Пути обмена в гликосомах промастигот лейшманий, по [42] (упрощено)

проциклической трипомастиготы. Естественно, возникает вопрос о структурной организации генов, кодирующих энзимы гликосом и их репрессии и дерепрессии на последовательных стадиях жизненного цикла.

У представителей рода *Leishmania*, как у всех представителей семейства *Trypanosomatidae*, имеются гликосома, в которых сконцентрированы ферменты гликолиза, обмена глицерола, фиксации углекислоты, а также отдельные ферменты β -окисления жирных кислот и синтеза сложных липидов. Значительная часть энзиматических активностей находится в скрытой форме и проявляется только под действием детергента [42].

На основании изучения углеводного обмена в гликосомах промастигот четырех видов лейшманий (*L. major*, *L. m. mexicana*, *L. b. brasiliensis*, *L. donovani*) предложена следующая схема анаэробных путей обмена у этих эндопаразитов (рис. 21).

Гликосома лейшманий отличаются от гликосом трипаносом по ряду признаков, и прежде всего по наличию в них путей обмена липидов. Это

Таблица 51

Отношения удельных активностей ферментов у *L. mexicana* на стадиях амастигот и промастигот, по [34]

Фермент	Отношение амастигот/промастигот	Фермент	Отношение амастигот/промастигот
Гексокиназа	0,43	Глюкозо-6-фосфатаза	0,57
Фосфофруктокиназа	0,42	Гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа	1,6
Пируваткиназа	0,022	Тиолаза	2,4
Сукцинилдегидрогеназа	0,14	Кротоноаза	8,8
Г-6-Ф-дегидрогеназа	0,55	Пальмитоил-КоА-синтетаза	0,9
Глицерол-3Ф-дегидрогеназа	0,67		
Фруктозо-1,6-дифосфатаза	0,56		

Таблица 52

**Основные различия
в энергетическом обмене лямблий и трипаносом**

Особенности энергетического обмена	Лямблии	Трипаносомы *
Наличие митохондрии и гликосом	—	+
Ферменты гликолиза	—	+
в гликосоме	—	—
в цитозоле	+	+
Наличие цепочки тканевого дыхания	—	+
Выживаемость в анаэробных условиях	+	—
Тип дыхания	Нерегулируемый	Регулируемый

* Между *T. lewisi*, *T. congolense* и группой *brucei* имеются значительные различия в конечных продуктах гликолиза, значении дыхательного коэффициента и чувствительности дыхания к цианиду.

Таблица 53

Наличие цитохромов у эндопаразитов, по [29] (сокращенный вариант)

Эндопаразит	a/a ₃	b	c	Цитохромоксидаза
Простейшие				
<i>Strigomonas fasciculata</i>		+	+	
» <i>oncopelti</i>	+	+	+	+
<i>Trypanosoma cruzi</i>	+	+		+ (нет цитохром с-оксидазы)
» <i>gambiense</i>	+	+		
» <i>lewisi</i>	+	+	+	+
» <i>rhodesiense</i>	+	+	—	
<i>Trichomonas foetus</i>	—	—	—	—
» <i>vaginalis</i>	—	—	—	—
Многоклеточные				
Трематоды				
<i>Fasciola hepatica</i>		+	+	
<i>Schistosoma mansoni</i>			+	+
» <i>japonicum</i>				+
Цестоды				
<i>Diphyllobotrium latum</i>			+	
<i>Hymenolepis diminuta</i>				+
<i>Moniezia benedini</i>		+	+	
Нематоды				
<i>Ascaris lumbricoides</i>	+	+		+
<i>Ascaris lumbricoides</i> (ova)	+	+	+	+
<i>Litomosoides carinii</i>			—	—
<i>Trichinella spiralis</i> (larvae)	+	+	+	+
<i>Trichiuris vulpis</i>			+	+

сближает гликосомы лейшманий с пероксисомами в клетках млекопитающих.

Подобно трипаносомам, лейшмании перестраивают свой энергетический обмен с аэробных на анаэробные пути и обратно на последовательных стадиях жизненного цикла. Приводим изменения активностей некоторых ферментов у *L. m. mexicana* при переходе от одной стадии цикла развития к другой (табл. 51).

Изменения удельных активностей ферментов при переходе от амастигот к промастиготам показывают направление перестройки путей обмена.

Из приведенных примеров видно, что пути энергетического обмена у простейших, паразитирующих в просвете кишечника (лямблии), и дигенетических трипаносоматид (лейшманий и трипаносом) заметно отличаются между собой. Основные различия приведены в табл. 52.

Об особенностях цепочки тканевого дыхания, проявляющей свою активность на отдельных стадиях развития многих эндопаразитов, можно судить по табл. 53.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Распад углеводов является основным источником энергии для эндопаразитов. Гликолиз протекает по универсальной схеме Эмбдена — Мейергофа, но у эндопаразитов особую роль играет развилка на уровне фосфоэнолпирувата: как правило, преобладает путь карбоксилирования с последующим восстановлением оксалацетата. Конечные этапы гликолиза очень различны у эндопаразитов, что, видимо, объясняется адаптацией к условиям в органах и тканях промежуточных и дефинитивных хозяев. Этанол, глицерол, малат, ацетат, лактат, пропионат, летучие жирные кислоты и другие соединения, включая углекислоту и формиат, — обычные конечные продукты анаэробных ферментаций. У некоторых эндопаразитических простейших (трипаносомы, лейшмании) имеются специальные субклеточные органеллы, в которых сконцентрированы ферменты гликолиза. У некоторых эндопаразитов, в первую очередь дигенетических, имеются на отдельных стадиях цикла развития более или менее полный набор путей аэробного расщепления углеводов, функционально активный цикл Кребса, цепочка переноса электронов (иногда разветвленная) с участками I, II, III сопряженного фосфорилирования, но в отличие от позвоночных хозяев ацетил-СоА не играет у них центральной коллекторной роли. У других эндопаразитов цепочка переноса электронов и терминальная оксидаза более примитивны, чем у высших эукариот, и имеются только одна или две системы переноса, сопряженные с фосфорилированием. Как обычно, восстановительные эквиваленты передаются у эндопаразитов пиридиннуклеотидами, имеются те же сверхвысокоэнергетические соединения (фосфоэнолпируват, 3-Ф-глицерилфосфат и креатинфосфат) с ΔG° выше 10 ккал / моль, высокоэнергетические (АТФ и АДФ) и низкоэнергетические (эфиры фосфорной кислоты) соединения с ΔG° от —2 до —5 ккал / моль. В отличие от позвоночных хозяев, у которых путь гликолиза жестко фиксирован и имеются только две реакции, в которых синтезируется АТФ на уровнях 3-Ф-глицерилфосфата и фосфоэнолпирувата, у эндопаразитов пути гликолиза легко перестраиваются, адаптируясь к условиям существования, и имеются дополнительные точки субстратного фосфорилирования. Этот вопрос заслуживает краткого пояснения, поскольку при рассмотрении энергетического обмена эндопаразитов нужно учитывать решающее влияние фактора, которым обычно пренебрегают биохимики: окислительным потенциалом внешней среды.

В биологических системах генерация энергии всегда связана с окислительно-восстановительными процессами, т. е. с передачей заряженных

частиц: перемещения зарядов могут иметь место между молекулами, и мы говорим о переносе восстановительных эквивалентов при взаимодействии окислительно-восстановительных пар с различными стандартными окислительно-восстановительными потенциалами (E'_0), но смещения зарядов (электронов) могут иметь место и внутри органической молекулы (от одного атома к другому), и тогда мы говорим об изменении окислительно-восстановительного (о.-в.) числа атомов и распределении зарядов при превращениях молекулы. Первый процесс — перенос зарядов по цепочке окислительно-восстановительных пар — зависит, очевидно, от потенциала внешней среды, т. е. от конечного акцептора передаваемых по цепочке зарядов. Обычно эту роль выполняет кислород, который восстанавливается в воду. Биохимику, привыкшему изучать аэробиев, кажется естественным, что электроны передаются по цепочке от отрицательной к электроположительной паре, теряя значительное количество свободной энергии,

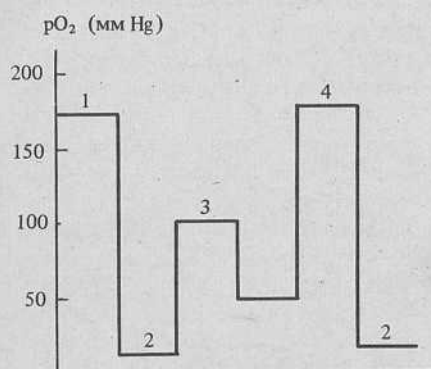


Рис. 22. Изменение pO_2 в среде в течение жизненного цикла аскариды
1 — в почве; 2 — в кишечнике; 3 — в полую вену; 4 — в легких

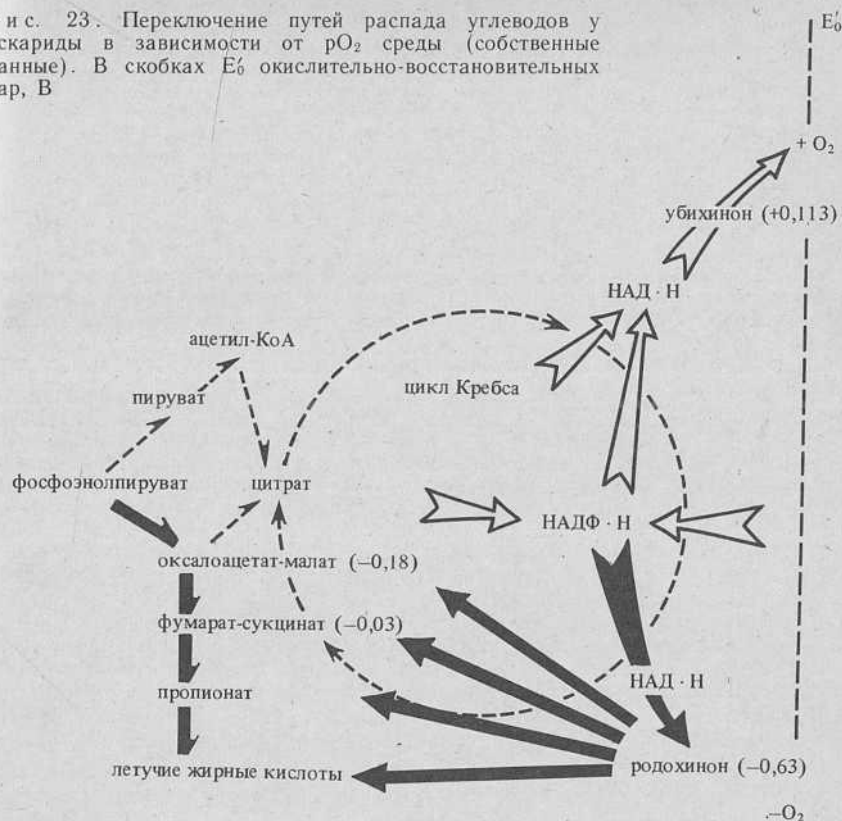
причем если разность между стандартными потенциалами пар больше 0,15 В, то изменение свободной энергии достаточно велико для синтеза АТФ из АДФ. Приводим из А. Ленинджера [14] значение E'_0 некоторых сопряженных окислительно-восстановительных биологических систем:

ацетил-СoA + CO_2 + $2H^+$ + $2e^-$ → пируват + СoA	—0,48
α -кетоглутарат + CO_2 + $2H^+$ + $2e^-$ → изоцитрат	—0,38
3-Фосфоглицероилфосфат + $2H^+$ + $2e^-$ → глицеральдегид-3-Ф	—0,29
пируват + $2H^+$ + $2e^-$ → лактат	—0,19
оксалоацетат + $2H^+$ + $2e^-$ → малат	—0,18
фумарат + $2H^+$ + $2e^-$ → сукцинат	—0,03

Мы не привели хорошо известные стандартные, восстановительные потенциалы для пар цепочки тканевого дыхания (от —0,41 до +0,82 В).

Перенос протонов и электронов на кислород является мощной системой, канализирующей сбор и отток восстановительных эквивалентов. Коллекторами являются окислительно-восстановительные пары никотинамидадениндинуклеотид ($E'_0 = -0,32$) и убихинон ($E'_0 = -0,04$). Первый акцептор собирает восстановительные эквиваленты с более низкого потенциала, что обеспечивает три фосфорилирования в цепочке переноса

Рис. 23. Переключение путей распада углеводов у аскариды в зависимости от pO_2 среды (собственные данные). В скобках E'_0 окислительно-восстановительных пар, В



электронов, второй — с более высокого потенциала (два фосфорилирования).

Для эндопаразитов парциальное давление кислорода во внешней среде — не постоянная величина и может резко меняться на последовательных стадиях жизненного цикла (рис. 22).

При падении парциального давления кислорода или его недоступности меняется вся схема распада углеводов: перестает работать система коллекторов восстановительных эквивалентов и их переброски на кислород. Для позвоночного хозяина единственным и крайне неблагоприятным выходом является переброска восстановительных эквивалентов на пируват с образованием лактата ($E'_0 = -0,19$), но молочная кислота относительно сильная и поэтому токсична. У эндопаразитов имеется эффективная и простая возможность приспособления путей распада углеводов к падению парциального давления O_2 или его отсутствию [59, 60] (рис. 23).

Как было показано выше, анаэробный распад углеводов по этой схеме энергетически более эффективен, чем гликолиз в тканях хозяина; он обеспечивает реокисление пиридиннуклеотидных переносчиков водорода и, что особенно важно, приводит к образованию нетоксичных и легко выводимых конечных продуктов: растворимых в воде очень слабых кислот с насыщенной разветвленной углеродной цепочкой (C_5-C_8).

Таблица 54

Валентности и окислительно-восстановительные числа атомов

Элемент	Валентность	Окислительно-восстановительное число
Водород	1	От -1 до +1
Углерод	4 (2, 3)	От -4 до +4
Азот	3, 5	От -3 до +5
Кислород	2 (4)	-2, -1, 0, +2
Фосфор	3, 5	-3, -2, 0, +1, +3, +4, +5

Примечание. Окислительно-восстановительное число атома — это число эквивалентов электричества (фарadays), потерянных грамм-атомом элемента при переходе от свободного (нейтрального) состояния к связанному состоянию в данной молекуле.

Таблица 55

Окислительно-восстановительные числа углерода в молекулах, по [52]

Молекула	Число	Молекула	Число			
CO ₂	+4	CH ₂ OH—CHON—COOH	0	0	+2	= +2/3
CO	+2	CH ₃ CO—COOH	-2	+2	+2	= +2/3
C	0	CH ₃ COOH	-2	+2		= 0
CH ₃ —CH ₃	-3	CH ₂ OH—CO—CH ₂ OH	0	0	0	= 0
CH ₄	-4	CH ₂ OH—CHON—CH ₂ OH	0	0	0	= 0
H ₂ CO ₃	+4	CH ₂ OH—CHON—CHO	0	0	0	= 0
HOOC—COOH	+3	CH ₂ OH—(CHON) ₄ —CHO	-2	0	2x+1 0 0=0	
НСООН	+2	CH ₂ OH—CHON—CH ₂ OH	0	-2	0	= -2/3
СНО—СНО	+1	CH ₃ —CH ₂ —COOH	-3	-2	+2	= -2
НСНО	0	CH ₃ CH ₂ OH	-2	-2		= -2
CH ₂ OH—CH ₂ OH	-1					
НСН ₂ ОН	-2					

Пути анаэробного и аэробного гликолиза у эндопаразитов разнообразны, лабильны и хорошо адаптированы к изменениям условий при прохождении жизненного цикла. По нашему убеждению, это очень древние механизмы, возникшие задолго до появления нынешних хозяев эндопаразитов. Они обеспечивали энергетические потребности простейших и первых многоклеточных за счет внутримолекулярных окислительно-восстановительных реакций задолго до появления кислорода в среде. Приведем некоторые данные, которые понадобятся в дальнейшем для схемы возникновения и эволюции эндопаразитизма.

Основные элементы, входящие в состав живой материи, имеют следующие валентности и окислительно-восстановительные числа (табл. 54).

В качестве примера приводим в табл. 55 окислительно-восстановительные числа для углерода в составе различных органических соединений и средний окислительный уровень (по углероду) некоторых молекул — метаболитов гликолиза.

Как видно из таблицы, глюкоза и продукты ферментаций имеют близкие средние окислительные числа, за исключением спирта и жирных кислот — обычных продуктов анаэробного гликолиза у эндопаразитов.

Таблица 56

Адаптация обмена гельминтов к условиям среды обитания, по [68]

Показатель	Поверх- ность почвы		Плев- раль- ная по- лость	Кровь	Мышца	Желч- ные пути	Кишечник		
	1	2					тол- стый	тонкий	
Потребление O ₂	++	++	+	+	+	+	+	+	+
Потеря подвижности при анаэробии	++	++	++	+	+	+	+	—	—
Гибель в отсутствии кислорода	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Торможение дыхания цианидами	+	+	+	+	+	—	+	—	—
Наличие эффекта Пастера	+	+	+	+	+	—	—	—	—
Активный цикл три- карбоновых кислот	+	+	—	—	+	—	—	—	—
β-окисление жирных кислот	+	+	+	—	+	—	—	—	—
Конечные продукты гликолиза	CO ₂ + H ₂ O		Органические кислоты этанол, сукцинат			Летучие жирные кислоты			

Примечание. Гельминты: 1 — *Ascaris suum* (larvae); 2 — *Coenorhabditis briggsae* (свободноживущий вид); 3 — *Litomosoides carinii*; 4 — *Schistosoma mansoni*; 5 — *Trichinella spiralis* (larvae); 6 — *Fasciola hepatica*; 7 — *Heterakis gallinae*; 8 — *Ascaris suum*; 9 — *Hymenolepis diminuta*.

Следует, однако, учесть фосфорилирование (фосфорные остатки ионизированы при pH=7, и их влияние сказывается до третьего углерода) и окисление глицеральдегида-3-Ф в 3-Ф-глицероилфосфат (когда фосфоглицераткиназа передает фосфорный остаток с ацилфосфата на АТФ, возрастает окислительное число углерода карбоксила) и происходит внутримолекулярное смещение зарядов. Молекула глюкозы отдает часть своей свободной энергии во второй фазе гликолиза, когда фиксированный на ферменте 3-Ф-глицеральдегид теряет два гидрид-иона и энергия межатома перераспределения зарядов используется для синтеза высокоэнергетического ацилферментного комплекса, а затем ацилфосфатной связи.

Второе субстратное фосфорилирование — перенос фосфатного остатка с фосфоэнолпирувата на АТФ пируваткиназой — отсутствует у многих эндопаразитов. У них фосфоэнолпируват карбоксилируется очень активной фосфоэнолпируваткарбоксикиназой с образованием оксалацетата, который в отличие от хозяина содержится в значительных количествах в митохондриях и гликозомах эндопаразитов [38].

Зависимость биоэнергетики эндопаразитов от места обитания можно показать на таблице, отображающей адаптацию обмена к условиям среды. Табл. 56 составлена нами по данным разных авторов и была приведена в монографии, опубликованной в 1978 г. в ГДР [68].

ОБМЕН ЛИПИДОВ

Содержание липидов в тканях эндопаразитов многократно определялось отечественными и иностранными авторами, и обзоры этих работ можно найти в монографиях по биохимии эндопаразитов [17, 29, 68] (табл. 57).

Для характеристики состава липидов гельминтов можно взять в качестве примера данные Н. П. Выхрестюк и Г. В. Ярыгиной [73], полученные при изучении двух трематод и свободноживущей турбеллярии (табл. 58) и данные тех же авторов о структуре фосфолипидов (табл. 59).

Среди жирных кислот у *E. pancreaticum* найдены такие ненасыщенные жирные кислоты, как $C_{20:1}$, $C_{20:2}$, $C_{20:3}$, $C_{20:5}$, $C_{22:4}$. Некоторые из этих необычных ненасыщенных кислот встречаются и у *F. hepatica* и *S. mansoni*.

Как известно, липиды, свободные или в виде липопротеидов, входят в состав структурных элементов клеток, например мембран или оболочек, и, кроме того, играют у аэробов роль запасного энергетического материала. Липиды, выполняющие роль энергетического резерва, как правило, мало отличаются у разных животных, но структурные липиды более древнего происхождения и более специфические могут характеризовать филогенетическое родство между таксонами.

Например, среди жирных кислот фосфатидилэтаноламинов жгутиконосных трипаносоматид найдена необычная циклопропановая жирная кислота: цис-9,10-метиленоктадекановая кислота. При определении наличия этой кислоты у представителей шести родов получены следующие данные [36]: у 14 видов рода *Crithidia* найдено циклопропановой жирной кислоты от 34 до 72% от всех жирных кислот фосфатидилэтаноламинов; у 7 видов рода *Leptomonas* — от 0 (один вид) до 63%; у 8 видов рода *Herpetomonas* — от 0 (3 вида) до 20%; у 15 видов рода *Leishmania* — от 6 до 16% (найдена у всех *Hypo-* и *Peripylaria* и у 3 из 13 *Suprapylaria*); у 4 видов рода *Blastocrithidia* циклопропановая жирная кислота полностью отсутствует; у 11 видов рода *Trypanosoma* полностью отсутствует.

Синтез циклопропанового кольца требует затраты 3 АТФ, и биологический смысл синтеза неясен. Распространение этих жирных кислот необычно: у трипаносоматид циклопропановые жирные кислоты имеются только в составе фосфатидилэтаноламинов, у бактерий — в составе различных фосфолипидов, у высших растений — в составе сульфолипидов и фосфатидилхолина, а также триацилглицерола. У сороконожек (*Spirostreptida*) они содержатся в больших количествах в триацилглицеролах, неэстерифицированных жирных кислотах и фосфолипидах. В отличие от трипаносоматид, у которых обнаружена только одна циклопропановая кислота, у бактерий имеются циклопропановые кислоты C_{13} , C_{15} , C_{17} , C_{19} , у растений — C_{18} и C_{19} , у сороконожек — C_{17} , C_{18} и C_{19} .

Другим примером своеобразия липидов у эндопаразитических простейших может служить состав стеролов у лейшманий [39]. В табл. 60 приведено в сокращенном виде содержание некоторых стеролов у лейшманий.

Из таблицы видно, что лейшмании поглощают холестерол из внешней среды, хотя сами не содержат или почти не содержат холестерола. Многие стеролы лейшманий характерны для дрожжей и мицелиальных грибов,

Т а б л и ц а 57
Содержание липидов в тканях некоторых эндопаразитов, по [29, 54, 68]

Эндопаразит	Содержание липидов %	
	от сухого веса	от сырого веса
Жгутиконосцы		
<i>Crithidia fasciculata</i>	—	2,99
<i>Trypanosoma cruzi</i>	20,1	3,12
Споровики		
<i>Eimeria acervulina</i>	14,4	—
<i>Plasmodium knowlesi</i>	28,8	—
Ресничные		
<i>Entodinium simplex</i>	—	6,3
<i>Isotricha intestinalis</i>	—	9,1
» <i>prostoma</i>	—	7,7
Нематоды		
<i>Ascaris lumbricoides</i>		
половозрелые	6,7—10,9	1,3—1,6
кутикула	—	0,61
мышца	—	0,75
гениталии	—	6,0
яйца (без оболочки)	—	17,5
<i>Mecistocirrus digitalis</i> , половозрелые	10,4	2,5
<i>Ancylostoma caninum</i> , личинки	39,7	—
<i>Cooperia punctata</i> »	39	—
<i>Ascaridia galli</i> , половозрелые	—	1,34
<i>Eustrongylidis ignatus</i> , личинка	4,4	—
<i>Porrocoecum decipiens</i> »	3,5	—
<i>Trichinella spiralis</i> , личинка	5,5	—
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i> , половозрелые	11,9	—
<i>Dirofilaria immitis</i> »	—	2,1
Цестоды		
<i>Echinococcus granulosus</i> , половозрелые	34,6	5,83
То же, личинка	39,7	—
<i>Hymenolepis diminuta</i> , половозрелые	21,2	5,2
» <i>citelli</i> »	16,1	3,9
<i>Spirometra mansonoides</i> »	24	—
То же, личинка	16	—
<i>Taenia taeniaeformis</i> , личинка	9	—
Трематоды		
<i>Fasciola gigantica</i> , половозрелые	12,9	2,81
<i>Castrothylax crumenifer</i> »	39,7	1,4
<i>Schistosoma mansoni</i> »	33,9	—
<i>Paramphistomum cervi</i> »	4,75	—
<i>Eurytrema pancreaticum</i> »	15,73	2,49

причем мало активна вторая реакция трансметилирования эрго-ста-5,7,24/28/-триэн-3β-ол'а/5-дегидроэпистерола/.

Для сравнения укажем, что гельминты, паразитирующие в кишечнике позвоночных хозяев, содержат значительные количества холестерина (табл. 61).

Таблица 58

Состав липидов турбеллярии и двух трематод

Липиды	1	2	3
Всего липидов, % от сухого веса	28,7	15,7	4,75
Фосфолипиды, % от всех липидов	21,7	24,7	49,7
Нейтральные и гликолипиды, % от всех липидов	78,3	75,3	50,3
Моноацилглицеролы	Следы	Следы	Следы
Диацилглицеролы	6,1	»	»
Стеролы, % от всех нейтральных липидов	19,2	43,6	68,6
Свободные жирные кислоты, % от всех нейтральных липидов	15,8	5,2	5,9
Триацилглицеролы	45,9	16,1	12,8
Жирные спирты	5,1	Нет	Нет
Стеролы (эстер.)	7,9	35,1	12,8

Примечание. 1 — свободноживущая турбеллярия *Penicurva sibirica*; 2 — трематода *Eurytrema pancreaticum*; 3 — трематода *Calicophoron erschowi*.

Таблица 59

Состав фосфолипидов у турбеллярии и двух трематод (в %)

Фосфолипиды	P. sibirica	E. pancreaticum	C. erschowi
Фосфатидилэтаноламин	25,8	13,8	25,8
Фосфатидилхолин	43,6	55,9	56,2
Лизофосфатидилхолин	11,9	Следы	Следы
Лизофосфатидилэтаноламин	13,9	6,0	7,5
Фосфатиновая кислота	Нет	5,3	2,1
Сфингомиелин	2,6	Следы	Следы
Фосфатидилсерин	Нет	7,0	7,1
Дифосфатидилглицерол	2,3	3,6	1,4
Фосфолипиды невыясненной структуры	Нет	8,3	Нет

Таблица 60

Нейтральные липиды и стеролы у лейшманий

Вид	Нейтральные липиды, мг	Стеролы, мг	1	2	3	4
			в %			
<i>L. tropica</i> (Индия)	26,5	12,8	—	17,0	78,0	4,9
» (среда с холестеролом)	39,1	—	33,5	5,9	59,2	1,3
» (Ирак)	33,5	4,9	—	20,0	74,1	5,6
» (СССР)	24,4	—	6,7	23,3	63,3	6,5
<i>L. donovani</i>	55,5	—	—	12,3	72,6	4,1
<i>L. mexicana amasonensis</i>	47,7	9,8	—	7,0	93,0	—
<i>L. m. mexicana</i>	106,0	—	1,1	—	78,4	0,8
<i>L. m. pifanoi</i>	52,9	6,3	—	—	98,0	—

Примечание. 1 — холестерин-5-эн-3β-ол; 2 — 24-метилхолестерин-5,7,22-триэн-3β-ол; 3 — эргостерин-5,7,24/28-триэн-3β-ол; 4 — 24-этилхолестерин-5,7,22-триэн-3β-ол.

Т а б л и ц а 61

Содержание холестерина и 24-метилхолестерола
у дигенетических трематод буйвола
(в % от всех стеролов), по [67] (сокращенный вариант)

Вид	Холестерол	24-метилхолестерол
<i>Paramphistomum epiditum</i>	44,6	22,5
<i>Gastrothylax crumenifer</i>	13,4	29,4
<i>Gigantocotyle explanatum</i>	99,9	Следы

П р и м е ч а н и е. Различия в содержании холестерина легко объясняются тем, что первые два гельминта паразитируют в рубце, третий — в печени и желчных путях хозяина.

простейших, показано, однако, что простейшие могут поглощать сложные липиды из среды, например ацилглицериды, а также связывать олеиновую кислоту с поверхностными мембранными белками с последующим более медленным поглощением образованных липо-протеинов [72]. Такой механизм потребления олеиновой кислоты показан у *Trypanosoma brucei*, *T. rhodesiense*, *T. mega*, *T. ovium*, *Crithidia fasciculata*, *C. oncopelti*, *Leishmania mesogramma*.

Обзор путей обмена липидов у эндопаразитических гельминтов можно найти в специальных монографиях [29, 68]. Синтез отдельных сложных липидов, как, например, сфингомиелина, изучен у некоторых гельминтов: у *Hymenolepis diminuta* синтез сфингомиелина осуществляют те же ферменты, что у позвоночного хозяина (серинпальмитоилтрансфераза, 3-оксосфинганинредуктаза, дигидросфингозинредуктаза, сфингозинацилтрансфераза и церамидхолинфосфотрансфераза) [28]. У *Ascaris suum* имеются специфические гликолипиды — аскарозиды А, В и С, которые, видимо, играют защитную роль в составе вителлиновых мембран, характерных для яиц многих нематод (рис. 25).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Липиды эндопаразитов имеют особенности, которые их отличают от липидов позвоночных хозяев. Это особенно верно, если сравнивать между собой не резервные, а структурные или биологически активные липиды. По строению сложных липидов можно, очевидно, будет подразделять некоторые крупные таксоны или даже искать филогенетические связи между ними. Однако сейчас трудно сказать, оправдаются ли эти надежды. Сперва нужно накопить достаточное количество фактических данных о липидах эндопаразитов, различающихся по систематическому положению и по условиям среды обитания. Нам кажется более интересным рассмотреть роль липидов в обеспечении энергетических потребностей эндопаразитов.

Как указано в начале этой главы, энергетические потребности эндопаразитов могут удовлетворяться за счет внутримолекулярных перестроек углеводов с изменением окислительно-восстановительных чисел атомов и разрывом отдельных связей. При этом изменяются энтальпия, энтропия и в водной среде происходит диссоциация и сольватация конечных продуктов (например, при молочном, уксусном, пропионовом, янтарно-кислотном и

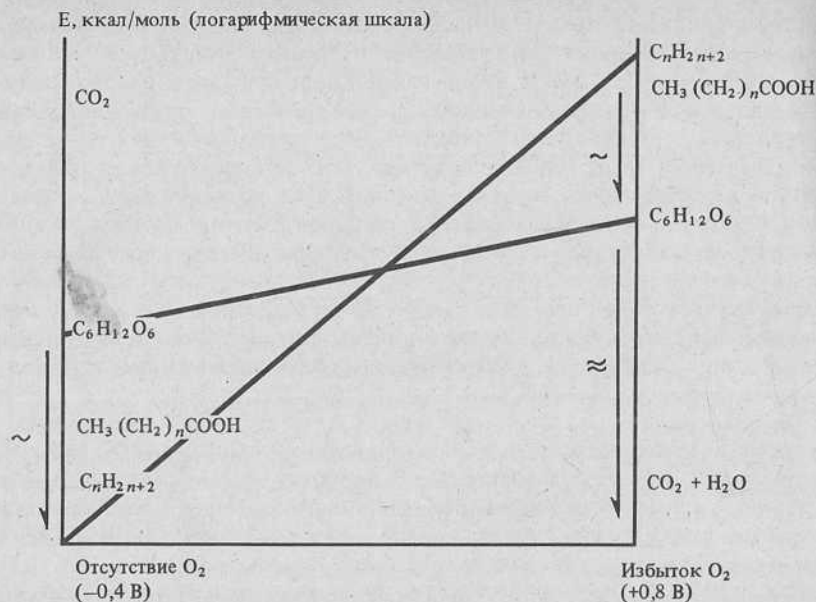
других формах гликолиза). Выделение свободной энергии, пригодной для биосинтезов, невелико по сравнению с полным окислением глюкозы, хотя эффективность обоих процессов примерно равна. При брожении и молочнокислом гликолизе изменения свободной энергии соответственно составляют —54 ккал/моль. Нередко пишут о совершенстве путей гликолиза в тканях позвоночных животных, не следует, однако, забывать, что анаэробный распад глюкозы у позвоночных является лишь остатком более разнообразных, совершенных и эффективных путей получения биологически доступной энергии из внутримолекулярных перестроек углеводов. Большинство этих путей исчезло с исчезновением многих анаэробов и полуанаэробов как про-, так и эукариотов (простейших и многоклеточных), господствовавших на земле в течение сотен миллионов лет, но некоторые пути сохранились у современных полуанаэробов, в частности у эндопаразитов, и примеры таких путей приводились выше.

Что касается липидов, в частности жирных кислот, то их роль в качестве источников биологически доступной энергии вовсе не однозначна. Все зависит от среды, вернее, от окислительного потенциала среды. В аэробных условиях при избытке доступного кислорода наиболее экзотермична реакция (или система реакций), при которой полностью восстановленный углерод с окислительно-восстановительным числом —4 (CH_4) окисляется в CO_2 , т. е. превращается в углерод с окислительно-восстановительным числом +4. Но возможность такого превращения зависит от потенциала среды: при снижении этого потенциала от +0,8 до —0,4 В окисление углеводов становится постепенно неполным, энергетически все менее выгодным и, в конце концов, в анаэробной среде углеводы и жирные кислоты теряют всякую энергетическую ценность и являются только отбросами обмена. Это схематически представлено на рис. 26.

В своем жизненном цикле эндопаразиты последовательно проходят через несколько сред обитания с разным окислительным потенциалом — от —0,4 В или близкого к этому значения в анаэробных участках тонкого и толстого кишечника до +0,8 В во внешней среде — артериальной крови или легких промежуточного или дефинитивного хозяина.

Эндопаразиты развиваются, конечно, и в средах с промежуточным значением окислительного потенциала (например, в мышцах или печени дефинитивного хозяина или в кишечнике и целомической полости переносчика), но это особый вопрос, который требует отдельного рассмотрения. Здесь мы ограничимся особенностями обмена жирных кислот у эндопаразитов в двух крайних ситуациях: в аэробных условиях и в практически анаэробной среде.

Эндопаразитические простейшие или гельминты могут быть аэробами как на личиночной, так и на половозрелой стадии развития в зависимости от вида. Обмен эндопаразита на аэробной стадии в общих чертах напоминает обмен позвоночного хозяина: ацетил-CoA играет центральную диспетчерскую роль, объединяя пути распада и синтез углеводов, белков и жирных кислот и подключая их к «метаболической мельнице» цикла трикарбоновых кислот, из которой убирается окисленный углерод и энергично «отсасываются» восстановительные эквиваленты. На аэробной стадии развития насыщенные жирные кислоты являются для эндопаразита ценным энергетическим материалом, который расходуется для био-



Р и с. 26. Изменение доступной энергии молекул в зависимости от окислительного потенциала в среде обитания

синтезов, обеспечения подвижности, морфогенеза и других нужд. Некоторые эндопаразиты способны поглощать жирные кислоты из внешней среды и модифицировать их, другие лишены этой возможности, но все используют жиры в качестве энергетического материала на аэробной стадии своего цикла. У многих эндопаразитов резервы жиров накапливаются в тканях заранее, до перехода к аэробной стадии жизненного цикла.

Как известно, с удлинением углеродной цепочки углеводородов (и насыщенных жирных кислот) повышается абсолютное значение среднего окислительно-восстановительного числа углерода и приближается к -2 . Следовательно, начиная с некоторой длины алифатической цепочки насыщенной жирной кислоты (C₁₄—C₁₆) изменение энтальпии при полном окислении практически постоянно (немного больше 100 ккал/моль O₂).

Очевидно, что у эндопаразитов, находящихся на аэробной стадии своего цикла развития, выход биологически запасаемой энергии при полном окислении жирных кислот зависит прежде всего от эффективности сопряженного фосфорилирования в цепочке переноса электронов. Цепочка тканевого дыхания хорошо изучена у млекопитающих и некоторых других лабораторных животных, и с привычным для нас антропоцентризмом мы не прочь утверждать, что наибольшего совершенства цепочка тканевого дыхания достигла у филогенетически наиболее молодых видов аэробииотов, прежде всего у млекопитающих и у человека.

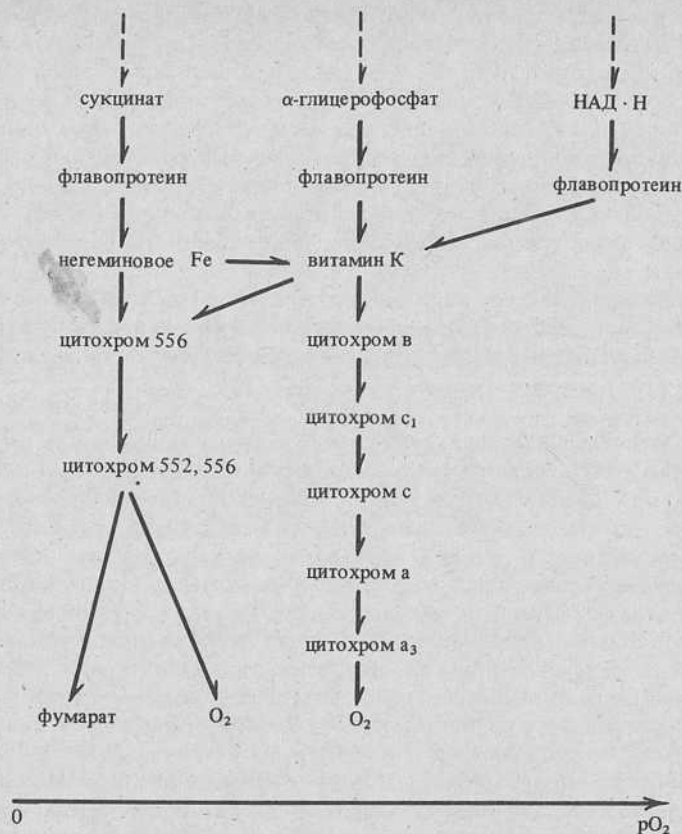
Уместно напомнить, что «совершенство» обмена — это совершенство его адаптации к среде. Стабильные или медленно меняющиеся условия среды приводят к стабилизации путей обмена, резко колеблющиеся

параметры среды требуют легко переключаемых путей. Это общебиологическое положение можно проиллюстрировать на примере позвоночного хозяина и его эндопаразитов. Организм хозяина (для примера возьмем организм человека) построен с биохимической точки зрения по принципу «куклы-матрешки»: метаболические циклы закреплены в субклеточных структурах, расположенных во внутриклеточной среде (50% от веса тела), которая необычайно стабильна по всем показателям (рН, T° , ионная сила, окислительный потенциал, состав метаболитов, ионов, кофакторов и т. д.) и отделена от следующей оболочки — внеклеточной жидкости — огромной поверхностью контакта в $21\,900\text{ м}^2$; внеклеточная среда (15% от веса тела) несколько менее стабильна по составу, приносит исходные и уносит конечные продукты внутриклеточного обмена, передавая их из внутриклеточного пространства в следующую среду-оболочку — кровь; кровь (5% от веса тела) менее стабильна по составу, чем внеклеточная и тем более внутриклеточная жидкость, снабжена мешалкой (сердце), фильтром-запасником (печень), фильтром-ассенизатором (почки) и контактирует опосредованно с внешней средой в кишечнике (100 м^2), легких (100 м^2) и через кожу (2 м^2). Человек еще дополнительно стабилизировал внешние условия (питание, одежда, жилище, режим дня и т. д.). Нужно ли удивляться, что пути метаболизма хозяина высоко эффективны, жестко фиксированы и очень ранимы (изменение структуры или концентрации одной молекулы из многих тысяч означает болезнь или смерть). Что касается метаболизма эндопаразитов, то он не отгорожен от внешней среды, а тесно связан с ней при помощи молекулярных датчиков. Их сигналы являются сигналами к перестройке внутриклеточного метаболизма: в ответ на изменения среды появляются и исчезают целые пути обмена и даже субклеточные органеллы.

В качестве примера приведем цепочку переноса электронов у *Moniesia expansa* [33] и схематически покажем, как она работает при изменении содержания кислорода в среде (рис. 27).

Можно ли говорить о биохимической примитивности эндопаразитов, если они способны обеспечивать свои энергетические потребности, несмотря на колебания окислительного потенциала и независимо от наличия кислорода в среде?

На анаэробной стадии жизненного цикла эндопаразиты вынуждены решать другую трудную проблему, связанную с жирными кислотами, которые теперь из ценного энергетического материала превратились в отходы, поскольку эндопаразиты получают нужную им энергию, превращая глюкозу в жирные кислоты. При этом отдельные углеводы окисляются до CO_2 , но большая часть восстанавливается с образованием жирных кислот. Углекислота выделяется эндопаразитами или сберегается в виде нерастворимых гранул карбоната кальция. Но как быть с жирными кислотами? Приведем два совершенно разных способа удаления липидных отходов обмена у кишечных гельминтов. У цестод жирные кислоты накапливаются в члениках по мере их старения; когда членик умирает, он отрывается от стробилы и выбрасывается вместе с накопившимися в нем отходами обмена. У аскарид выработался интересный компромисс, при котором учитываются эффективность анаэробного распада глюкозы и растворимость в воде конечных продуктов гликолиза. Известно, что



Р и с. 27. Изменение путей тканевого дыхания у *Moniezia expansa* в зависимости от pO_2 среды, по [33]

эффективность гликолиза тем выше, чем более восстановлен углерод в конечных продуктах (о.-в. число формиата +2, ацетата 0, пропионата — $2/3$ и далее оно мало меняется), с другой стороны, растворимость жирных кислот в воде снижается с удлинением углеродной цепочки, но остается высокой до C_6 — C_7 . В качестве основных конечных продуктов распада глюкозы аскарида выделяет α -метилмасляную и валериановую кислоты. Это позволяет: сохранять высокую эффективность анаэробного разложения глюкозы с дополнительными реакциями субстратного фосфорилирования; удалять конечные продукты, которые растворимы в воде и летучи; стабилизировать pH тканей (выделяются слабые кислоты и сберегается запас карбоната кальция).

ЛИТЕРАТУРА

1. Аннабаева Г. Д. Фосфоэнолпируваткарбоксикиназная система гельминтов и возможность ее торможения антигельминтными препаратами: Дис. ... канд. мед. наук. М., 1973.

2. Бенедиктов И. И. Транспорт электронов в митохондриях трематоды *Fasciola hepatica* // Тр. ВИГИС. М., 1971. Т. 17. С. 57—62.
3. Бенедиктов И. И. Строение и функции митохондрий гельминтов // Тр. ВИГИС. М., 1971. Т. 17. С. 51—56.
4. Бенедиктов И. И. Активность ферментных систем митохондрий гельминтов по данным спектрофотометрии и компенсационной потенциометрии // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1975. Т. 44. № 3. С. 299—303.
5. Бенедиктов И. И. Системы транспорта электронов и фосфорилирования у гельминтов // Научные и прикладные проблемы гельминтологии. М.: Наука, 1978. С. 10—15.
6. Бенедиктов И. И. Пути биохимического окисления и энергетический обмен у гельминтов и биохимический механизм действия антгельминтиков: Дис. ... д-ра биол. наук. М., 1982.
7. Вертинская М. К. Окислительные процессы в тканях *Ascaridia galli* и *Macracanthophynchus hirudinaceus* // Тр. ВИГИС. 1971. Т. 17. С. 67—70.
8. Говорова С. В. Гексокиназная активность у *Fasciola hepatica* и *Ascaridia galli* // Тр. ВИГИС. 1972. Т. 19. С. 76—79.
9. Гринберг Л. Н. Система малярийный паразит — эритроцит: биохимические основы и действие антималярийных препаратов: Дис. ... д-ра биол. наук. М., 1984.
10. Егоров Н. С., Сухарева-Немакова Н. Н., Хорохорина В. А. Полисахариды простейших // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1985. № 3. С. 362—373.
11. Клочкова В. И. Фосфоэнолкарбоксикиназа у *Calicophoron erschowi* // Паразитология. 1979, Т. 13, № 4. С. 391—396.
12. Куриленко Р. П. Особенности альдолазы и некоторых других ферментов углеводного обмена в тканях *Ascaris suum* и *Fasciola hepatica*: Дис. ... канд. биол. наук. М., 1974.
13. Лайнис Ю. Я. Изменения в митохондриях позвоночного хозяина, вызванные летучими жирными кислотами, выделяемыми аскаридами: Дис. ... канд. биол. наук. Рига, 1975.
14. Ленинджер А. (Lehninger A. L.). Основы биохимии. М.: Мир, 1985.
15. Полякова О. И. Об активности некоторых ферментов гликолиза у *Ascaridia galli* // Бюл. ВИГИС. 1967.1. С. 89—91.
16. Полякова О. И. Пути анаэробного распада углеводов у гельминтов // Тр. ВИГИС. 1971. Т. 17. С. 73—77.
17. Проссер Л., Браун Ф. Сравнительная физиология животных / Пер. со 2-го изд. М.: Мир, 1967. 766 с.
18. Пушкарев И. А. Жирные кислоты *Ascaris suum* (состав, выделение в среду, влияние условий содержания аскарид и тормозящее действие антгельминтиков): Дис. ... канд. биол. наук. М., 1965.
19. Резник Г. К. Об утилизации запасного гликогена аскаридиями при голодании в аэробных условиях // Материалы. науч. конф. Всесоюз. о-ва гельминтологов. М., 1969, 1. С. 248.
20. Сенутайте Я. Ю. Особенности гликолитических путей у *Fasciola hepatica* и возможность их блокирования антгельминтными препаратами: Дис. ... канд. биол. наук. Вильнюс. 1970.
21. Сенутайте Я. Ю. Особенности углеводно-жирового обмена у фасциол и действие специфических антгельминтиков // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1971. Т. 40, № 3. С. 336—346.
22. Смородинцев И. А., Бебешин К. В. О содержании гликогена у ленточных глистов // ДАН СССР. 1935. № 1. С. 413—414.
23. Сопрунов Ф. Ф. Особенности обмена кишечных гельминтов и проблема синтеза специфических антгельминтных препаратов // Тр. Ин-та мед. паразитологии и троп. медицины. М., 1970. С. 135—145.
24. Сопрунов Ф. Ф., Аннабаева Г. Д. Фосфоэнолпируваткарбоксикиназная система у гельминтов *Ascaris suum* и *Fasciola hepatica* // Биохимическая эволюция. Л.: Наука, 1973. С. 27, 31.
25. Шестаков Е. А. Особенности углеводного обмена у *Mecistocirrus digitatus* и ингибиторное действие фенотиазина на процессы ферментации и окисления углеводов: Дис. ... канд. биол. наук. М., 1973.

26. Шестаков Е. А. Окислительные процессы в тканях *Paramphistomum cervi* // Тр. Биол. почв. ин-та ДВНЦ АН СССР. Нов. сер. 1975. Т. 26, № 129. С. 205—210.
27. Affranchino J. L., De Tarlovsky M. N. S., Stoppani A. O. M. Respiratory control in mitochondria from *Trypanosoma cruzi* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 16. P. 289—298.
28. Bankov I., Barrett J. Sphingomyelin synthesis in *Hymenolepis diminuta* // Ibid. 1986. Vol. 15. P. 341—348.
29. Brandt T. von. Biochemistry and physiology of endoparasites. Amsterdam: Elsevier, 1979. 353 p.
30. Broman K., Knüpfer A. L., Ropars M., Deshusses J. Occurrence and role of phosphoenolpyruvate carboxykinase in procyclic *Trypanosoma brucei* brucei glycosomes // Mol. and Biochem. Parasitol. 1983. Vol. 8. P. 79—87.
31. Buist R. A., Schofield P. J. Some aspects of the glucose metabolism of *Fasciola hepatica* // Intern. Biochem. J. 1971. Vol. 2. P. 377—383.
32. Cannata J. J. B., Gazzulo J. J. Glycosomal and mitochondrial malate-dehydrogenases in epimastigotes of *Trypanosoma cruzi* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 11. P. 37—50.
33. Cheah K. S. Oxidative phosphorylation in *Moniezia* mitochondria // Comparative biochemistry of parasites / Ed. H. Van den Bossche. N. Y.; L.: Acad. press, 1972. P. 479—490.
34. Coombs G. H., Craft J. A., Hart D. T. A comparative study of *Leishmania mexicana* amastigotes and promastigotes enzyme activities and subcellular locations // Mol. and Biochem. Parasitol. 1982. Vol. 5. P. 199—211.
35. Cornford E. M., Fitzpatrick A. M. The mechanism and rate of glucose transfer from male to female schistosomes // Ibid. 1985. Vol. 17, N 2. P. 131—142.
36. Fish W. R., Holz G. G., Beach D. H. et al. The cyclopropane fatty acid of trypanostomatids // Ibid. 1981. Vol. 3. P. 103—115.
37. Fouquey C. Structure chimique des ascarosides A, B et C // Bull. Soc. chim. biol. 1962. Vol. 44. P. 69—84.
38. Fry M., Jenkins D. C. Nematoda: aerobic respiratory pathways of adult parasitic species // Exp. Parasitol. 1984. Vol. 57. P. 86—92.
39. Goad L. J., Holz G. G., Beach D. H. Sterols of leishmania species: Implications for biosynthesis // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 10. P. 161—170.
40. Hart D. T., Misset O., Edwards S. W., Opperdoes F. R. A comparison of the glycosomes (microbodies) isolated from *Trypanosoma brucei* blood-stream forms and cultured procyclic trypomastigotes // Ibid. 1984. Vol. 12. P. 25—36.
41. Goad L. J., Holz G. G., Beach D. M. Sterols of ketoconazole-inhibited *Leishmania mexicana* promastigotes // Ibid. 1985. Vol. 15. P. 257—279.
42. Hart D. T., Opperdoes F. R. The occurrence of glycosomes (microbodies) in the promastigote stage of four major *Leishmania* species // Ibid. 1985. Vol. 13. P. 159—172.
43. Hill C. G. Electron transport systems in kinetoplastida // Biochim. et biophys. acta. 1976. Vol. 456. P. 149—193.
44. Köhler P. Bioenergetics in parasitic protozoa and helminths // Parasites — their world and ours / Ed. D. F. Methrick, S. S. Desser. Amsterdam: Elsevier, 1982. P. 101—112.
45. Köhler P. The strategies of energy conservation in helminths: Mini-review // Mol. Bioch. Parasitol. 1985. Vol. 17. P. 1—18.
46. Komuniecki R., Komuniecki P. R., Saz H. J. Relationships between pyruvate decarboxylation and branched-chain volatile acid synthesis in *Ascaris* mitochondria // J. Parasitol. 1981. Vol. 67. P. 841—846.
47. Komuniecki R., Komuniecki P. R., Saz H. J. Pathway of formation of branched-chain volatile fatty acids in *Ascaris* mitochondria // Ibid. P. 601—608.
48. Komuniecki R., Wack M., Coulson M. Regulation of the *Ascaris suum* pyruvate dehydrogenase complex by phosphorylation and dephosphorylation // Ibid. 1983. Vol. 8. P. 165—176.
49. Komuniecki R., Fekete S., Thissen J. 2-Methylbutyryl-CoA dehydrogenase from mitochondria of *Ascaris suum* and its relationship to NADH-dependent 2-methylcrotonyl CoA reduction // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1984. Vol. 118. P. 783—788.
50. Komuniecki R., Rioux A., Thissen J. NADH-dependent tiglic-CoA reduction in

- disrupted mitochondria of *Ascaris suum* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 10. P. 24—32.
51. Lindmark D. G. Energy metabolism of the anaerobic protozoan *Giardia lamblia* // Ibid. 1980. Vol. 1. P. 1—12.
 52. McGavock W. C. Organic oxidation-reduction reactions. San Antonio: Trinity Univ. Ed., 1955. 142 p.
 53. Mackenzi N. E., Johnson J., Burton G. et al. ^{13}C NMR studies on glycolysis in intra- and extraerythrocytic *Babesia microti* // Ibid. 1984. Vol. 13. P. 13—20.
 54. Mills G. L., Taylor D. C., Williams J. F. Lipid composition of metacestodes of *Taenia taeniaeformis* and lipid changes during growth // Mol. and Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 3. P. 300—308.
 55. Muturi Nj., Whittaker C. J., Hill G. C. Evidence for a branched electron transport chain in *Trypanosoma brucei* // Ibid. 1980. Vol. 1. P. 13—29.
 56. Opperdeos F. R., Markos A., Steiger R. F. Localization of malate dehydrogenase, adenylate kinase and glycolytic enzymes in glycosomes and theronine pathway in the mitochondrion of cultured procyclic trypomastigotes of *Trypanosoma brucei* // Ibid. 1981. Vol. 4. P. 291—310.
 57. Orrell S. A., Bueding E., Colucci A. V. Relationsheep between sedimentation coefficient distribution and glycogen level in the cestode *Hymenolepis diminuta* // Comp. Biochem. and Physiol. 1966. Vol. 18. P. 657—662.
 58. Pietrzak S. M., Saz H. J. Succinate decarboxylation to propionate and the associated phosphorylation in *Fasciola hepatica* and *Spirometra mansonioides* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 3. P. 61—70.
 59. Powell J. W., Stables J. N., Watt R. A. An investigation of the glucose metabolism of *Brugia pahangi* and *Dipetalomena viteae* by nuclear magnetic resonance spectroscopy // Ibid. 1986. Vol. 19, N 2. P. 171—182.
 60. Powell J. W., Stables J. N., Watt R. A. An NMR study on the effect of glucose availability on carbohydrate metabolism in *Dipetalomena viteae* and *Brugia pahangi* // Ibid. 1986. N 3. P. 265—272.
 61. Ramp Th., Köhler P. Glucose and pyruvate catabolism in *Litomosoides carinii* // Parasitology. 1984. Vol. 89. P. 229—244.
 62. Reeves R. E., Warren L. C., Susskind B., Lo H. An energy conserving pyruvate-to-acetate pathway in *Entamoeba histolytica* // J. Biol. Chem. 1977. Vol. 252. P. 726—731.
 63. Riouz A., Komuniecki R. 2-Methylvalerate formation in mitochondria of *Ascaris suum* and its relationship to anaerobic energy generation // J. Comp. Physiol. B. 1984. Vol. 154. P. 349—354.
 64. Sato M., Yamada K., Ozawa H. Rhodoquinone specificity in the reactivation of succin-oxidase activity of autone extracted *Ascaris* mitochondria // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1972. Vol. 46. P. 578—582.
 65. Savel J. Recherches sur le métabolisme glucidique du nématode parasite *Ascaris lumbricoides*: Thèse. P., 1968.
 66. Saz H. J., Pietrzak S. M. Phosphorylation associated with succinate decarboxylation to propionate in *Ascaris* mitochondria // Arch. Biochem. and Biophys. 1980. Vol. 202. P. 388—395.
 67. Siddiqui J., Siddiqui A. H., Toh T., Matsumoto T. Characterization of sterols of three digenetic trematodes of buffalo // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 15. P. 143—148.
 68. Soprunov F. F. Biochemie der Helminthen. I: Die Energiaushalt der Helminthen. Jena: Fischer, 1978. 149 S. (Parasitol. Schrift., Bd. 23.)
 69. Suarez de Mata Z., Zarranz M. E., Lizardo R., Saz H. J. α -Methylaceto-acetyl-coenzyme A reductase from *Ascaris* muscle: Purification and properties // Arch. Biochem. and Biophys. 1983. Vol. 226. P. 84—93.
 70. Urbina J. A., Crespo A. Regulation of energy in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. I: Hexokinase and phosphofructokinase // Ibid. P. 225—240.
 71. Urbina J. A., Azavache V. Regulation of energy metabolism in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. II: NAD-dependent glutamate dehydrogenase // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 11. P. 241—256.
 72. Voorheis H. P. Fatty acid uptake by blood-stream forms of *Trypanosome brucei* and other species of kinetoplastida // Ibid. 1980. Vol. 1. P. 177—186.
 73. Vykhrestyuk N. P., Yarygina G. V. Preliminary studies of lipids of the trematodes

- Eurytrema pancreaticum*, *Calicophoron erschowi* and the turbellarian *Penecurva sibirica* // Ibid. 1982. Vol. 5. P. 221—229.
74. Ziberstein D., Dwyer D. M. Glucose transport in *Leishmania donovani* promastigotes // Ibid. 1984. Vol. 12. P. 327—336.

ИЗМЕНЕНИЯ ПУТЕЙ ОБМЕНА НА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫХ СТАДИЯХ ЦИКЛА РАЗВИТИЯ ЭНДОПАРАЗИТОВ

В главах «Обмен белков и аминокислот» и «Биоэнергетика эндопаразитов» приводились примеры изменения активности отдельных ферментов, в частности гликолиза, цикла трикарбоновых кислот и β -окисления жирных кислот при переходе от кровяных к культуральным формам дигенетических трипаносоматид. Изменение путей обмена на последовательных стадиях цикла развития — характерная особенность почти всех изученных эндопаразитов, на ней следует остановиться подробнее и рассмотреть на отдельных примерах адаптивное значение этого интересного явления.

ИЗМЕНЕНИЯ ОБМЕНА У ВОЗБУДИТЕЛЯ АМЕРИКАНСКОГО КОЖНОГО ЛЕЙШМАНИОЗА *L. m. MEXICANA*

Американский кожный лейшманиоз — природноочаговая болезнь, которая передается от мелких лесных грызунов (природный резервуар) человеку через укус флеботомусов. Биохимические исследования затруднялись сложностью получения достаточных количеств жизнеспособных амастигот без примесей разрушенных клеток хозяина, и лишь в последнее время получены чистые жизнеспособные амастиготы. Что касается промастигот — первой стадии развития возбудителя в пере-

Т а б л и ц а 62

Особенности дыхания амастигот и промастигот
L. m. mexicana, по [10] (сокращенный вариант)

Особенности дыхания	Амастиготы	Промастиготы
Потребление O_2 , нмоль/мин на 10^8 клеток	2,75	14,8
Потребление O_2 , нмоль/мин на 1 мг белка	20,7	27,9
Торможение, %		
цианидом (1 мМ)	70	80
азидом (50 мМ)	70	70
антимизином А (0,5 мМ)	91	97
амиталом (10 мМ)	52	90
ротеноном (1 мМ)	0	0
малонатом (10 мМ)	50	29

П р и м е ч а н и е. Потребление O_2 промастиготами возрастает в семь раз за 4 ч в присутствии глюкозы.

Таблица 63

Влияние разных соединений на дыхание амастигот
и их превращение в промастиготы,
по [10] (сокращенный вариант)

Добавка	Потребление кислорода		% амастигот, превратившихся в промастиготы
	исходное	через 48 ч	
Глюкоза (10 мМ)	7	40	11
Пролин (10 мМ)	1	30	4
Смесь аминокислот (10 мМ)	—	21	3
Сыворотка новорожденного теленка (10%)	41	411	50
Смесь жирных кислот (10 мМ)	—	210	32
Триацилглицериды (10 мМ)	—	8	10

Примечание. В полной среде Игла добавление сыворотки новорожденного теленка увеличивает в десять раз дыхание и превращает 86% амастигот в промастиготы.

носчике, то их удастся получить довольно просто в аксенических культурах. У промастигот имеются митохондрии с хорошо выраженными кристами, активный трикарбоновый цикл, цитохромная цепочка переноса электронов, работают глиоксалазный цикл и пентозофосфатный путь, имеются системы активного транспорта гексоз и аминокислот через внешнюю мембрану. Приводим в табл. 62 и 63 конкретные данные об изменении обмена при переходе от амастигот к промастиготам.

Как видно из приведенных таблиц, в случае *L. m. mexicana* обе формы — внутриклеточные амастиготы и промастиготы в переносчике — потребляют кислород и имеют сходные цепочки цитохромов. Надо, однако, учесть, что опыты проведены *in vitro*, в условиях, далеких от естественных условий внутриклеточной среды, и поэтому трудно сказать, активны ли аэробные пути амастигот внутри клетки хозяина или их активация происходит при выделении и предшествует переходу в промастиготы. Важно отметить, что смена стадий сопровождается быстрым нарастанием активности аэробного разложения глюкозы и что добавление в культуральную среду некоторых компонентов (пока невыясненных) служит сигналом к превращению в промастиготы.

ИЗМЕНЕНИЯ ОБМЕНА У ВОЗБУДИТЕЛЯ АФРИКАНСКОГО ТРИПАНОСОМОЗА ДИКИХ ЖИВОТНЫХ *TRYPANOSOMA BRUCEI*

Цикл развития паразита происходит в двух средах: в крови позвоночного хозяина и в переносчике — мухе *Glossina morsitans*. Кровяные формы трипаносом выделяют в нужном количестве из зараженных крыс, первую стадию развития паразита в насекомых — проциклические трипомастиготы — получают из культуры на полусинтетической среде. Из всех представителей сем. *Trypanosomatidae* вид *T. brucei* наиболее хорошо изучен. Сравнение путей обмена у кровяных форм и проциклических трипомастигот дает представление о тех перестройках метаболизма, которые происходят у эндопаразита на последовательных стадиях

Таблица 64

Активность ферментов (в мкмоль/мин/мг белка)
и содержание фосфолипидов в гликомах (в нмоль/мг белка)
T. brucei, по [11] (сокращенный вариант)

Показатель	Гликомы кровяных форм	Гликомы процикли- ческих трипомастигот
Ферменты		
Гексокиназа	8,16	0,55
Ф-глюкоизомераза	10,32	1,39
Ф-фруктокиназа	6,63	1,67
Альдолазафруктозо-ФФ	1,70	0,06
Триозо-Ф-изомераза	11,20	10,6
Глицеро-3Ф-дегидрогеназа	3,50	3,47
Глицеральдегид-Ф-дегидрогеназа	2,50	0,31
Ф-глицераткиназа	7,00	0,86
Глицеролкиназа	14,3	15,9
Аденилаткиназа	0,063	0,32
Малатдегидрогеназа	0,032	3,02
Ф-энолпируваткарбоксикиназа	0,232	2,40
Фосфолипиды		
Всего, нмоль/мг белка	180	115
Сфингомиелин, %	Нет	Нет
Фосфатидилхолин, %	61,2	68
Фосфатидилсерин, %	6,6	Нет
Фосфатидилинозитол, %	19,5	»
Фосфатидилэтаноламин, %	12,7	32
Кардиолипид, %	Нет	Нет

цикла развития. Ранее уже указывалось, что у всех *Trypanosomatidae* имеется особенность, которая отличает их от всех других биохимически изученных эукариотов: ферменты расщепления глюкозы не растворены в цитоплазме, а собраны вместе с некоторыми другими ферментами в структурированной внутриклеточной органелле — гликоме. Если говорить об энергетике трипаносоматид, то можно сказать, что у этих удивительных кровепаразитов морфологически обособлены и противостоят друг другу две субклеточные структуры: анаэробная гликома и аэробная митохондрия. Обе претендуют на руководство обменом, и «смена власти» происходит при смене среды обитания.

Энергетический обмен удлинённых кровяных форм *T. brucei* полностью зависит от гликомы, единственным источником энергии является протекающий в них анаэробный гликолиз. В округлых формах паразита пробуждается активность митохондрий, в проциклических трипомастиготах и на стадиях развития в переносчике обмен переключен на митохондрии: работает цикл Кребса, β -окисление жирных кислот, активны цепочка переноса электронов и сопряженное фосфорилирование. Смена путей обмена сопровождается морфологическими изменениями: у кровяных форм преобладают гликомы (более 400 гликом диаметром 0,3 мкм, на долю которых приходится 9% белка клетки), у проциклических трипомастигот увеличиваются митохондрии, относительный объем которых возрастает с 5 до 25% (табл. 64).

ИЗМЕНЕНИЕ ОБМЕНА У ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МАЛЯРИИ

Морфологические изменения внутриклеточных органелл, перестройки химического строения и активности путей обмена в течение жизненного цикла типичны для трипаносом, лейшманий и критидий. Они характерны для всех дигенетических кровепаразитов, независимо от отсутствия или наличия у них гликосом. Они хорошо изучены и у возбудителей малярии, половое размножение которых проходит в комаре-переносчике, а бесполое — в эритроцитах позвоночного хозяина. Бесполое размножение внутриэритроцитарных форм плазмодиев (шизогония) подробно изучено биохимически благодаря разработке методов культивирования возбудителя тропической малярии *in vitro* и синхронизации развития плазмодия. Прослежена динамика показателей нуклеинового, белкового и энергетического обмена в процессе шизогонии [1, 8, 9, 18], а также в крови обезьяны Rhesus при синхронно развивающейся паразитемии (табл. 65).

Изменения содержания пуриновых нуклеотидов, нуклеиновых кислот, отношения АТФ/АДФ + АМФ и энергетического заряда в процессе шизогонии возбудителя малярии представляют большой интерес, поскольку клетка-хозяин (эритроцит) лишена ядра и митохондрий. Кроме того, отметим, что размеры паразита близки к размерам клетки-хозяина, а обмен паразита протекает значительно интенсивней обмена эритроцита [2, 3, 4, 8].

Представление об относительных скоростях гликолиза эритроцитарных стадий возбудителей малярии и бабезиоза и незараженных эритроцитов дают следующие данные, полученные методом ядерной парамагнитной спектроскопии [13]. Потребление глюкозы (в мкмоль/клетка/мин) показано ниже:

	Нормальный эритроцит	Инвазированный эритроцит	T°
<i>Babesia rodhaini</i>	$5 \cdot 10^{-12}$	$50 \cdot 10^{-12}$	37
<i>B. microti</i>	$3 \cdot 10^{-12}$	$29 \cdot 10^{-12}$	35
<i>Plasmodium berghei</i>	$2 \cdot 10^{-12}$	$60 \cdot 10^{-12}$	25
<i>P. knowlesi</i>	$2,8 \cdot 10^{-12}$	$140 \cdot 10^{-12}$	38

Данные, полученные в нашей лаборатории на культурах возбудителей тропической малярии и грызунов, также показали, что гликолиз плазмодия протекает в 30—40 раз активнее гликолиза самого эритроцита. Несмотря на большое различие в скоростях гликолиза, инвазированный эритроцит длительно поддерживает в пределах нормы уровень внутриэритроцитарного АТФ и энергетический заряд. Получены следующие значения энергетического заряда в процессе синхронизированного развития *P. lophurae*: до 20 ч шизогонии — 0,93, через 30 ч — 0,83, в момент распада эритроцита и выхода мерозоитов — 0,69. В тех же опытах показано, что созревание трофозонта в шизонт сопровождается увеличением содержания ДНК с 0,36 до $1,7 \cdot 10^{-16}$ моль на клетку, и РНК — с 2,4 до 8,1 моль на клетку [19].

К сожалению, энергетический обмен половых стадий развития возбудителей малярии в переносчике мало изучен, и это не позволяет дать общую картину изменения путей обмена на последовательных этапах жизненного цикла.

Таблица 65

Пуриновые нуклеотиды в крови обезьяны
при синхронном развитии *P. knowlesi*
(в мкмоль/мл эритроцитов)

Нуклеотид	В норме	«Зрелые» кольца	Трофозонты	После лизиса
АМФ	0,03	0,18	0,15	0,09
АДФ	0,33	0,38	0,41	0,37
АТФ	1,43	1,42	0,60	0,54
ГМФ	—	0,01	0,02	0,02
ГДФ	0,04	0,04	0,04	0,04
ГТФ	0,07	0,11	0,06	0,07
УМФ	—	0,04	0,04	0,01
УДФ	0,06	0,06	0,02	0,01
УТФ	0,02	0,03	0,02	0,01

ИЗМЕНЕНИЯ ОБМЕНА У ГЕЛЬМИНТОВ

У эндопаразитических гельминтов. изменения путей обмена на последовательных стадиях цикла изучены не менее подробно, чем у дигенетических кровепаразитов. Четко доказано, что при вылуплении из яйца и развитии молодых фасциол (*Fasciola hepatica*) аэробные пути энергетического обмена сменяются анаэробными. В табл. 66, приведенной по [17], показано, как падает участие цикла Кребса и тканевого дыхания и возрастает доля анаэробных ферментаций в синтезе АТФ в течение первых 24 дней развития молодой фасциолы.

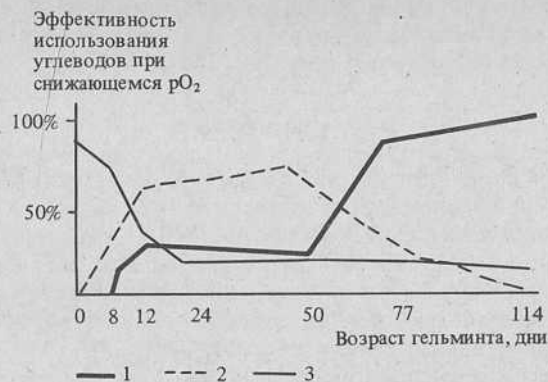
Дальнейшее переключение путей энергетического обмена у фасциолы, развивающейся в желчных путях хозяина, демонстрирует рис. 28.

Те же закономерности характерны для молодых шистосомул *Schistosoma mansoni* [16]. В течение первых 3 ч шистосомулы разлагают глюкозу до воды и углекислоты и их дыхание почти полностью подавляется цианидами. Однако уже через 24 ч резко снижается активность аэробного пути окисления глюкозы, падает чувствительность дыхания к цианиду, растет активность молочнокислого брожения: паразит переключает энергетический обмен на анаэробные пути. Добавление пуромидина в среду не влияет на смену путей обмена, что, видимо, указывает

Таблица 66

Участие аэробных и анаэробных путей в синтезе АТФ
у молодой фасциолы, по [17]

Возраст фасциол	Рассчитанное количество синтезированного АТФ, нмоль/час/мг белка		
	Аэробно через цикл Кребса	Аэробный гликолиз (синтез ацетата)	Анаэробная дис- мутация с образова- нием пропионата
В момент вылупления	1740 (97%)	56 (3%)	0
На 6-е сутки	1317 (81%)	308 (19%)	0
На 12-е »	1323 (48%)	1138 (41%)	292 (11%)
На 24-е »	658 (17%)	2506 (64%)	740 (19%)



Р и с. 28. Смена путей энергетического обмена у развивающейся фасциолы, по [12]

1 — анаэробные поражения; 2 — аэробное уксуснокислое брожение; 3 — полное окисление глюкозы



Р и с. 29. Смена энергетических путей при развитии яиц аскарид, по [6]

1 — фосфоэнолпируваткарбоксикиназа; 2 — фруктозо-1,6-дифосфатаза; 3 — малатсинтетаза; 4 — изоцитратлиаза; 5 — линия вокруг заштрихованной зоны показывает появление и прекращение глюконеогенеза из высших жирных кислот

на то, что ферменты как аэробных, так и анаэробных путей имеются с самых первых часов, но их активность находится под контролем пока неизученных механизмов, быстро реагирующих на сигналы извне.

Еще более интересны и необычны смены путей энергетического обмена у личинок, развивающихся в яйцах аскарид. Сперва потребляются резервы липидов: гидролизуются триглицериды, и жирные кислоты сгорают в цикле β -окисления и цикле трикарбоновых кислот, причем до 72% углерода жирных кислот выделяется в виде CO_2 . Однако после десятого дня развития личинки повышается активность ферментов глиоксалатного пути — изоцитратлиазы, малатсинтетазы и особенно фосфоэнолпируваткарбоксикиназы — и высшие жирные кислоты после распада до активных ацетиллов становятся исходным материалом для биосинтеза трегалозы и гликогена. Заметим, что превращение высших жирных кислот

в гликоген имеет место у растений, но крайне необычно для эукариотов. Гликоген, образованный из высших жирных кислот, используется затем как энергетический материал (рис. 29) [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменение путей обмена на последовательных стадиях жизненного цикла является характерной особенностью всех эндопаразитов с более или менее сложными циклами развития [5, 15,]. Биохимиков и паразитологов интересуют особенности путей обмена и их закономерная смена при переходе эндопаразитов от одной среды обитания к другой. Однако описанные явления, несомненно, имеют большой общепаразитологический смысл и требуют внимательного рассмотрения.

Прежде всего возникает вопрос о сбалансированности окислительных и восстановительных реакций и поддержании окислительно-восстановительного потенциала при переходе от анаэробных к аэробным ферментациям.

Приводим баланс восстановительных эквивалентов при основных путях анаэробного разложения глюкозы у эндопаразитов (рис. 30).

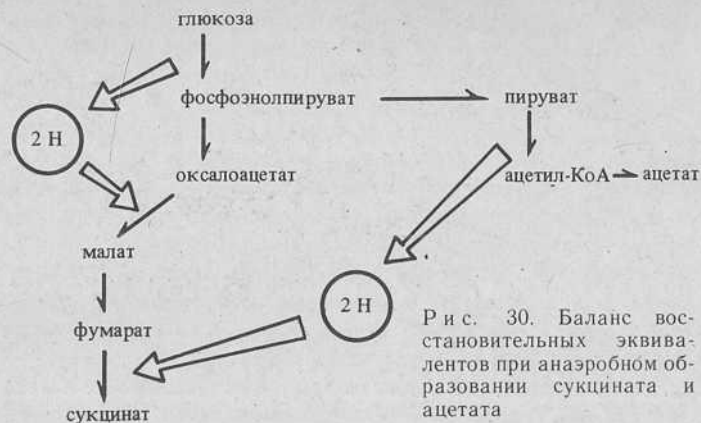
Пути гликолиза могут усложняться без нарушения равновесия окислительно-восстановительного баланса (рис. 31).

Возможно и дальнейшее усложнение без нарушения баланса (рис. 32).

Эта схема, приведенная с небольшими изменениями [14], интересна тем, что показывает, как компоненты цикла Кребса замыкаются в единую схему еще в анаэробных условиях, причем константы равновесия реакций таковы, что и в дикарбоновом, и в трикарбоновом отрезках цикла превращения идут в сторону синтеза сукцинил-СoA и пропионата. На схеме представлен конечный путь к пропанолу, но можно обозначить вместо него, чаще встречаемый путь синтеза летучих жирных кислот из пропионата и ацетата, который также нуждается в восстановительных эквивалентах.

Легко представить себе, что подключение к этой схеме цепочки тканевого дыхания с переносом восстановительных эквивалентов на кислород изменит в обратную сторону реакции дикарбонового отрезка, и цикл начнет работать по привычной аэробной схеме, поглощая активные ацетаты и поставляя восстановительные эквиваленты в цепочку тканевого дыхания. Небольшая затрата энергии, связанная с работой в обратную сторону дикарбоновых компонентов, перекрывается с лихвой образованием АТФ при сопряженном фосфорилировании.

Второй вопрос, который невольно возникает при рассмотрении циклических вариаций энергетических путей обмена эндопаразитов,— это вопрос об адаптивном значении этих изменений. Кажется естественным предположить, что в процессе длительной адаптации к эндопаразитизму происходило становление сложного цикла развития и эндопаразитические простейшие и гельминты приобрели способность перестраивать пути метаболизма с аэробных на анаэробные и обратно в зависимости от изменения окислительного потенциала среды. Однако факты противостоят такому представлению. Конечно, гельминты кишечника живут в практически бескислородной среде и имеют преимущественно анаэроб-



ный обмен, а гельминты легких — преимущественно аэробный метаболизм, но если рассмотреть смену путей обмена в цикле развития кровепаразитов, мы обнаружим странное, на первый взгляд непонятное явление: в крови хозяина, где имеется высокое значение pO_2 и практически неисчерпаемый запас кислорода, и простейшие (трипаносомы), и гельминты (филярии) удовлетворяют свои энергетические потребности за счет гликолиза, т. е. анаэробным путем, тогда как в кишечнике переносчика, где кислорода намного меньше, они переходят на аэробные пути обмена. Мы уже отмечали это противоречие. Оно снимается, если вспомнить, что биохимическая эволюция определяется не появлением акцептора восстановительных эквивалентов во внешней среде, т. е. повышением окислительного потенциала и pO_2 , а постепенным истощением молекул с высокой внутренней энергией, как глюкоза. Пока гетеротрофы располагают избытком углеводов, они не переходят на аэробные пути обмена даже при наличии свободного кислорода в среде. Эта особенность древнейшей биохимической эволюции проявляется у кровяных парази-

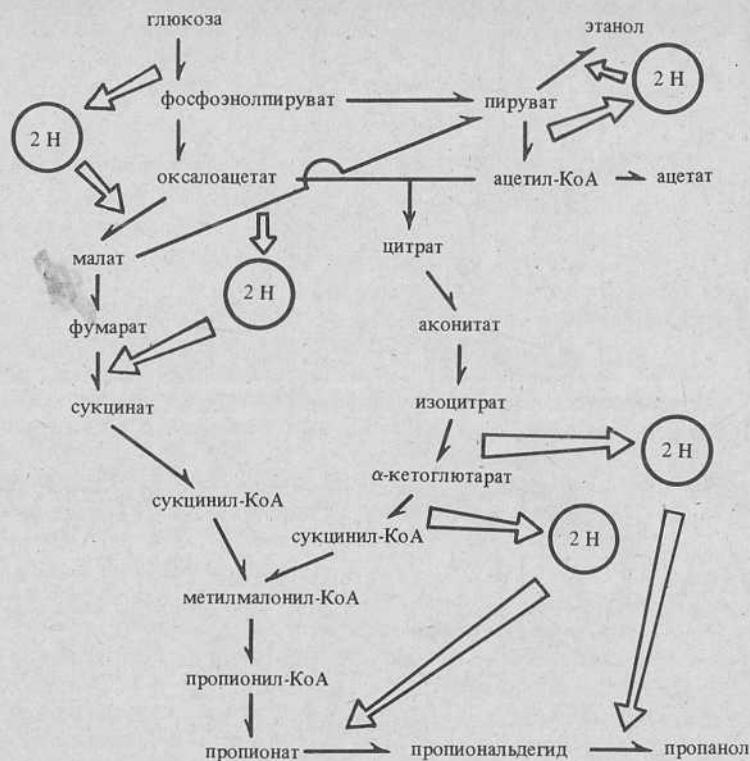


Рис. 32. Баланс восстановительных эквивалентов при образовании пропионата, ацетата и этанола

тов, которые переходят к аэробному метаболизму только тогда, когда не хватает глюкозы в среде (как, например, в кишечнике переносчика).

Третий вопрос, связанный с жизненными циклами эндопаразитов, это вопрос о механизмах, регулирующих перестройку обмена на последовательных стадиях цикла развития. Поражает скорость, с которой изменяются пути обмена при смене среды обитания, например при проникновении инвазионной личинки анкилостомы через кожу в тело хозяина или при попадании кровяной формы трипаномы в кишечник переносчика. Достаточно нескольких часов, чтобы приобрели активность не действовавшие до этого пути обмена и целые органеллы, и в то же время затормозились ранее активные метаболические цепочки. Известно, что это объясняется заблаговременным биосинтезом ферментов до достижения стадии, на которой эти ферменты понадобятся. Заготовленный впрок путь обмена неактивен до тех пор, пока не начнется биосинтез ключевого, лимитирующего фермента. Этот синтез запускается в нужный момент, например, когда церкарии трематод или личинки нематод, блуждавшие до этого во внешней среде, встречают своего хозяина и активно внедряются в него. В главе «Геном эндопаразитов» отмечалось, что мы

пока не знаем, какие сигналы извне воспринимаются эндопаразитом, какие «триггерные» механизмы запускают считывание и трансляцию информации с нужных генов, но приходится констатировать, что эти механизмы, жизненно важные для эндопаразитов, срабатывают вполне

Выше отмечалось, что у высокостоящих животных онтогенетическое развитие проходит ускоренно, под защитой, и полного расцвета организм достигает на половозрелой стадии. Напротив, у эндопаразитов онтогенез составляет большую часть жизни, состоит из последовательных, активных и самостоятельных фаз развития со сменой сред обитания. Напомним, что существование природного очага трансмиссивной паразитарной болезни объясняется не столько тем, что в экологической нише или на данной территории сосуществуют паразит, переносчик, промежуточный и дефинитивный хозяин, сколько тем, что в геноме эндопаразита — простейшего или гельминта — записан как бы «негатив» его циркуляции в природном очаге. Это означает, что, согласно разработанному в процессе длительной эволюции «сценарию», в определенном порядке и с опережением событий жизненного цикла осуществляются потенциальные возможности, запрограммированные в геноме, и происходят метаболические перестройки в ответ на сигналы извне, которые позволяют эндопаразиту успешно завершить свой жизненный цикл. Циркуляция эндопаразита в природном очаге — пример тонко и сложно организованной системы, в которой «опережающий рефлекс» играет решающую роль.

Последний и, вероятно, наиболее сложный вопрос — это вопрос о происхождении многокомпонентной и многоярусной — от генома до природного очага — системы хозяин—эндопаразит—переносчик. Могла ли возникнуть такая система в результате классической эволюции, методом случайных проб и отбора? Это маловероятно: темпы эволюции генома и кодируемых им белковых молекул, морфологической дифференциации таксонов и становления природных очагов паразитов крайне различны. Возьмем, например, эволюцию генов, кодирующих глобин. Анализ замен в первичной структуре позволяет рассчитать, что разделение миоглобина и гемоглобина произошло примерно миллиард лет назад, выделение α -гемоглобинов — 550 млн. лет назад, γ -гемоглобинов — 150 млн. лет назад и, наконец, β -гемоглобинов — десятки миллионов лет назад [7]. Сочленами в очагах природных паразитарных болезней являются, с одной стороны, древние организмы — простейшие и низшие многоклеточные, с другой — позвоночные, в том числе млекопитающие, с геологической точки зрения появившиеся совсем недавно. Мало вероятно, чтобы за короткий срок могла сформироваться и закрепиться в геноме эндопаразита сложная информация, необходимая для прохождения цикла развития. Математический расчет показывает, что вероятность возникновения цикла методом проб и ошибок при случайных встречах будущих сочленов экосистемы практически равна нулю.

Необходимо более приемлемое объяснение, учитывающее морфофункциональные особенности и эволюционное прошлое тех древнейших таксонов, к которым относятся эндопаразиты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гринберг Л. Н. Система малярийный паразит — эритроцит: биохимические основы и действие антималярийных препаратов: Дис. д-ра биол. наук. М., 1984.
2. Гринберг Л. Н., Нуштаев Д. А. Дыхательные функции крови при малярии. Сообщ. I: Содержание гемоглобина и кислорода при экспериментальной малярии // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1979. Т. 2. С. 29—33.
3. Гринберг Л. Н., Сигалевич П. А., Ле Нгуен Бинь. Изучение некоторых ферментов эритроцитов на различных этапах шизогонии *Plasmodium berghei* // Там же. 1981. Т. 6. С. 35—40.
4. Нуштаев Д. А., Гринберг Л. Н. Дыхательные функции крови при малярии. Сообщ. II: Кислотно-щелочной баланс крови при экспериментальной малярии // Там же. 1979. Т. 2. С. 33—39.
5. Сопрунов Ф. Ф. Биохимические аспекты возникновения паразитизма у червей // Паразиты и паразитозы человека и животных. Киев: Наук. думка, 1982. С. 47—56.
6. Barrett J., Ward C. W. The glyoxalate cycle and the conversion of triglycerides to carbohydrates in developing eggs of *Ascaris lumbricoides* // Comp. Biochem. and Physiol. 1970. Vol. 35. P. 577—586.
7. Florkin M. Respiratory proteins and oxygen transport // Chemical zoology. Vol. 4 / Ed. M. Florkin, B. T. Sheer. N. Y.: Acad. press, 1969. P. 111—134.
8. Grinberg L. N., Soprunov F. F. Metabolism of erythrocyte infected with malaria parasite and the action of antimalarial drugs // Biomed. et biochim. acta. 1983. Vol. 42, N 11/12 P. 317—321.
9. Gritzmacher C. A., Reese R. T. Protein and nucleic acid synthesis during synchronized growth of *Plasmodium falciparum* // J. Bacteriol. 1984. Vol. 160, № 3. P. 1165—1167.
10. Hart D. T., Wickerman K., Coombs G. H. Respiration of *Leishmania mexicana* amastigotes and promastigotes // Ibid. 1981. Vol. 4. P. 39—52.
11. Hart D. T., Misset O., Edwards S. W., Oppendoes F. R. A comparison of the glycosomes (microbodies) isolated from *Trypanosoma brucei* blood-stream form and cultured procyclic trypomastigotes // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 12. P. 25—36.
12. Kohler P. The strategies of energy conservation in helminths // Ibid. 1985. Vol. 17. P. 1—18.
13. Mackenzie N. E., Johnson J., Burton G. et al. ¹³C NMR studies of glycolysis in intra- and extraerythrocytic *Babesia microti* // Ibid. 1984. Vol. 13. P. 13—20.
14. Saugster N. C., Prichard R. K. The contribution of a partial tricarboxylic acid cycle to volatile end-products in triabendazole-resistant and susceptible *Trichostrongylus colubriformis* // Ibid. 1985. Vol. 14. P. 261—274.
15. Szat H. J. Energy metabolism of parasitic helminths: adaptation to parasitism // Amer. Rev. Physiol. 1981. Vol. 43. P. 323—341.
16. Thompson D. P., Morrison D. D., Pax R. A., Bennet J. L. Changes in glucose metabolism and cyanide sensitivity in *Schistosoma mansoni* during development // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 13. P. 39—51.
17. Tielsen A. G. M., Van den Henvel J. M., Van den Berg S. G. Changes in energy metabolism in juvenile *Fasciola hepatica* during its development in the liver parenchyma // Ibid. 1982. Vol. 6. P. 277—286.
18. Waki S., Yonome I., Suzuki M. X-ray sensitivity and DNA synthesis in synchronous culture of *Plasmodium falciparum* // Ztschr. Parasitenk. 1985. Bd. 71, H. 2. S. 213—218.
19. Yamada K. A., Sherman I. W. *Plasmodium lophurae*: malaria induced nucleotide changes in duckling (*Anas domestica*) erythrocytes // Mol. and Biochem. Parasitol. 1980. Vol. 1. P. 187—198.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ПАРАЗИТА И ХОЗЯИНА

Взаимоотношения паразита и хозяина многогранны и определяются рядом филогенетических и экологических факторов. В течение длительного периода явление эндопаразитизма рассматривалось преимущественно с точки зрения морфофункциональных адаптивных изменений эндопаразита, которые могут носить как прогрессивный, так и регрессивный характер. Эндопаразитов сравнивали обычно с близкими свободноживущими видами, но, вероятно, правильнее сопоставлять эндопаразитические и свободноживущие виды с тем примитивным предком, от которого произошли и те и другие.

Внутренние регуляторные механизмы паразитарных систем привлекали к себе мало внимания, хотя они, видимо, играют значительную роль, особенно когда возбудителями являются эукариоты. В последнее время, однако, уделяется все большее внимание генетической изменчивости сочленов паразитарных систем и разрабатываются молекулярно-генетические интерпретации популяционных отношений хозяина и паразита. В теории саморегуляции паразитарных систем акад. АМН В. Д. Белякова, которая рассматривает в основном системы с паразитами-прокариотами, но представляет общий интерес, выдвигается четыре положения, раскрывающие общие механизмы регуляции, обеспечивающие жизнедеятельность паразита и хозяина при их взаимоотношениях на разных уровнях организации. Мы приведем эти положения, чтобы на их фоне подчеркнуть различия внутренних регуляторных механизмов прокариотических и эукариотических паразитарных систем.

Регуляции обеспечиваются прежде всего за счет генотипической и фенотипической неоднородности (гетерогенности) взаимодействующих популяций паразита и хозяина. Наибольшее значение имеют: у паразита — признаки вирулентности и антигенности, у хозяина — признаки восприимчивости к паразиту, а также способности вырабатывать и сохранять иммунитет. Вторым положением, раскрывающим общие регуляторные механизмы во взаимоотношениях элементов паразитарных систем, является представление о динамической изменчивости паразита и хозяина. В ходе взаимодействия наблюдается перераспределение степени и характера гетерогенности популяций по признакам отношения друг к другу. Эта изменчивость носит упорядоченный характер. Соответственно третье положение теории постулирует фазность изменений во взаимоотношениях паразита и хозяина, циклическую смену фаз резервации паразита и его активного распространения в популяции хозяина. Четвертое положение теории раскрывает диалектическую взаимосвязь внутренних и внешних регуляторных механизмов, отражает регулируемую роль социальных и природных условий в фазовых изменениях взаимоотношений паразита и хозяина.

Конкретная реализация общих регуляторных механизмов зависит от особенностей паразитарных систем разных классов.

Для патогенного микроба или вируса организм хозяина, в котором

он развивается, является просто средой обитания, более или менее благоприятной, наподобие любой неживой органической среды. Если защитные системы хозяина не останавливают размножение активной формы микроба или вируса, это размножение продолжается до тех пор, пока не будет истощена среда, что, как правило, ведет к гибели хозяина. Если защитные системы хозяина достаточно эффективны, они останавливают размножение возбудителя, который или погибает, или переходит в латентную форму, дожидаясь благоприятных условий для нового быстрого размножения в прежнем активном состоянии. В целом популяции хозяина и возбудителя составляют единую незатухающую систему, которая, как маятник, колеблется между двумя крайними состояниями: «неиммунная популяция хозяина — активная форма микроорганизма» и «иммунная популяция хозяина — неактивная форма возбудителя».

В саморегуляции эпидемического процесса роли хозяина и микроба-возбудителя не равнозначны: хозяин приобретает иммунитет индивидуально и активно, теряет его по прошествии многих лет или при смерти. Смена поколений играет большую роль в снижении иммунитета популяций хозяина и определяет период колебания системы в целом. Геном хозяина стабилен (за исключением обычных мутаций) и не претерпевает циклических изменений. Что касается перехода прокариота-возбудителя из активного и покоящегося состояния и обратно, то здесь основную роль, видимо, играет перераспределение генетической информации в коллективном генофонде возбудителя за счет мобильных элементов и перестроек, репрессий и дерепрессий генетических структур [6, 7]. Трудно пока сказать, что играет основную роль в переходе возбудителя от состояния покоя к активному состоянию и обратно: отбор под давлением колебаний иммуностатуса популяции хозяина или эволюционно закрепленные генетические механизмы переключения экспрессии генов. Разрабатываются концепции направленной изменчивости паразита под влиянием среды обитания [13, 34, 62], что может объяснить как адаптацию в системе паразит — хозяин, так и особенности эволюции этой системы [2, 5, 22].

Эпидпроцесс при паразитарных трансмиссивных инвазиях подчиняется общим законам функционирования эпидпроцесса, однако имеются принципиальные различия, связанные с тем, что и хозяин, и паразит являются эукариотами, т. е. родственными с эволюционной точки зрения формами живой материи, с одинаковой структурой генетического аппарата и однородной информацией, хранимой в геноме (при бесконечном морфологическом разнообразии эукариотов не следует забывать, что основа — эукариотическая клетка — структурно и функционально однотипна независимо от уровня специализации).

При любой локализации (в кишечнике, желчных протоках, крови, тканях или внутри клеток) эндопаразиты контактируют с организмом хозяина через клеточную оболочку или кутикулу. В процессе эволюции внешняя мембрана эндопаразитических простейших и гельминтов приобрела целый набор молекулярных механизмов агрессии и защиты, очень точно подогнанных к оборонительным системам хозяина. Образно говоря, хозяин и паразит-эукариот проводят поединок по единым правилам и, несмотря на начальную взаимную агрессивность, находят путь к

компромиссу и сосуществованию, подсказанный родством генофондов. Саморегуляция эпидемического процесса при паразитарных трансмиссивных болезнях во многом основана на том, что в процессе онтогенетического развития эндопаразит последовательно раскрывает хранимую в геноме информацию. Опережающий рефлекс, который проявляется на уровне обобщенного генофонда паразитов-прокариотов при переходе от фазы латентности к фазе активности и обратно, отмечается у эндопаразитов-эукариотов на каждой последовательной стадии жизненного цикла. Что касается периодических колебаний вирулентности возбудителя при эндопаразитозах, то хорошим примером может служить появление высоковирулентного и полигостального варианта возбудителя зоонозного кожного лейшманиоза на подъеме волны эпизоотии среди больших песчанок в природном очаге. В это время (и только в это время) очаг опасен для человека, который заражается высоковирулентным вариантом. При снижении волны эпизоотии возбудитель становится маловирулентным и моногостальным и природный очаг перестает представлять опасность для человека до следующего подъема эпизоотической волны среди больших песчанок. При паразитозах иммунитет человека, видимо, не играет решающей роли в определении длительности периода циклических колебаний эпидпроцесса, потому что напряжение иммунитета, как правило, невелико, а паразит выработал ряд механизмов избегания специфического иммунного ответа. Но в ряде случаев, как показано далее, волнообразные колебания паразитемии при трипаномозах и малярии объясняются иммунными ответами хозяина на антигенную изменчивость возбудителя. При этом период колебаний короткий и взаимодействие происходит не между популяциями, а между популяцией возбудителя и индивидуальным хозяином.

Сами по себе вопросы популяционной паразитологии выходят за рамки данной монографии, но молекулярные механизмы, лежащие в основе эпидемического процесса при паразитозах, следует рассмотреть подробнее.

Строение поверхностного молекулярного слоя у эндопаразита определяется условиями среды, в которой он обитает, и более или менее тесным взаимодействием с защитными системами хозяина. У филогенетически далеких между собой, но обитающих в одной среде (кишечнике хозяина) *Lamblia intestinalis* и *Entamoeba histolytica* имеются свободные тиолы на поверхности пеликулы. Эти сульфгидрильные группы играют важную роль в развитии, в подвижности и прикреплении трофозоитов, поскольку *L. intestinalis* и *E. histolytica* погибают при культивировании в аксенических условиях в присутствии восстановителей (L-цистеина и аскорбиновой кислоты) и соединений, блокирующих тиолы [24]. Эндопаразиты кишечника менее подвержены действию иммунных систем хозяина, но должны противостоять действию пищеварительных ферментов. У гельминтов известен ряд защитных от протеолиза механизмов (выделение ингибиторов, муцина, устойчивость белков кутикулы к протеиназам и другие механизмы защиты) [9]. У них имеются и биохимические системы агрессии, как, например, выделение гиалуронидазы, облегчающей проникновение в ткани хозяина. К защитным адаптивным признакам следует отнести непрерывную смену внешнего слоя кутикулы:

белки, гликопротеиды, ферменты синтезируются в клетках, выстилающих внутреннюю поверхность кутикулы, после чего они переносятся в наружный слой тегумента. Так, развитие и созревание члеников *Hymenolepis diminuta* сопровождается непрерывным изменением строения и энзиматической активности поверхности кутикулы [56]. Примером адаптивного механизма агрессии могут служить повышенные синтез и выделение пролина печеночной двуусткой *Fasciola hepatica* во время ее миграции в желчные пути хозяина. В тот момент резко активируется биосинтез одного из ключевых ферментов (Δ' -пирролин-5-карбоксиредуктазы) и экскреция пролина возрастает в десятки раз за несколько часов. Это обеспечивает поддержание нужного окислительно-восстановительного потенциала [42], удаление азотистых соединений (орнитиновый цикл мочевины в это время неактивен) [19] и гиперплазию желчных протоков хозяина [16, 35].

Более интересные и яркие примеры «сражений на молекулярном уровне» между эндопаразитом и хозяином можно найти при рассмотрении паразитов, обитающих в тканях хозяина, где они непосредственно попадают под удар защитных, прежде всего иммунных, систем хозяина. Поединок протекает особенно драматично, когда эндопаразит (простейший или гельминт) развивается в крови хозяина.

В принципе методы нападения и защиты у всех эндопаразитов однотипны, паразиты стремятся: временно подавить иммунные системы хозяина, чтобы закрепиться и размножиться после проникновения в его организм; уйти из-под прицельного обстрела антителами; по возможности укрыться в тканях или внутри клеток хозяина.

Иммуносупрессивное действие эндопаразитов показано на примере многих видов — *Nippostrongylus brasiliensis*, *Nematospiroides dubius*, *Trichinella spiralis*, *P. falciparum* и др. [71, 72]. Иммунодепрессия проявляется как к гомо-, так и к гетерологическим антигенам, зависит от количества введенного инвазионного материала, от штамма эндопаразита и генетических особенностей хозяина [18]. Однако молекулярные механизмы явления не изучены.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ У ЭНДОПАРАЗИТОВ

Стремясь уйти от специфического иммунного ответа хозяина, эндопаразиты выработали ряд необычных и эффективных молекулярных механизмов:

1. Молекулярная мимикрия.

У нематод и трематод, обитающих в тканях и кровяном русле хозяина, — *Nippostrongylus brasiliensis*, *Nematospiroides dubius*, *Trichinella spiralis* и др., обнаружена способность избирательно поглощать белки и гликопротеиды хозяина и встраивать их в поверхностный слой кутикулы [48, 65]. Таким образом, паразит покрывает себя защитным слоем и «маскируется под хозяина». Подобное явление наблюдается и у *Plasmodium falciparum*.

2. Отторжение поверхностного слоя кутикулы.

Личинка *Toxosana canis* может без вреда для себя длительно нахо-

дится в среде, содержащей антитела к антигенным детерминантам, расположенным на поверхности ее кутикулы. Это при температуре в 37°. Если понизить температуру до 2° и тем самым затормозить биосинтезы, антитела взаимодействуют с кутикулой личинки, которая покрывается слоем специфических антител. При повышении температуры личинка постепенно освобождается от антител, которые сбрасываются с отторгаемым поверхностным слоем гликопротеидов [64]. Их место занимают новые молекулы, синтезированные во внутреннем слое кутикулы.

3. Синтез специфического белкового ингибитора макрофагов.

При болезни Шагаса показано, что иммунитет зависит не от наличия антител, а от активации макрофагов. Трипомастиготы *T. cruzi* не погибают, когда их фагоцитируют макрофаги: паразиты вызывают лизис стенок фагоцитарной вакуоли, проникают в цитоплазму и размножаются в ней. Иными словами, макрофаги являются средой размножения для трипомастигот. Но активированные макрофаги, полученные от хозяина, иммунизированного к *T. cruzi*, быстро убивают трипомастигот. С кровяными формами паразита дело обстоит сложнее: у них имеется белок в наружном слое кутикулы (мол. масса 90 тыс.), который специфически ингибирует реакцию фагоцитоза у макрофагов как неактивированных, так и активированных лимфокинами. После трипсинизации кровяные формы *T. cruzi* фагоцитируются и убиваются активированными макрофагами [55].

4. Синтез ферментов, защищающих от токсического воздействия макрофагов.

Макрофаги способны убивать эндопаразитов, значительно превышающих их по размерам благодаря выделению токсических радикалов, образующихся из H_2O_2 . Многие эндопаразиты (*S. mansoni* и др.) имеют в тканях повышенное содержание каталазы, играющей роль защитного фермента [41].

5. Антигенные вариации.

Явление описано у многих кровепаразитов (простейших и гельминтов), но подробно изучено у возбудителей африканского трипаномоза, прежде всего у *T. brucei*. Паразитемия при африканском трипаномозе развивается волнообразно: эффективный иммунный ответ хозяина приводит к гибели размножившихся трипаносом, но небольшая часть избегает гибели и дает начало новой волне паразитемии, причем выживают трипаносомы с изменившимися антигенными детерминантами. Следует новый специфический иммунный ответ хозяина, и цикл повторяется: выживает и дает начало следующей третьей волне паразитемии небольшое число трипаносом, успевших изменить структуру антигенов на внешней оболочке. Циклы могут повторяться десятки и сотни раз и болезнь принимает хроническое течение. Дуэль трипаносомы с хозяином может длиться практически бесконечно долго — у кровепаразита имеется в запасе более тысячи вариантов структуры поверхностного антигена. Механизмы этой необычной молекулярной дуэли изучены довольно подробно.

Поверхностный слой пеликулы кровяной формы *T. brucei* состоит из молекулы гликопротеида с мол. массой около 60 кД. Полипептидные

участки этого вариабельного гликопротеида (ВГП) являются эпитопами, и изменение структуры полипептидных отрезков ВГП определяет смену антигенных детерминантов. ВГП состоит из примерно 500 аминокислот, из них первые 20—30 составляют сигнальный пептид (для переноса ВГП через клеточную мембрану), следующие 360 являются собственно антигеном, затем следует участок из 120 аминокислот, который не меняет свою структуру при переключении генов, и, наконец, последние 20 аминокислотных остатков отщепляются от ВГП при созревании и заменяются олигосахаридом. Последний служит для прикрепления ВГП при помощи ковалентной связи к глицерофосфолипиду, который входит в состав бимолекулярного липидного слоя внешней мембраны. Ковалентная связь расщепляется специфическим энзимом, и это позволяет быстро сбросить поверхностный слой однотипных молекул ВГП.

Вариации структуры эпитопов ВГП генетически детерминированы, и каждому варианту ВГП соответствует свой ген. Поскольку одновременно синтезируется только один вариант ВГП, следует считать, что каждый раз активируется только один ген и его экспрессия контролируется на уровне транскрипции. Рестрикционный анализ, клонирование и определение последовательности нуклеотидов широко применяются при изучении генов, кодирующих варианты ВГП. Показано, что эти гены (5—10% ДНК) распределены неравномерно, часть — внутри, часть (до 50%) — на концах хромосом. Экспрессируются только гены, расположенные в теломерах, поэтому экспрессии гена предшествует, как правило, его транслокация к концу хромосомы, причем обычно перемещается не сам ген, а его копия после дупликации. Наличие в теломерах особого места считывания копий генов заставляет предполагать, что здесь расположен промотор транскрипции (который, однако, пока не обнаружен) и что здесь происходит смена перемещаемых копий генов каждый раз, когда эндопаразит меняет структуру ВГП. Описано три различных генетических механизма спонтанного переключения генов у кровяных форм трипаносом, но для паразитолога важно знать, что в геноме паразита заложена программа последовательной экспрессии генов, кодирующих ВГП, причем выявляются некоторые статистические закономерности или скорее вероятности проявления одних генов на начальных стадиях инвазии, других — на более поздних стадиях. Экспрессия некоторых генов происходит в определенной детерминированной последовательности [66].

Особенно интересно проследить, как ведет себя этот удивительный молекулярный защитный механизм на последовательных стадиях цикла развития. У кровяных форм он очень активен и смена структуры ВГП происходит через каждые 10^4 — 10^5 делений независимо от напряженности иммунного ответа хозяина. При попадании в организм мухи-переносчика блокируется экспрессия гена ВГП и подавление экспрессии сохраняется в течение всего развития паразита в переносчике. При новом попадании в кровь позвоночного хозяина происходит дерепрессия гена и считывание начинается с того именно гена, на котором была блокирована экспрессия в организме переносчика. Следовательно, метациклическая форма в слюне переносчика уже имеет молекулярные механизмы, которые потребуются на следующей стадии жизненного цикла. Отметим,

однако, одну любопытную особенность: у метациклической формы в отличие от кровяной возможна экспрессия только примерно 10—15 генов, кодирующих ВГП, их так и называют «метациклическими генами». Только у кровяной формы паразита в полной мере раскрываются возможности генетического механизма антигенных вариаций.

Об антигенных вариациях у трипаносом имеется большая литература как по частным вопросам [11, 17, 44, 47, 57, 73], так и в виде обзоров [21, 23].

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АГРЕССИИ У ЭНДОПАРАЗИТОВ

Эндопаразиты имеют эффективные системы внедрения в организм хозяина и преодоления биологических барьеров (кожи, слизистых, стенок сосудов, различных биологических мембран). Такие системы описаны у личинок анкилостомид и церкарий шистосом, проникающих через неповрежденную кожу человека, у промастиготов лейшманий и спорозонтов плазмодиев, проникающих через клеточные мембраны.

В качестве примера можно привести данные, полученные в последние годы о молекулярном механизме проникновения трипомастиготов *T. cruzi* в фибробласты хозяина. Основные работы, выполненные в Южной Америке [20, 30, 58, 59, 74], показали, что между мембраной паразита и клеткой имеют место сложные молекулярные взаимодействия в процессе узнавания, прикрепления и проникновения внутрь клетки. Обработка мембраны клетки лектинами снижает ее доступность для паразита, но добавление D-маннозы снимает ингибиторный эффект конканавалина А, что указывает на необходимость гликопротеинов на поверхности мембраны клетки. Специфическое ингибирование прикрепления паразита к клетке показал только N-ацетилглюкозамин, что позволяет предполагать, что на поверхности трипомастиготы имеется лектин, способный узнавать и связывать рецептор, содержащий ацетилглюкозамин, на мембране клетки. В дальнейшем оказалось, что для узнавания клетки-хозяина, прикрепления к ней и проникновения в нее трипомастиготы должны иметь на поверхности мембраны три различных, последовательно синтезируемых белка. Наконец было показано, что молодые трипомастиготы нуждаются в определенном промежутке времени для полного проявления своей способности к инвазии клеток хозяина. В течение «инкубационного» периода в трипомастиготе идет трансляция с ранее синтезированной иРНК, несущей информацию о гликопротеине, необходимом для прикрепления к клетке, а также происходит транскрипция информации с ДНК и синтез белков, необходимых для проникновения трипомастиготы через мембрану клетки. В сыворотке крови больных болезнью Шагаса содержатся специфические антитела к поверхностным гликопротеидам трипомастигот. В присутствии антитрипомастиготной сыворотки снижается способность кровепаразитов к проникновению в клетки. Нет сомнения, что дальнейшие исследования дадут более полную информацию о генетически обусловленном механизме молекулярной агрессии, позволяющем внедрение трипомастигот в клетки хозяина.

ОБЪЕДИНЕНИЕ ПАРАЗИТА И ХОЗЯИНА В ИНТЕГРИРОВАННУЮ БИОЛОГИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ

Приведенные выше примеры молекулярных механизмов, возникших в процессе эволюции паразитизма и обеспечивающих выживание паразита в организме хозяина, дают представление о сложности и разнообразии молекулярных взаимодействий в системе хозяин—паразит, но ничего не говорят о взаимной адаптации и возникновении интегрированной системы хозяин—паразит. Между тем даже поверхностное знакомство с эволюционной паразитологией показывает, что общая тенденция развития отношений паразита и хозяина проявляется в постепенном уравнивании взаимного воздействия, в становлении интегрированной системы паразит—хозяин и ее стабилизации. Это справедливо на всех стадиях жизненного цикла и на всех фазах онтогенетического развития эндопаразита: стабилизация систем переносчик — паразит, промежуточный хозяин — паразит, дефинитивный хозяин — паразит может быть более или менее совершенной, что зависит от древности встречи и образования пары, но в конечном счете, появление интегрированных биологических систем на каждой стадии цикла определяет стабильность самой паразитарной системы и реально существующих очагов [8, 28].

Хорошо изученный генетический механизм антигенной вариации у трипаносом является прекрасным примером взаимной адаптации и «проявления взаимной терпимости» (в эволюционном смысле) между эукариотами. Трипаномы делятся в крови хозяина каждые 6 ч, и без торможения их размножения неизбежна гибель хозяина, а следовательно, и паразита. Специфический иммунный ответ хозяина является, по существу, мощным фактором отбора для трипаносом. Из возможных ответов — подавление иммунной системы хозяина, уход во внутриклеточное пространство и др. — кровепаразит выбирает наиболее простой и эффективный способ: меняет структуру полипептидного антигена на поверхности кутикулы. Интересно то, что сроки «молекулярных переодеваний» обусловлены генетически, происходят каждые 10^4 — 10^5 делений, не зависят от ответа хозяина. Небольшое удлинение срока между переключением генов — погибнет кровепаразит, небольшое укорочение срока — погибнет хозяин. Как за короткий срок биологической эволюции (после появления млекопитающих) мог возникнуть методом проб и ошибок этот совершенный генетический механизм сосуществования, как могли возникнуть и накопиться в геноме трипаносом многие сотни генов, кодирующих варианты поверхностного антигена? Причем большая часть этих генов является как бы запасной и крайне редко используется.

Другой хороший пример — равновесие в системе паразит — хозяин, которое устанавливается в гиперэндемичных очагах тропической малярии. Если живущему в очаге человеку удастся избежать смерти в первые годы жизни, у него развивается нестерильный иммунитет, снижается паразитемия, исчезают клинические симптомы болезни. Непрерывные повторные заражения поддерживают напряженность иммунитета у населения, которое в целом выживает, что обеспечивает завершение жизненного цикла плазмодия. В условиях гиперэндемичного

очага бессимптомное паразитоносительство — компромисс, шаткий, конечно, но, как показывает история человечества, приемлемый для сосуществования человека и возбудителя тропической малярии. Как при трипаномозе, так и при малярии сохранение равновесия обусловлено генетически как со стороны кровепаразита, так и со стороны хозяина. Изменение иммунного статуса населения в одну или другую сторону привело бы к нарушению равновесия в сложившейся системе взаимодействующих популяций возбудителя, переносчика и хозяина.

Проблема борьбы с малярией является общечеловеческой, глобальной проблемой, которая не может быть решена без знания молекулярных механизмов, определяющих стабильность системы паразит — хозяин. Возникла необходимость дополнить данные об эпидемиологии и клинике малярии данными биохимических и молекулярно-генетических исследований. Имеется еще одна причина для выбора системы эритроцит — плазмодий в качестве примера интеграции обменов паразита и хозяина — это хорошая изученность и простота строения и функции эритроцита, который у млекопитающих лишен ядра.

Система эритроцит — плазмодий. Проникновение мерозоита в эритроцит не менее сложный процесс с точки зрения молекулярных механизмов, чем вышеописанное проникновение трипомастиготы в фибробласт при болезни Шагаса. Мерозоит внедряется в эритроцит примерно за 30 с, причем за это короткое время происходит прикрепление мерозоита к мембране, инвагинация мембраны, образование паразитофорной вакуоли и замыкание внешней мембраны эритроцита и внутренней мембраны вакуоли, содержащей плазмодий.

Мерозоит имеет трехслойную мембрану и апикальный комплекс с роптриями и микронемами. Апикальный аппарат содержит богатый гистидином белок, который, видимо, играет роль в распознавании рецептора на поверхности эритроцита и в прикреплении к нему. Гликофорины участвуют в этом процессе (в небольших концентрациях они препятствуют внедрению мерозонтов *P. falciparum* в эритроцит) [37]. Более того, простые моносахариды, как N-ацетил-D-глюкозамин, тормозят инвазию, особенно в связанном с альбумином состоянии. Изучена структура молекул, ответственных за распознавание сиалогликопротеиновых рецепторов на мембране эритроцита [38]. Важную роль во внедрении мерозоита в эритроцит предположительно играет полипептид с мол. массой в 250 кД, который синтезируется зрелым шизонтом и, возможно, находится на поверхности мембраны мерозоита, но сбрасывается им в момент образования паразитофорной вакуоли (показано у *P. chabaudi* и *P. knowlesi*) [12]. У *P. falciparum* мерозонты покрыты слоем специфического белка с мол. массой в 190 кД, ферментативное расщепление которого с отторжением иммунокомпетентного фрагмента является одним из компонентов молекулярного механизма внедрения мерозоита в эритроцит (рис. 33).

Проникновение мерозоита в эритроцит зависит не только от самого мерозоита, но и от строения мембраны эритроцита. Как известно, при созревании эритроцита изменяется строение его мембраны, и это определяет предпочтение возбудителей малярии грызунов и некоторых штаммов возбудителя тропической малярии к инвазии ретикулоцитов

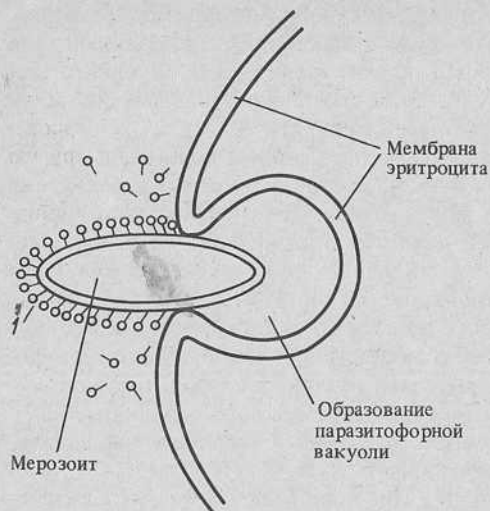
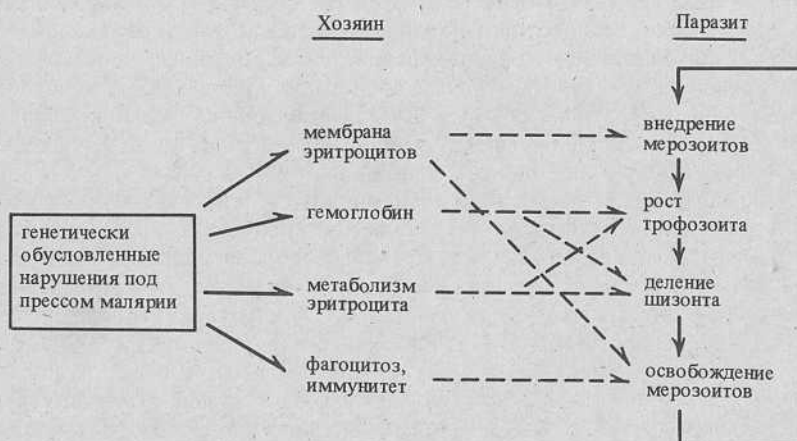


Рис. 33. Внедрение мерозонта в эритроцит, по [29]

I — иммунокомпетентный белок на поверхности мерозонта

Рис. 34. Зависимость внутри-эритроцитарного развития плазмодия от особенностей эритроцита хозяина, по [45] (с дополнением)



и молодых эритроцитов. Значительную роль в восприимчивости к трехдневной и тропической малярии играют поверхностные факторы эритроцитов: при $En(a^-)$ понижена восприимчивость эритроцитов к инвазии мерозонтами *P. falciparum*, группа $Fy(a^-b^-)$ невосприимчива к *P. vivax*. Любопытен случай с Даффи-отрицательным фенотипом, который распространен среди коренного населения западной Африки. Детерминант в Даффи-положительных эритроцитах связан с восприимчивостью к трехдневной малярии, но сам по себе не является рецептором для мерозонтов *P. vivax*, поскольку при обработке хемотрипсином Даффи-положительные эритроциты становятся невосприимчивыми, а при обработке трипсином или нейраминидазой Даффи-отрицательные эритроциты становятся восприимчивыми [69]. Приведенные примеры показывают, что при взаимной адаптации изменения претерпевают и паразит и хозяин [4] (рис. 34).

Возникшие путем отбора под прессом малярии генетически обусловленные нарушения строения и функции эритроцита, как измененные или потерянные рецепторы на мембране, аномальные гемоглобины, энзимопатия и т. д. влияют отрицательно или положительно на развитие плазмодия [27].

В разделах, посвященных обмену нуклеиновых кислот, белков, углеводов и липидов, были кратко охарактеризованы особенности путей обмена и пищевые потребности возбудителей малярии при внутриэритроцитарном развитии от стадии кольца до зрелого шизонта, в этом разделе будут рассмотрены процессы, протекающие на мембранах и значение иммуноактивных белков плазмодия.

Известно, что, развиваясь внутри эритроцита, возбудитель малярии переваривает гемоглобин, втянутый в цитостом вместе с оболочной паразитофорной вакуоли, потребляет аминокислоты, оставляя характерный пигмент — гемозоин [5, 28]. Протеиназы *P. falciparum*, в частности катепсин D, очищены и изучены [63]. Показано, что фермент паразита отличается от гомологического эритроцитарного фермента и что он активно расщепляет структурные белки цитоскелета красного кровяного шарика и его мембраны. В результате меняется проницаемость мембраны инвазированного эритроцита, появляются поры, через которые проникают нейтральные (сорбитол, глюкоза) или отрицательно заряженные молекулы небольшого размера. Поры непроницаемы для катионов [25]. В то же время показано, что в инвазированных эритроцитах грызунов падает содержание K^+ и повышается содержание Na^+ , резко возрастает уровень Ca^{++} как в инвазированных, так и в непораженных эритроцитах [43]. При тропической малярии мембрана инвазированных эритроцитов человека начинает пропускать углеводы, полиолы, аминокислоты, органические кислоты, причем расчетный размер пор равен примерно 0,7 нм [26].

Наиболее интересные изменения инвазированных эритроцитов при малярии связаны с появлением белков плазмодия в эритроцитарной мембране. В мембране эритроцитов обезьян, зараженных *P. knowlesi*, обнаружены пептиды плазмодия с мол. массой 277, 208, 173, 153, 134, 109, 80, 60, 48 кД, найден также вариабельный поверхностный антиген *P. knowlesi* [10], описанный К. Н. Броун под обозначением «SICA-protein». При малярии обезьян, которая обычно протекает летально (*P. knowlesi*), лечение приводит к хроническому течению болезни с волнообразной паразитемией, причем в крови нарастает титр агглютининов, вызывающих агглютинацию пораженных эритроцитов. Неожиданно оказалось, что агглютинины проявляют специфичность к эритроцитам, содержащим плазмодии, только при первой волне паразитемии. К зараженным эритроцитам, взятым при следующих волнах паразитемии, агглютинины лишены специфичности [14]. Следовательно, при каждой волне паразитемии плазмодий синтезирует новый вариант поверхностного антигена, который немедленно переносится и встраивается в мембрану инвазированного эритроцита, на что хозяин реагирует образованием новых агглютининов [54]. Это очень напоминает отношения паразит—хозяин при африканском трипаномозе. Наличие вариабельных поверхностных антигенов показано различными методами и у *P. falciparum* [32, 33, 70],

Таблица 67

Соотношение между систематическим положением переносчиков, особенностями их метаморфоза и питания и способностью к специфической передаче возбудителей трансмиссивных болезней наземным позвоночным, включая человека [1]

Переносчик	Превращение полное (П) или неполное (НП)	Наличие перитрофической мембраны у		Питание личинки		Питание
		личинки	имаго	Характер питания	Контакт с "вульгарной" микрофлорой при питании	Характер питания

Двукрылые Diptera

Кровососущие мухи Glossinidae (мухи цеце)	П	+	+	А	—	К
Слепни Tabanidae	П	+	+	ХД	+	КС
Комары Culicidae	П	+	+	ФД	+	КС
Мокрецы Ceratopogonidae	П	+	+	Д	+	КС
Мошки Simuliidae	П	+	+	Ф	+	КС
Москиты Phlebotominae	П	+	+	Д	+	КС
Блохи Siphonaptera	П	+	—	ОК	+	К
Вши Anoplura	НП	—	—	К	—	К
Клещи Acarina Ixodidae	НП	—	—	К	—	К
Argasidae	НП	—	—	К	—	К
Gamasoidae*	НП	—	—	К**	—	К
Trombiculidae	НП	—	—	ТЭ	—	ГЕМ
Клопы Hemiptera, Triatomidae	НП	—	—	К	—	К
Cimicidae	НП	—	—	К	—	К

*Только по данным В.Н. Беклемишева (1948).

**Личинки гамазид вообще не питаются, первой питающейся стадией является протонимфа. Г — специфическая передача отсутствует, переносчик при попадании возбудителя этой при дение фекалиями этого возбудителя; ? — обозначает возможность подтверждения наличия передачи в эксперименте. Характер питания: А — аденотрофный, Д — детритофагия, ХД — и сахарами, ГЕМ — гемолимфой насекомых, ТЭ — тканевой жидкостью, экссудатом, Ф —

намаго		Наличие (+) или отсутствие (–) специфической передачи возбудителей							
Скорость переваривания крови при благоприятной температуре	Наличие бактериоидов (мицелотомы) в кишке	Бактерии	Риккетсии	Спирохеты	Пироплазмы	Споровики	Жгутиконосцы	Филярии	Вирусы

Часы (1–1,5)	+	Г	–	–	–	–	⊕	–	–
Сутки	–	–Р	–	–	–	–?	+	⊕	–?
„	–	–	–	–	–	⊕	+Э	⊕	⊕
„	–	–	–	–	–	+	+Э	⊕	⊕
„	–	–	–	–	–	+	+Э	⊕	–?
„	–	–	–	–	–	+	⊕	+	⊕
„	–	⊕	⊕	–	–	–	+	+	+
Часы (5–6)	+	–Г	⊕	⊕	–?	–	–	–	–
Недели, месяцы	–	⊕	⊕	⊕	⊕	–	+	+	⊕
„	–	+	⊕	⊕	+	–	+Э	+	+
Сутки	–	⊕	⊕	?	+	–	–?	+	⊕
„	–	–	⊕	–	–	–	–	–	–?
„	–	–	–	–	–?	–	⊕	–?	–?
„	–	–Р	–Р	–	–?	–	+Э	–?	+

Обозначения: ⊕ – отмечена специфическая передача возбудителя данной группы человеку; – – роды погибает; Р – специфической передачи нет, однако наблюдается размножение и выведение новых открытий специфического переноса возбудителя; +Э – наличие специфической хищничества и детритофагия, ПК – преимущественно кровью, К – кровью, КС – кровью фильтрация, ФД – фильтрация и детритофагия.

который к тому же способен сбрасывать с поверхности своей мембраны молекулы переменного антигена, связавшие антитела хозяина [3].

Многочисленные белки, синтезируемые возбудителями малярии, различны у разных видов плазмодиев, их набор меняется на разных стадиях цикла развития, а у эритроцитарных форм на последовательных этапах цикла шизогонии. Все это очень затрудняет выделение антигенов, пригодных для иммунизации. Вопрос осложняется большой генетической изменчивостью: применение современных методов исследований выявляет различия между штаммами и клонами одного вида плазмодия. Использование моноклональных антител выявило, например, различия между изолятами *P. falciparum* [46].

ОТНОШЕНИЯ В СИСТЕМЕ ПАЗАРИТ—ПЕРЕНОСЧИК

Если отношения эндопаразитов с факультативными, промежуточными, и особенно с дефинитивными, хозяевами в какой-то мере изучены, то этого нельзя сказать об отношениях паразитов с переносчиками-членистоногими. Большинство авторов считают, что пары возбудитель—переносчик возникли давно с геологической точки зрения, их сочлены хорошо адаптированы друг к другу, и переносчик практически не страдает от присутствия в его организме возбудителя, который нередко размножается в нем.

В последнее десятилетие пробудился интерес к изучению влияния возбудителя на поведение насекомого и появилось несколько интересных обобщающих работ. Алексеев и Кондрашова, рассматривая организм членистоногих как среду обитания возбудителей, ищут критерии специфичности взаимоотношений возбудителя и переносчика, а также морфофункциональные особенности, определяющие способность членистоногих переносить разные группы возбудителей [1]. В общей таблице авторы приводят итог анализа собранных данных (табл. 67).

Молине и Жефери в недавно опубликованном обзоре [53] проанализировали данные о влиянии возбудителей на поведение и выживаемость членистоногих-переносчиков. Для нас представляют интерес пары с участием возбудителей-эукариотов, имеющие медицинское значение.

Зараженные лейшманиями москиты *Lutzomyia* и *Phlebotomus* испытывают затруднения при питании кровью. Они повторно нападают, делают многократные попытки кровососания [39, 41], что повышает вероятность передачи возбудителя [53]. Увеличение вдвое числа нападений и попыток кровососания отмечено также у *Glossina m. morsitans* зараженных *Trypanosoma b. brucei* по сравнению с незараженными мухами [49, 50]. У зараженных глоссин значительно удлиняется время кровососания [36, 51, 52], укорачивается срок жизни инвазированных самок [36, 50]. Росиньоли и др. [60] нашли снижение активности фермента апиразы в слюне *Aedes aegypti*, зараженных *Plasmodium gallinaceum*, и отметили изменение поведения этих комаров при нападении и кровососании. Относительно много публикаций о влиянии филарий на переносчиков. У зараженных мошек *Simuliidae* уменьшается расстояние полета [31, 67], укорачивается жизнь и падает репродуктивность самок [68]. В отличие от приведенных выше примеров заражение филариями

не сказывается на поведении при нападении и кровососании. Данные только начинают накапливаться, но можно уже с уверенностью сказать, что заражение возбудителями-эукариотами вовсе не безразлично для переносчиков, а вызывает у них тяжелые морфофункциональные нарушения, причем показано, что тяжесть проявлений пропорциональна интенсивности заражения. Эффект заражения может проявляться и на природной популяции переносчика [61].

О молекулярных механизмах защиты и агрессии, которыми пользуется возбудитель, проникая в организм переносчика и размножаясь в нем, почти ничего не известно (если не считать спекулятивных расчетов энергетических потерь, вызванных возбудителями [15]), но не подлежит сомнению, что эти механизмы существуют и будут изучены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Возбудитель, циркулирующий в природном очаге паразитарной болезни, занимает центральное место среди сочленов паразитоценоза. В своем онтогенетическом развитии он последовательно входит в тесный контакт с хозяевами и переносчиками и устанавливает с каждым из них крайне сложные отношения на молекулярном уровне. Устарели представления о пассивной роли возбудителя, который якобы передается как балласт от сочлена к сочлену паразитоценоза и проявляет себя в качестве возбудителя болезни только в организме восприимчивого хозяина. Такое представление, вероятно, неверно в отношении вирусов, определенно неверно в отношении микробов и тем более неверно в отношении паразитов-эукариотов. В этой и предыдущих главах приведены многочисленные примеры сложности и изменчивости молекулярных механизмов, облегчающих паразиту-эукариоту сожительство с теми, кого эволюция отобрала, обеспечив выживание и размножение паразита в неблагоприятной внешней среде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев А. Н., Кондрашова З. Н. Организм членистоногих как среда обитания возбудителей. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1985. 180 с.
2. Беляков В. Д., Тец В. В., Каминский Г. Д. Проблема саморегуляции в медицинской паразитоценологии // Паразитоценология. Киев: Наук. думка, 1985. С. 118—125.
3. Годсон Н. Молекулярные подходы к созданию противомалярийных вакцин // В мире науки. 1985. № 7. С. 16—24.
4. Гринберг Л. Н., Нуштаев Д. А. О биохимических особенностях системы «эритроцит — малярийный паразит» и действие антималярийных препаратов // Совр. проблемы протозоологии. Вильнюс. 1982. С. 93.
5. Гринберг Л. Н., Григер М., Якобаш Г. и др. Биохимические аспекты взаимодействия малярийного паразита *Plasmodium berghei* с эритроцитами хозяина // Вопр. мед. химии. 1983. № 5. С. 87—93.
6. Кудлай Д. Г. Внехромосомные факторы наследственности бактерий и их значение в инфекционной патологии. М.: Медицина, 1977. 224 с.
7. Скавронская А. Г. Молекулярно-генетические механизмы бактериальной мутабельности // Журн. молекуляр. генетики, микробиологии и вирусологии. 1983. № 1. С. 6—14.
8. Сопрунов Ф. Ф. Значение учения Е. Н. Павловского о природной очаговости

- болезней для дальнейшего развития медицинской паразитологии // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1986. № 2. С. 3—10.
9. Шишова-Касаточкина О. А., Павлов А. В. К вопросу о причинах резистентности гельминтов по отношению к протеолитическим ферментам кишечника хозяина // Тр. ГЕЛАН СССР. 1969. № 20. С. 195—202.
 10. Aley S. B., Barwell J. W., Daniel W., Howard R. J. Identification of parasite proteins in a membrane preparation enriched for the surface membrane of erythrocytes infected with *Plasmodium knowlesi* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 12. P. 69—84.
 11. Aline R. F. (jun.), Stuart K. The two mechanisms for antigenic variation in *Trypanosoma brucei* are independent processes // Ibid. 1985. Vol. 16. P. 11—20.
 12. Boyle D. B., March J. C., Newbold C. I., Brown K. N. Parasite polypeptides loss during schizogony and erythrocyte invasion by the malaria parasites *Plasmodium chabaudi* and *Plasmodium knowlesi* // Ibid. 1983. Vol. 7. P. 9—18.
 13. Brown K. N. Antigenic variation in malaria // Immunity to blood parasites of animal and man / Ed. L. H. Miller, J. A. Pino, J. J. McKelvey. N. Y.; L.: Plenum press, 1977. P. 5—25.
 14. Brown I. N., Brown K. N. Immunity to malaria: the antibody response to antigenic variation by *Plasmodium knowlesi* // Immunology. 1968. Vol. 14. P. 129—138.
 15. Bursell E. Energetics of haematophagous arthropods: influence of parasites // Parasitology. 1981. Vol. 82. P. 107—110.
 16. Campbell A. J., Sheers M., Moore R. J. et al. Proline biosynthesis by *Fasciola hepatica* at different developmental stages in vivo and in vitro // Mol. and Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 3. P. 91—102.
 17. Campbell D. A., Thornton D. A., Boothroyd J. C. Apparent discontinuous transcription of *Trypanosoma brucei* variant surface genes // Nature. 1984. Vol. 311. P. 350—355.
 18. Immunology of parasitic infections / Ed. A. Cohen, Warren K. S. Oxford: Blackwell, 1982. 428 p.
 19. Coles G. C. Fluke biochemistry *Fasciola* and *Schistosoma* // Helminth. Abstr. A. 1974. Vol. 44. P. 147—162.
 20. Crane M. St. J., Dvorak J. A. Influence of monosaccharides on the infection of vertebrate cells by *Trypanosoma cruzi* and *Toxoplasma gondii* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1982. Vol. 5. P. 333—342.
 21. Cross G. A. M. Antigenic variation in Trypanosomes // Proc. Roy. Soc. London. B. 1978. Vol. 202. P. 55—72.
 22. Cross G. A. M. Antigenic variation of parasites // Modern genetic concepts and techniques in the study of parasites. Basel: Schwabe, 1981. P. 173—194.
 23. Englund P. T., Hadjuk S. L., Marini J. C. The molecular biology of trypanosomes // Annu. Rev. Biochem. 1982. Vol. 51. P. 695—726.
 24. Gillin F. D., Reiner D. S., Levy R. B., Henrat P. A. Thiol groups on the surface of an aerobic parasitic protozoa // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 13. P. 1—12.
 25. Ginsburg H., Krugliak M., Eidelman O., Cabantchik. New permeability pathways induced in membranes of *Plasmodium falciparum* infected erythrocytes // Ibid. 1983. Vol. 8. P. 177—190.
 26. Ginsburg H., Kutner S., Krugliak M., Cabantchik I. Characterization of permeation pathways appearing in the host membrane of *Plasmodium falciparum* infected red blood cells // Ibid. 1985. Vol. 14. P. 313—322.
 27. Grinberg L. N. Red blood cell enzymes at different stages of *Plasmodium berghei* schizogony // Application of biochemical micromethods for the investigation of tropical disease pathogens. Geneva: World Health Org., 1982. P. 197—198.
 28. Grinberg L. N., Soprunov F. F. Metabolism of erythrocyte infected with malaria parasite and the action of antimalarial drugs // Biomed. et biochim. acta. 1983. Vol. 42, N 11 / 12. P. 317—321.
 29. Hall R., Osland A., Hyde J. E. et al. Processing, polymorphism and biological significance of P190 a major surface antigen of the erythrocytic forms of *Plasmodium falciparum* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 11. P. 61—80.
 30. Henriquez D., Piras R., Piras M. M. The effect of surface membrane modifica-

- tions of fibroblastic cells on the entry process of *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes // *Ibid.* 1981. Vol. 2. P. 359—366.
31. Hockmeyer W. T., Schiffer B. A., Redington B. C., Eldridge B. F. *Brugia pahangi*: effects upon the flight capability of *Aedes aegypti* // *Exp. Parasitol.* 1975. Vol. 38. P. 1—5.
 32. Hommel M., David P. H., Olgino L. D., David J. R. Expression of strain-specific surface antigens on *Plasmodium falciparum* infected erythrocytes // *Parasite Immunol.* 1982. Vol. 4. P. 409—419.
 33. Hommel M., David P. H., Olgino L. D. Surface alteration of erythrocytes in *Plasmodium falciparum* malaria // *J. Exp. Med.* 1983. Vol. 157. P. 1137—1148.
 34. Hudson K. M., Terry R. J. Antigenic change in *Trypanosoma brucei* on transmission by tse-tse fly // *Parasite Immunol.* 1980. Vol. 2. P. 57—69.
 35. Isseroff H. The enzymes of proline biosynthesis in *Fasciola* and *Schistosoma* and the possible role of proline in fascioliasis and schistosomiasis // *Trends Enzymol.* 1979. Vol. 61. P. 303—314.
 36. Jenni L., Molyneux D. H., Livsey J. L., Galun R. Feeding behaviour of tse-tse flies infected with salivarian trypanosomes // *Nature.* 1980. Vol. 283. P. 383—385.
 37. Jungery M., Pasvol G., Newbold C. I., Weatherall D. J. A lectin-like receptor is involved in the invasion of red cells by *Plasmodium falciparum* // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1983. Vol. 80. P. 1018—1022.
 38. Jungery M., Boyle D. B., Patel T. et al. Lectin-like polypeptides of *P. falciparum* bind to red cell sialoglycoproteins // *Nature.* 1983. Vol. 301. P. 740—745.
 39. Killick-Kendrick R. Biology of leishmania in phlebotomus sandflies // *Biology of kinetoplastida* / Ed. W. H. R. Lundsem, D. A. Evans. L.: Acad. press, 1979. Vol. 2. P. 396—460.
 40. Killick-Kendrick R., Leaney A. J., Ready P. D., Molyneux D. H. Leishmania in phlebotomid sanflies. IV: The transmission of *Leishmania mexicana amazonensis* to hamsters by the bite of experimentally infected *Lutzomyia Longipalpis* // *Proc. Roy. Soc. London B.* 1977. Vol. 196. P. 105—115.
 41. Klebanoff S. J. Pharmacological research in parasitology // *The current status and future of parasitology* / Ed. S. K. Warren, E. F. Parcell. N. Y.: Macy, 1981. P. 169—174.
 42. Krungrai J., Yuthavong Y. Enhanced Ca uptake by mouse erythrocytes in malarial (*P. berghei*) infection // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1983. Vol. 7. P. 227—235.
 43. Kurelec B. Molecular biology of helminth parasites // *Intern. J. Biochem.* 1975. Vol. 6. P. 375—386.
 44. Lange de T., Kotter J. M., Michels P. A. M., Borst P. Telomere conversion in Trypanosomes // *Nucl. Acids Res.* 1983. Vol. 11. P. 8149—8165.
 45. Luzzatto L. Genetics of human red cells and susceptibility to malaria // *Modern genetic concepts and technics in the study of parasites* / Ed. F. Michal. Basel: Schwabe, 1981. P. 257—278.
 46. McBride J. S., Walliker D., Morgan G. Antigenic diversity in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* // *Science.* 1982. Vol. 217. P. 254—257.
 47. Majiwa P. A. O., Mattayssens G., Williams R. O., Hamers R. Cloning and analysis of *Trypanosoma congolense* VSG gene // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 16. P. 97—108.
 48. Mario P., Rumjanek F. D. Antigenic and dynamic properties of helminth surface structures // *Ibid.* 1984. Vol. 10. P. 245—268.
 49. Moloo S. K. Feeding behaviour of *Glossina morsitans* infected with *Trypanosoma vivax*, *T. congolense* or *T. brucei* // *Parasitology.* 1983. Vol. 86. P. 51—56.
 50. Moloo S. K., Dar F. Probing by *Glossina morsitans centralis* infected pathogenic Trypanosome species // *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.* 1985. Vol. 79. P. 119—120.
 51. Molyneux D. H. Vector relationships in the trypanosomatidae // *Adv. Parasitol.* 1977. Vol. 15. P. 1—82.
 52. Molyneux D. H., Jenni L. Mechanoreceptors, feeding behaviour and trypanosome transmission in *Glossina* // *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg.* 1981. Vol. 75. P. 160—162.
 53. Molyneux D. H., Jefferies D. Feeding behaviour of pathogen-infected vectors // *Parasitology.* 1986. Vol. 92. P. 721—736.

54. Newbold C. I. Intraerythrocytic development and antigenicity of asexual malaria parasites // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 11. P. 1—22.
55. Nogueira N. The role of immunology // *The current status and future of parasitology* / Ed. K. S. Warren, E. F. Purcell. N. Y.: Macy, 1981. P. 195—207.
56. Pappas P. W., Narcisi E. M., Rentko V. Alteration in brush border membrane proteins and membrane-bound enzymes of the tapeworm *Hymenolepis diminuta* during development in the definitive host // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1983. Vol. 8. P. 317—323.
57. Parsons M., Nelson R. G., Newport G. et al. Genome organization of *Trypanosoma brucei* variant antigen gene families in sequential parasitemias // *Ibid.* Vol. 9. P. 191—278.
58. Piras M. M., Piras R., Henriquez D. Changes in morphology and infectivity of cell culture-derived trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* // *Ibid.* 1982. Vol. 6. P. 67—82.
59. Piras M. M., Henriquez D., Piras R. The effect of proteolytic enzymes and protease inhibitors on the interaction *Trypanosoma cruzi*-fibroblasts // *Ibid.* 1985. Vol. 14. P. 151—164.
60. Rossignol P. A., Robeiro J. M. C., Spielman A. Increased intradermal probing time in sporozoite-infected mosquitoes // *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.* 1984. Vol. 33. P. 17—20.
61. Ryan L. The effect of *Trypanosome* infections on a natural population of *Glossina longipalpis* wiedmann (Diptera: Glossinidae) in Ivory Coast // *Acta trop.* 1984. Vol. 41. P. 355—359.
62. Seed J. R. Competition among serologically different clones of *Trypanosoma brucei* gambiense in vivo // *J. Protozool.* 1978. Vol. 25. P. 526—529.
63. Sherman I. W., Tanigoshi L. Purification of *Plasmodium lophurae* cathepsin D and its effects on erythrocyte membrane proteins // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1983. Vol. 8. P. 207—226.
64. Smith H. V., Quinn R., Kusel J. R., Girwood R. W. A. The effect of temperature and antimetabolites on antibody binding to the outer surface of second stage *Toxocara canis* larvae // *Ibid.* 1981. Vol. 4. P. 171—182.
65. Smithers S. R., Terry R. J., Hockley D. J. Host antigens in Schistosomiasis // *Proc. Roy. Soc. Biol.* 1969. Vol. 171. P. 483—494.
66. Steinart M., Pays E. Selective expression of surface antigen genes in african trypanosomes // *Parasitol. Today.* 1986. Vol. 1. P. 15—20.
67. Townson H. The effect of infection of *Brugia pahangi* on the flight of *Aedes aegypti* // *Ann. Trop. Med. and Parasitol.* 1970. Vol. 64. P. 411—420.
68. Townson H. Mortality of various genotypes of the mosquito *Aedes aegypti* following the uptake of microfilaria of *Brugia pahangi* // *Ibid.* 1971. Vol. 65. P. 93—106.
69. Trigg P. I. Malaria // *The membrane pathobiology of tropical diseases.* Basel; 1979. P. 45—79. (TDR Ser.; Vol. 2).
70. Udeinya I. J., Schmodt J. A., Aikawa M. et al. Falciparum malaria infected erythrocytes specifically bind to cultured human endothelial cells // *Science.* 1981. Vol. 213. P. 555—557.
71. Wakelin D. Genetic control of susceptibility and resistance to parasitic infection // *Adv. Parasit.* 1978. Vol. 16. P. 219—308.
72. Wakelin D. Genetic control of immunity to helminth infection // *Parasitol. Today.* 1985. Vol. 1. P. 17—23.
73. Young J. R., Miller E. N., Williams R. O., Turner M. J. Are there two classes of VSG gene in *Trypanosoma brucei* // *Nature.* 1983. Vol. 306. P. 196—198.
74. Zingales B., Andrews N. W., Kuwajima V. Y., Colli W. Cell surface antigens of *Trypanosoma cruzi*: possible correlation with the interiorization process in mammalian cells // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1982. Vol. 6. P. 111—124.

ВОЗНИКНОВЕНИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ ПАРАЗИТИЗМА

Во Введении отмечалось, что к эндопаразитам отнесены в этой монографии только эукариоты — простейшие и многоклеточные, обитающие в органах и тканях хозяина. Патогенные грибы не рассматриваются, хотя являются эукариотами и могут поражать органы и ткани хозяина. Принятое нами весьма искусственное ограничение понятия «эндопаразит» объясняется прежде всего желанием рассмотреть с молекулярной точки зрения отношения в системе паразит—хозяин и возникновение этой системы на примере животных-паразитов, по возможности близких по биохимическим особенностям и происхождению. Конечно, мир патогенных простейших необычайно разнообразен и полифилетичен, и их объединение с гельминтами — очень условно. Единственным оправданием может быть то, что черви относятся к древней ветви древа эволюции животных, возникшей еще в позднем рифее, на ранних стадиях дифференциации многоклеточных, и у них могли сохраниться особенности обмена первичных метазоа, близких к простейшим.

Другим принятым нами ограничением является искусственное выделение среди бесконечного множества хозяев, поражаемых патогенными простейшими и гельминтами, только хозяев позвоночных, преимущественно млекопитающих. Система паразит—хозяин определяется не только свойствами паразита, но в не меньшей степени свойствами хозяина, и мы старались подобрать биохимически однородную группу хозяев. В общем мы рассматриваем здесь только возникновение у простейших и низших многоклеточных явления паразитизма на позвоночных, преимущественно млекопитающих.

Наш выбор объясняется еще одним, вероятно, решающим соображением: более или менее подробные данные о молекулярных взаимоотношениях имеются только для немногих паразитов и хозяев, именно тех, о которых идет речь в этой монографии. Когда-нибудь появится достаточно фактических данных, чтобы рассмотреть молекулярные пути эволюции паразитизма в целом независимо от систематического положения паразитов и хозяев и их принадлежности к животным или растениям. Однако до этого еще далеко.

Паразитизм у животных обычно считают вторичным явлением, и его возникновение объясняют, как правило, следующей общей схемой. В процессе адаптации к различным экологическим нишам свободноживущие представители двух далеко отстоящих друг от друга таксонов встречаются, вступают во все более тесный контакт, устанавливают между собой трофические связи, причем один из сожителей — будущий облигатный паразит — постепенно переходит от питания пищевыми отбросами к питанию отторгаемыми мертвыми клетками, потом живыми тканями соседа. Паразит проникает в пищевой тракт, легкие, полости тела хозяина, потом в его ткани и внутренние органы, живет и питается в организме хозяина. От бывшей свободной жизни паразит сохраняет тот отрезок, который необходим, чтобы на одной из стадий онтогенеза покинуть одного хозяина и внедриться в другого. Так возникает жизненный цикл паразита, он усложняется постепенным включением дополнительных хо-

заяв и переносчиков. В конечном итоге на ограниченной территории, называемой очагом паразитоза, возникает стабильная биологическая система, в которой взаимодействуют популяции эндопаразита-возбудителя, переносчика, нескольких хозяев. Они приспособлены к существованию в общих экологических нишах данной географической зоны и тонко адаптированы друг к другу, что обеспечивает пластичность и стабильность системы в целом.

Приведенная схема кажется логичной, хорошо объясняет возникновение эктопаразитизма, некоторых маргинальных форм эндопаразитизма, таких, как поселение паразитов в полостях тела хозяина, открытых во внешнюю среду, согласуется с морфологической эволюцией паразитов, с исчезновением или развитием их отдельных функций. Однако применительно к эндопаразитизму схема теряет свою убедительность. Это объясняется тем, что при эндопаразитизме, помимо морфологической адаптации и трофических связей, ведущее значение имеют молекулярные механизмы взаимодействия с хозяевами и переносчиком и изменения путей обмена на последовательных стадиях жизненного цикла.

Выше подчеркивалась ведущая роль в паразитоценозе эндопаразита и информации, закрепленной в его геноме. Нам кажется, что этому факту не уделяется достаточного внимания при обсуждении путей возникновения и эволюции паразитарных систем.

В интересных документированных работах В. М. Сафьяновой предлагается схема становления паразитарной системы лейшманий [24, 25]: от двучленной системы, состоящей из предков современных отрядов насекомых и их кишечных моногенетических паразитов, подобных современным *Leptomonas*, к двум типам трехчленных паразитарных систем с дополнительным включением в одном случае предков современных рептилий, в другом — древних млекопитающих. Переносчиками в первой системе являются москиты рода *Sergentomyia*, во второй — рода *Phlebotomus*. Обе трехчленные системы возникли предположительно в середине мезозоя, когда появились насекомые-кровососы. При дальнейшей эволюции, в первой половине третичного периода, выделилась система лейшманий Нового Света с москитами рода *Lutzomyia* в качестве переносчиков и многочисленными видами млекопитающих из отрядов сумчатых, неполнозубых, грызунов и хищников — в качестве позвоночных хозяев.

Предложенная схема согласуется в палеонтологическими данными о времени появления подсемейства *Phlebotominae* и рода *Phlebotomus*, с разделением материков в мезозое, с тем, что беспозвоночные хозяева лейшманий принадлежат к одному семейству *Phlebotominae*, тогда как позвоночными хозяевами являются представители многих отрядов *Mammalia*. Наконец, схема удовлетворительно объясняет степень специфичности взаимосвязей между сочленами нынешних паразитических систем Старого и Нового Света, что трактуется как показатель их эволюционной древности.

Примерно те же доводы: палеонтологические данные, большее разнообразие позвоночных, чем беспозвоночных хозяев, адаптация и специфичность сочленов ныне существующих систем приведены в доказательство предложенных схем эволюции паразитарной системы малярии [16, 30, 32].

Предполагается, что возбудители малярии произошли от паразитических коксидий, обитавших, по мнению одних авторов, в кишечнике насекомых, по мнению других, в кишечнике позвоночных. В пользу первой гипотезы приводят факт широкого распространения возбудителей малярии среди позвоночных (рептилий, птиц, млекопитающих) при более узком составе переносчиков: двухкрылых гематофагов, хорошо адаптированных к возбудителю. Большинство специалистов считают, однако, что эти доводы неубедительны, и склоняется в пользу предположения о происхождении плазмодиев малярии от паразитарных коксидий позвоночных, которые из кишечника проникли в ткани, потом в кровь хозяина и, наконец, в организм двухкрылых кровососов. Если предполагать, что эволюция плазмодиев шла параллельно эволюции приматов, можно строить схемы, удовлетворительно объясняющие возникновение современных видов плазмодиев малярии от общего предка, подобного нынешним представителям рода *Hepatocystis*. Появление антропоидов относят к среднему эоцену, т. е. 35—40 млн. лет назад. Предок человека предположительно заразился 1—2 млн. лет назад в азиатских очагах малярии от представителей других линий эволюции приматов. В целом эти схемы эволюции малярии обезьяны и человека интересны, они только плохо согласуются с фактом наличия типичных малярийных плазмодиев у давно обособленных лемуринов на Мадагаскаре. Историю развития паразитарных систем и очагов малярии человека можно достаточно достоверно восстановить за последние 20—40 тыс. лет.

Предложены схемы эволюции трипаносоматид, филярий, других эндопаразитов. Интересные взгляды на эволюцию паразитизма и экосистем высказал Контримавичус [14].

При всей ценности приведенных выше гипотетических схем эволюции нельзя не отметить, что в них более или менее достоверно обосновано только включение в жизненный цикл паразита новых хозяев, появившихся по мере дифференциации позвоночных, и новых переносчиков, возникших в основном в результате миграционных процессов. Документировано возникновение новых подвидов и видов возбудителей, адаптированных к новым хозяевам и переносчикам. Но если говорить о самом возникновении паразитарных систем и тем более о переходе свободноживущих форм к эндопаразитизму, мы вынуждены признать, что остаемся в полном неведении. «Большой скачок» стараются отодвинуть в далекое прошлое и предпочитают рассматривать эволюцию уже возникшей паразитарной системы. Такую эволюцию легко понять. Из наблюдений и опытов мы знаем, что абсолютной специфичности не существует. Эндопаразиты могут «заблуждаться», более или менее долго существовать или частично развиваться на «чужом» хозяине или переносчике. Могут даже адаптироваться к нему, что биохимику кажется естественным: пути обмена и метаболиты у всех млекопитающих однотипны и поэтому не требуется глубоких перестроек путей обмена паразита и новой информации в его геноме. Совсем иначе обстоит дело при возникновении двучленной, потом трехчленной паразитарной системы. Свободноживущий пропаразит должен пройти такие глубокие и быстрые перестройки внутриклеточных путей обмена, что при медленных темпах молекулярной эволюции трудно представить себе, как этот процесс мог уложиться во временные интер-

валы вышеприведенных схем. Тем более что путем мелких адаптаций не может возникнуть система закономерных изменений обмена в онтогенезе дигенетического эндопаразита.

Напомним, что скорость замещений на аминокислотный остаток в год крайне невелика и «скорости молекулярной эволюции контрастируют со скоростями фенотипической эволюции» [31]. Скорости замещений на аминокислотный остаток в год ($\times 10^{-9}$) [31] составляют для фибринопептидов — 8,3; для панкреатической рибонуклеазы — 2,1; для лизоцима — 2,0, для гемоглобина — 1,2, для миоглобина — 0,89; для инсулина — 0,44; для цитохрома с — 0,3; для гистона H_4 — 0,01.

Для сравнения укажем, что средняя скорость нуклеотидных замещений в гене β -глобина кролика равна $0,58 \cdot 10^{-9}$ в год.

Можно только согласиться с мнением М. В. Волькенштейна о том, что «за Дарвином следуют фенотипы, но не молекулы», «если бы положение каждой аминокислоты в белке и каждого нуклеотида в нуклеиновой кислоте определялось естественным отбором, то все время, прошедшее с момента “Большого взрыва”, т. е. $15-20 \cdot 10^9$ лет, оказалось бы много меньше времени, необходимого для эволюции» [3].

При рассмотрении возникновения сложных паразитарных систем особенно остро ощущаются противоречия, связанные с несоответствием скоростей молекулярных и фенотипических эволюций.

И все же приемлемое объяснение должно быть. Ведь нельзя отрицать, что сложнейшие жизненные циклы эндопаразитов возникли за относительно короткий геологический срок, что существует огромное разнообразие паразитарных систем, что некоторые свободноживущие простейшие, как *Acanthamoeba culbertsoni*, *A. polyphaga*, *A. castellani*, *A. rhysodes*, *Naegleria fowleri*, *N. jadini*, *N. lowaniensis*, *N. australiensis*, иногда проявляют высокую патогенность в отношении человека, вызывают менингиты с летальным исходом [41]. Не является ли эта высокая патогенность свободноживущих амёб первым шагом на пути к эндопаразитизму?

Нам кажется, что понять возникновение и эволюцию эндопаразитизма (в тех рамках, которые мы выше оговорили) можно только в том случае, если рассматривать это явление в контексте общей эволюции с момента возникновения эукариотов и не ограничиваться небольшим отрезком времени после появления нынешних хозяев — млекопитающих или даже позвоночных.

ЭВОЛЮЦИЯ ДО ВОЗНИКНОВЕНИЯ ЭУКАРИОТИЧЕСКОЙ КЛЕТКИ

Биологическая эволюция началась с появлением систем стабилизации и воспроизводства белковых структур, т. е. с появлением первичного генома.

О возникновении генетического кода, генов и хромосом в процессе молекулярной эволюции высказываются различные, взаимоисключающиеся предположения. Согласно гипотезе, высказанной Лима-де-Фарья в его обстоятельной книге «Молекулярная эволюция и строение хромосом» [32] обмен органических молекул при возникновении биомолекулярных

структур прошел через три последовательные фазы: а) синтез и распад углеводов, аминокислот и некоторых макромолекул неэнзиматическим путем; б) участие энзимов в превращениях биоорганических соединений; в) стабилизация строения белков путем кодирования их первичной структуры в последовательности нуклеотидов ДНК и РНК.

«Ген — поздний пришелец в молекулярной эволюции», — считает Лима-де-Фарья, подчеркивая, что с появлением генов в пробиотической материи установился порядок, появилось точное копирование и резко возросла скорость обмена [32]. Возможно, что сопряжение хемосинтезов с реакциями переноса электронов и включение в обмен макромолекулярной РНК предшествовали появлению генов.

В течение длительного времени безраздельными хозяевами на Земле были прокариоты, летопись которых насчитывает более 3 млрд лет. В последние годы изучение анаэробных метаногенов показало, что, помимо про- и эукариотов, следует выделить по ряду особенностей строения рибосом и нуклеиновых кислот третью группу — группу архебактерий, которые по отдельным признакам близки к прокариотам, по другим — к эукариотам и, видимо, относятся к самостоятельной ветви эволюции живой материи [18].

О масштабах преобразующей деятельности бактерий можно судить по строматолитам, воздвигнутым сообществами цианобактерий в протерозое, об их удивительной консервативности, по крайней мере морфологической, по микрофоссилиям, обнаруженным в реликтовых отложениях: на протяжении всей геологической летописи сохранялись организмы с трихомным типом строения, характерным для синезеленых водорослей.

В последнее время получены интересные данные о сообществах термофильных бактерий в гидротермах, а также о кальдерных сообществах в местах выхода термальных вод в глубинах океана. Среди термофильных хемолитотрофов обнаружено много архебактерий, и это является дополнительным доводом в пользу справедливости экстраполяции современных данных на нижний протерозой и архей и для предположения, что области гидротермальной активности были местами бурного развития жизни в архее, причем биогенное окисление газовых эксгаляций осуществлялось микроорганизмами, подобными современным кальдерным архебактериям. Увлекательное и доступное изложение этих вопросов дано Г. А. Заварзиным [11, 12].

Окислительно-восстановительный градиент, необходимый для развития первичных литотрофных микроорганизмов, потреблявших энергию химических окислительно-восстановительных реакций с образованием нейтральных продуктов, создавался на ранних этапах эволюции, с одной стороны, за счет восстановленных газов, поступавших с эксгаляциями из глубин земной коры, с другой — за счет фотохимических реакций в атмосфере, приводивших к образованию окисленных соединений. В поверхностном слое почвы вблизи гидротермов, в самих гидротермах, в океанской воде вблизи подводных выходов имелись условия для возникновения сообществ самых различных фото- и хемолитотрофных архебактерий, способных окислять H_2 , CO , NH_3 , CH_4 , H_2S , S_0 и другие восстановленные соединения. В течение не менее 1,5 млрд лет цианобактериальные маты перерабатывали все основные компоненты вулкани-

ческих эксгаляций в отсутствие свободного кислорода. Постепенно возникали сообщества вторичных анаэробных гетеротрофов, разлагавших накопившуюся биомассу. Так, из сочетания продукционных и деградиционных ветвей образовались циклы углерода, кислорода, азота, серы, которые постепенно усложнялись и ветвились, причем все новые микроорганизмы включались в циклы, осуществляя отдельные реакции круговорота веществ.

Состав атмосферы Земли является в значительной степени результатом титанической деятельности прокариотических экосистем архея и протерозоя, так же как возникновение колоссального буфера, образованного углекислотой атмосферы в равновесии с бикарбонатами океана. Мы мало что знаем об условиях на Земле 3—4 млрд лет назад. Можно предполагать, что возмущающее действие оказывала тектоническая активность и, напротив, усредняющее влияние оказывало перемешивание масс атмосферы и Мирового океана. Появление озонового щита, мощного бикарбонатного буфера, стабилизация интенсивности биоорганических циклов должны были сглаживать резкие колебания параметров среды и способствовать возникновению экологических ниш, благоприятных для развития прокариотов. Во всяком случае, мы знаем, что эволюция прокариотов шла очень медленными темпами и иначе, чем у высших организмов. При практически неизменной морфологии, у прокариотов возникло множество вариантов биохимических путей обмена: появились, например, водородные, нитрифицирующие, тиоловые и серные, метанокисляющие, карбокси- и железобактерии среди аэробных хемолитотрофов и восстановители сульфата, серы, окислов азота, окисленного железа и других окисленных соединений среди анаэробных хемолитотрофов [12]. Адаптация к изменению условий среды достигалась путем обмена небольшими участками генома и внеядерными мобильными элементами (транспозонами).

Прокариотические сообщества по существу являлись замкнутыми биологическими системами, приуроченными к условиям отдельных экологических ниш. Объединенное переплетением последовательных реакций углерод-кислородного и других циклов с единым генофондом, с четким пространственным распределением сожителей сообщество прокариотов было как бы единым организмом — элементом структуры и эволюции биосферы. Зарождение, развитие и гибель прокариотических сообществ определялись изменением состава среды.

Цианобактерии — типичные прокариоты с фотосинтетическим аппаратом, схожим с хлоропластом красных водорослей, восстанавливали углекислоту с образованием биомассы и выделяли эквивалентное количество кислорода. Газообмен цианобактерий и других фототрофных бактерий-продуцентов явился основным источником кислорода в атмосфере Земли, помимо фотохимических реакций в верхних слоях атмосферы. Удаление кислорода из атмосферы осуществлялось путем окисления неорганических соединений, в основном сероводорода в сульфаты и железа в окислы железа, а также благодаря деятельности микроорганизмов-деструкторов. Геохимический цикл кислорода сопряжен с углеродным и рядом других биогеохимических циклов, образуя уравновешенную систему. Появление следов свободного кислорода в архее

и накопление кислорода в протерозое было, вероятно, обусловлено усилением фотосинтеза в связи с появлением двухквантового фотосинтеза [4] и недостаточной активностью деструкторов, для которых некоторые соединения углерода оказались малодоступными и были выведены из цикла с отложениями горных пород.

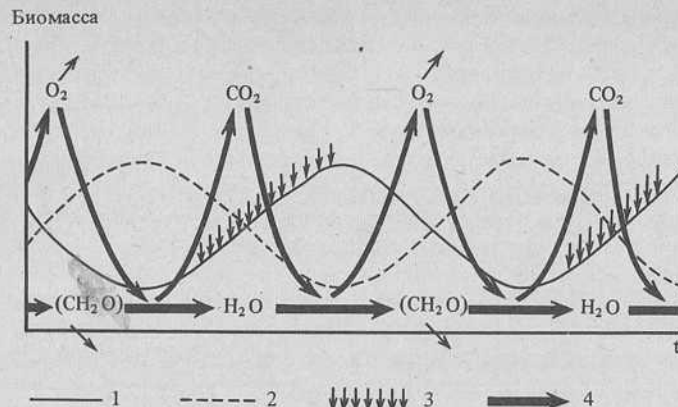
ЗАСЕЛЕНИЕ МЕЛКИХ ВОДОЕМОВ. ПОЯВЛЕНИЕ ЦИКЛИЧЕСКИХ КОЛЕБАНИЙ СОСТАВА СРЕДЫ. ПЕРВЫЕ ЭУКАРИОТЫ

Длительное время (до образования озонового щита), коротковолновая радиация солнца проникала до поверхности Земли и на глубину нескольких метров в толщу воды Мирового океана. Поток ультрафиолетовых лучей, вероятно, значительно ограничивал зоны расселения прокариотических экосистем. В защищенных от ультрафиолета заселенных нишах в зависимости от длины волны проникающего света и строения фотосинтетического аппарата прокариотов, синтез биомассы из углекислоты происходил с выделением или без выделения кислорода. Но даже в том случае, когда фотоавтотрофы, развиваясь в прибрежных экологических нишах под защитой толстого слоя воды, выделяли кислород, последний не накапливался до токсических концентраций, а рассеивался интенсивным перемешиванием воды в прибрежной зоне. Активность фототрофных бактерий подчинялась циклическим ритмам дневной и сезонной инсоляции, но локальные колебания содержания кислорода сглаживались мощным перемешиванием водных масс. Кислород мало растворим в воде, путем диффузии он переходил из океана в атмосферу.

Трудно датировать время появления свободного кислорода в атмосфере и озонового щита. По данным о степени окисленности соединений урана из докембрийских осадочных пород, об окисленности железных руд, о сравнительном распространении изотопов серы, предполагается, что это произошло примерно 1,8—2 млрд лет назад. Быстрое накопление кислорода — с 1 до 10% от современного уровня — произошло на много позже в период от 1 млрд до 500 млн лет назад или несколько раньше.

С образованием озонового щита для сообществ прокариотов открылась возможность самого широкого расселения с освоением прибрежной зоны океана, мелких водоемов, поверхностного слоя почвы и других экологических ниш. Надо думать, что в результате в течение длительного времени (в протерозое) распределение кислорода было гетерогенным, мозаичным, с резкими изменениями в пространстве и времени. В зависимости от условий (изолированности, освещенности, температуры, состава сообщества микроорганизмов и других факторов) окислительный потенциал и наличие кислорода колебались в экологических нишах и микро-нишах. Определенную роль стали играть дневной и сезонный ритмы инсоляции.

Темп эволюции прокариотов зависел от медленных темпов эволюции биологических макромолекул и путей обмена. Как известно, эволюция первичной структуры полипептидов определяется скоростью случайной замены нуклеотидов в кодирующем гене. Считается, что темп эволюции каждого пептида постоянен, но имеются значительные различия в скоро-



Р и с. 35. Схема колебаний содержания кислорода в периодически освещаемой экологической нише

1 — колебания биомассы продуцентов (фотолитотрофов); 2 — колебание биомассы деструкторов; 3 — периодическое освещение экологической ниши; 4 — развитие во времени системы обратимых реакций: $\rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{O}_2 \rightarrow$

стях эволюции отдельных белков. Это приводит к нарушениям согласованности и перестройкам. Эволюция прокариотов в течение миллиардов лет не привела к большим морфологическим изменениям, но создала огромное разнообразие продуцентов и потребителей с анаэробным и аэробным типами обмена. Их объединение в сообщества облегчило выживаемость при медленном повышении окислительного потенциала среды (напомним, что кислород является токсичным конечным продуктом для архебактерий). С возникновением быстрых циклических колебаний окислительно-восстановительного потенциала и содержания свободного кислорода в биотопах наступил критический период: подавлялись и гибли то одни, то другие сочлены прокариотических экосистем.

Мембранные преобразователи энергии и перенос электронов в сопряженных системах окислительно-восстановительных реакций являются древними механизмами, общими для всех прокариотов [15], но особенности строения цепочек переноса электронов у анаэробов, аэробов-гетеротрофов и фотобактерий определяли их избирательную чувствительность к окислительному потенциалу среды, и особенно к его колебаниям.

В этих условиях отбор стал благоприятствовать тем организмам, которые были способны переносить колебания окислительного потенциала и размножаться как в присутствии кислорода, так и без него. Медленные темпы молекулярной эволюции исключали адаптацию, и наиболее реальным путем к выживанию оказалось слияние клеток с анаэробным и аэробным типами обменов и образование новой биологической системы путем эндосимбиоза. Можно предположить, что первые эукариоты возникли 1,5 млрд лет назад [33, 34], в тот длительный неустойчивый период, когда, медленно накапливаясь, то появлялся, то исчезал кислород в отдельных точках гетерогенной и изменчивой (в целом восстановительной) среде поверхностного слоя почвы и мелких водоемов (рис. 35).

Первым эукариотам пришлось выдержать тяжелую и длительную

(в миллиард лет) конкурентную борьбу с сообществами высокоспециализированных прокариотов, чтобы захватить экологические ниши и отвоевать свое место в биогеохимических циклах. Можно думать, что борьбу эукариотов за место в продукционных и деградиционных ветвях облегчило постепенное накопление свободного кислорода, которое привело к исчезновению целого мира анаэробных гетеротрофных бактерий. Лишь немногие представители облигатных анаэробных микроорганизмов сохранились до наших дней в нишах с особыми уникальными условиями.

Если считать, что возникновение эукариотов действительно произошло путем слияния прокариотических клеток с разными типами обмена, то это не могло не сказаться на структуре и функции генома гибридной клетки, особенно если слившиеся прокариоты были филогенетически далеки между собой. Усложнение структуры, появление разных классов повторностей, группировка генов на хромосоме, их мозаичная структура, мобильность и другие особенности, характерные для всех эукариотов, простейших и многоклеточных независимо от различных путей эволюции на протяжении последних 1,5 млрд лет, может быть, объясняются, хотя бы частично, сложностями взаимодействия и слияния геномов высокоспециализированных прокариотических клеток¹. Дополнительным фактором дестабилизации и повышения мутационной изменчивости явилось, видимо, объединение в одной клетке совокупностей генов с разными темпами мутаций: эволюция митохондриальной генетической системы идет в десять раз скорее эволюции ядерного генома.

В дальнейшем жизнеспособность эукариотов была доказана не столько появлением многоклеточных и высших позвоночных животных, сколько продолжающимся до наших дней расцветом простейших как свободноживущих, так и паразитических.

Принято считать, что первые многоклеточные появились, когда содержание кислорода в атмосфере перешло через точку Пастера (1% от современного уровня), но было еще далеко до точки Беркнера—Маршалла (10%). Продолжалось постепенное окисление среды, но мозаичность по содержанию кислорода в экологических нишах сохранялась еще долго, так же как временные циклические колебания окислительно-восстановительного потенциала в микробиотопах. Биоритмы, вероятно, появились с возникновением первой эукариотической клетки.

ЭВОЛЮЦИЯ СРЕДЫ, ПУТЕЙ ОБМЕНА, ГЕНОМА. ЖИЗНЕННЫЕ ЦИКЛЫ

Эволюция среды, путей обмена организмов, заселяющих ее, и их генома — три взаимосвязанных аспекта эволюции биосферы. В период своего безраздельного господства на Земле прокариоты создали стабильные биогеохимические циклы: из активности многочисленных прокариотов слагались продуктивные и деструктивные ветви циклов, но каждая разновидность бактерий всецело зависела от деятельности всей совокупности микроорганизмов, включившихся в цикл. Жесткая взаимосвязь

¹ «Геномы эукариотов более пластичны, чем геномы прокариотов». «Пластичность геномов эукариотов не приобретенная, а примитивная черта» [10].

и интеграция обменов прокариотов в условиях изменчивой среды были возможны благодаря гибкости и приспособляемости на уровне сообщества: менялись соотношения численности популяций бактерий, происходил обмен неядерной генетической информацией. «Голые» молекулы ДНК бактериального генома были практически полностью заняты информацией о путях фото- или химосинтеза органического вещества или о путях его разложения. Деление на аэробов и анаэробов возникло, вероятно, несколько позже, когда проявилось токсическое действие свободного кислорода и выявилась его роль в качестве акцептора восстановительных эквивалентов.

Предпосылкой к появлению эукариотов явилось накопление связанного азота и свободного кислорода: непосредственным толчком были резкие колебания содержания кислорода и органического материала в биотопе, основным следствием — дестабилизация и усложнение генома. Расширились метаболические возможности эукариотической клетки, и, следовательно, повысилась ее стабильность в изменчивых условиях среды, появилась сложная внешняя мембрана с избирательными свойствами, и это привело к тому, что пути внутриклеточного обмена замкнулись в себе и приобрели независимость от путей обмена других сочленов биогеохимических циклов; наконец, резко возросли размеры ядерного генома и число генов, в частности регуляторных и мобильных, и, следовательно, расширились возможности мутационной изменчивости и быстрой эволюции. Скачкообразно возникшие у первых эукариотов усложненный, неустойчивый геном и замкнутый внутриклеточный метаболизм сохранились в основном неизменными до наших дней и с появлением многоклеточных, среди которых неизвестно ни одного облигатного анаэроба, составили молекулярную основу дарвиновской эволюции¹.

Как известно, выдвинуто много теорий происхождения многоклеточных. Эти теории подразделяются обычно на колониальные и неколониальные, причем сам факт обилия гипотез, нередко противоречивых, показывает наше незнание ни истинных путей возникновения многоклеточности, ни факторов, вызвавших возникновение многоклеточных организмов. К эндопаразитам относятся простейшие и низшие многоклеточные, в основном черви, поэтому паразитолога интересует не столько путь возникновения многоклеточных, сколько то общее, что имеется между предками паразитических простейших и червей. Особый интерес вызывают, конечно, аналогии между жизненными циклами паразитических простейших и низших многоклеточных. С этой точки зрения привлекает к себе внимание зоофлагеллятная теория происхождения многоклеточных.

С биохимической точки зрения целесообразность возникновения примитивного многоклеточного организма не сразу очевидна: по сравнению с одноклеточным затрудняется поступление питательных веществ извне и выделение конечных продуктов обмена. В то же время возникно-

¹ Мы касаемся только отдельных аспектов эволюции, которые нам кажутся необходимыми для понимания возникновения паразитизма. Классические работы А. Н. Северцова известны всем; что касается роли физико-химических факторов в биологической эволюции, то о них можно узнать из интересной книги С. Э. Шноля [27].

вание многоклеточных объяснимо, если во внешней среде постепенно возрастает количество какого-либо токсического соединения: объединение в многоклеточную структуру спасает внутренние клетки от неблагоприятного воздействия среды. Развитие и дифференциация многоклеточных произошли в тот период, когда содержание кислорода в среде повысилось примерно в десять раз и среда стала резко окислительной. Многие одноклеточные — полуаэробы, все многоклеточные — аэробы; хотя филогенетически наиболее древние беспозвоночные легко переносят более или менее длительные периоды анаэробнозиса или гипоксии. Но даже у высших позвоночных сохранился низкий окислительно-восстановительный потенциал внутри клеток, в органах и тканях (выше отмечалось, что организм человека построен по принципу «матрешки», что позволяет защитить внутриклеточную среду с низким окислительным потенциалом от окислительной внешней среды). Не явилось ли возникновение многоклеточности одним из способов сохранения тех параметров, в которых когда-то возник общий метаболизм животных [23]?

Жизненные циклы низших многоклеточных и простейших построены по общему принципу, хотя у многоклеточных «жизненный цикл осуществляется одной особью и составляет содержание ее онтогенеза, в то время как у простейших он складывается из длинного ряда сменяющихся друг друга поколений самостоятельных особей и представляет совокупность их онтогенезов» (А. А. Захваткин). Можно считать установленным, что жизненный цикл низших многоклеточных не является результатом их многоклеточности и тем более что жизненный цикл паразитических червей не является следствием их паразитического образа жизни. «Все говорит за то, что оформление дифференцированного цикла явилось и является необходимой предпосылкой возникновения многоклеточности, что циклическая интеграция и дифференциация клеточных поколений во времени на протяжении жизненного цикла необходимо предшествовала их пространственному, физическому объединению» (А. А. Захваткин) [13].

Если исключить членистоногих, то наиболее выраженные жизненные циклы и сложные формы метаморфоза встречаются у самых примитивных представителей низших беспозвоночных (метагенетических гидромедуз и известковых губок). У более высокостоящих многоклеточных жизненные циклы менее выражены, хотя даже у млекопитающих справедлив общий принцип «воспроизведения себе подобных не непосредственно, а через длинную цепь воспроизведения себе не подобных». Последовательные стадии жизненного цикла многоклеточных имеют свои аналоги у свободноживущих (постоянно одноклеточных, простейших). Интересно отметить, что высокорасчлененный прогамный отрезок цикла у многоклеточных, в том числе у паразитических червей, имеет свое подобие в высокорасчлененном цикле паразитических, и только паразитических, простейших.

Что могло способствовать возникновению жизненных циклов у простейших и низших беспозвоночных, циклов, дошедших до наших дней и проявившихся так ярко у эндопаразитических простейших и гельминтов?

В качестве гипотезы, объясняющей возникновение жизненных циклов у простейших и низших многоклеточных в условиях протерозоя, можно

предположить последовательную реализацию генетических информации, полученных эукариотной клеткой от объединившихся двух или нескольких прокариотных. Как уже отмечалось, протерозой был периодом мозаичности среды по содержанию кислорода и колебаниям во времени содержания органики и кислорода в биотопах. При истощении органики, например углеводов, синтезированных фототрофами во время инсоляции, первичная эукариотная клетка могла избежать гибели при условии переключения путей обмена с анаэробных брожений на аэробное расщепление аминокислот или других соединений. Для этого реализовалась генетическая информация, привнесенная в эукариотную клетку аэробной бактерией. С изменением характера обмена, естественно, менялся и облик эукариотической клетки. При возвращении условий в биотопе к исходным эукариотическая клетка восстанавливала прежний облик и прежние пути обмена. Так мог возникнуть жизненный цикл, который оформился и закрепился у эукариотов в протерозое. Возникновение цикла фактически выражало длительную метаболическую зависимость эукариотов от деятельности прокариотных сообществ в периодически освещаемых биотопах. Постепенно эукариоты протомонадного происхождения вытеснили прокариотов-консументов благодаря своей биохимической «двойственности», а эукариоты фитомонадного происхождения заняли свое место среди прокариотов-продуцентов.

Жизненные циклы, возникшие в протерозое, сохранились в наиболее четкой форме у представителей древних, медленно изменяющихся таксонов. Генетическая информация может храниться очень долго: изменились условия, среда стала резко окисленной, с высоким содержанием кислорода, но низшие беспозвоночные не отказались от «развития с личинкой», которое, может быть, и сейчас им дает определенные преимущества. Во всяком случае, эти преимущества очевидны для эндопаразитов: генетически унаследованная способность к развитию в нескольких средах, различных по составу и окислительному потенциалу, — необходимое условие для перехода к эндопаразитизму или, образно говоря, просто «путевка в жизнь» для кандидатов в эндопаразиты.

Палеонтологическая летопись свидетельствует, что биологическая эволюция шла скачками и периоды быстрого развития — периоды ароморфоза по Северцеву — чередовались с периодами относительного затишья — идиоадаптацией. Основной взрывной революционный скачок, видимо, произошел при возникновении эукариотической клетки, он был предположительно вызван неустойчивостью среды и освоением многочисленных новых биотопов в период быстрого накопления кислорода в среде и возникновения озонового щита. В дальнейшем периоды скачкообразных изменений имели место и в эволюции морфологии, и в эволюции путей обмена, и в эволюции генетической информации. Эти три аспекта эволюции живой материи связаны между собой и, конечно, с эволюцией среды, однако каждая эволюция происходила по своим собственным законам, и эволюция генома, например, однозначно не определялась развитием функций и, в свою очередь, однозначно не определяла морфофункциональную эволюцию животных. Эволюции, видимо, шли параллельно, с разными скоростями и при возникновении значительной рассогласованности

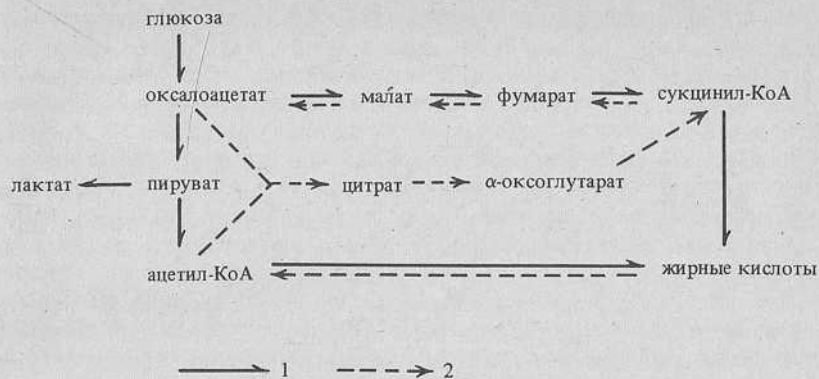


Рис. 36. Схема объединения анаэробных и аэробных путей распада углеводов
1 — анаэробные пути распада углеводов; 2 — аэробные пути распада углеводов

наступали периоды дестабилизации и скачкообразного устранения противоречий между геномом, морфофункциональным развитием и средой.

Говорить о путях обмена животных, живших миллиард лет назад, очень рискованно. Можно только высказать более или менее правдоподобные догадки.

Если при образовании эукариотической клетки слились аэробные и анаэробные пути двух далеко отстоящих прокариотов и образовалась система обмена углеводов (в принципе универсальная для всех эукариотов), то это слияние можно упрощенно представить схематически (рис. 36).

При перестройке обмена согласно схеме, приведенной на рис. 36, затруднительным явилась только инверсия реакций от сукцинил-КоА до оксалоацетата (см. раздел «Обмен углеводов»).

Не должно удивлять объединение в единую схему аэробных и анаэробных путей обмена углеводов, поскольку в обоих случаях промежуточные соединения одни и те же, а цепочки окислительно-восстановительных реакций — обратимы. Возникновение цикла Кребса можно рассматривать как результат соединения через сукцинил-КоА двух анаэробных путей распада углеводов с последующей инверсией реакций превращения дикарбоновых кислот. Подобное объединение могло произойти и с другими цепочками обмена слившихся прокариотов. Метаболические связи установились также между субклеточными органеллами — гликосомами, митохондриями, пероксисомами. Однако, видимо, большая часть полученной информации не использовалась или, если считывалась и транслировалась, то не одновременно, а последовательно, что, возможно, способствовало возникновению жизненных циклов.

С накоплением кислорода в атмосфере теряла свою ценность информация об анаэробных путях обмена, кроме тех отрезков, которые вошли в состав единой схемы внутриклеточного обмена эукариотов. Выраженные жизненные циклы низших многоклеточных свидетельствуют о сохранении в их геноме информации о последовательных стадиях онтогенеза и механизмов, регулирующих последовательное считывание необходимой информации. Сохранилась также способность легко перестраивать пути обмена. Адаптация метаболизма к условиям среды экспериментально

показана у современных простейших, грибов и низших беспозвоночных [28, 29, 33].

От первичных многоклеточных до высших позвоночных лежал длинный и сложный путь эволюции. Дифференциация органов и тканей, усложнение и развитие систем гормональной и нервной регуляции, появление центральной нервной системы были последовательными этапами морфофункционального прогресса. Темпы эволюции были различны: медленные у наиболее древних и примитивных беспозвоночных и быстрые у более высокостоящих животных. В любой работе, посвященной морфологической, функциональной или биохимической эволюции животных, можно найти много примеров возникновения и усложнения функций, появления и эволюции биологически активных макромолекул и специализированных путей обмена. Примерами могут служить эволюция сократительных белков мышц, гормонов, других макромолекул, пигментов крови, подносящих кислород к цепочке тканевого дыхания. В целом можно сказать, что вокруг исходного, первичного, внутриклеточного метаболизма возникли многочисленные вторичные биохимические системы снабжения клеток структурными молекулами и энергетическим материалом, а также выделения конечных продуктов обмена, системы тонкой регуляции интенсивности и направления обмена. Биохимическая специализация органов и тканей дополнилась биохимической интеграцией на уровне организма. В целом пройден впечатляющий путь биохимической дифференциации животных [6, 7].

Не касаясь оценки пройденного пути, отметим отдельные различия между медленно и стремительно развивавшимися таксонами: низшие беспозвоночные сохранили жизненные циклы, у высших позвоночных произошла «эмбрионизация развития». А. А. Захваткин дал следующее определение: «Под эмбрионизацией мы понимаем такое приспособительное видоизменение первобытных форм развития, при котором стадии и процессы, протекавшие постэмбрионально, т. е. вне материнского организма и при дифференцированном состоянии (хотя бы части) клеточного материала этих стадий, вторично приобретают значение эмбриональных стадий и процессов, протекающих под защитой материнского тела (или специально выделяемых оболочек) и до дифференцировки соответствующего клеточного материала». Или более просто: «Эмбрионизация развития приводит в конечном счете к объединению всего жизненного цикла в онтогенезе одной, высокоиндивидуальной особи» [13]; простейшие и низшие беспозвоночные сохранили в геноме информацию о древних метаболических путях и при дерепрессии соответствующих генов могут перестраивать свой обмен в соответствии с изменением среды [29, 33]. У позвоночных, напротив, произошли упрощение и стабилизация путей внутриклеточного обмена. Приобретена новая, но потеряна большая часть древней генетической информации: у человека менее 5% транскриптов кодируют белки. «Именно при прогрессивной эволюции фенотипа, т. е. при возрастании морфофизиологической сложности организма, доля структурных последовательностей в геноме снижается за счет увеличения неструктурных, очевидно, регуляторных» (Медников, 1982). Усиление регуляторных механизмов нередко рассматривается как критерий прогресса [21, 22].

Нам кажется, что, отмечая различия, надо избегать субъективной оценки и очень осторожно применять термины «прогресс» или «регресс». В самом деле, если рядом с нами живут и процветают простейшие и низшие беспозвоночные, например кишечнорастворные, история которых насчитывает много сотен миллионов лет, то должны же они иметь свои преимущества, которые мы не замечаем или которым не придаем значения?

Морфофизиологическое усложнение высших животных компенсировало их биохимическую деградацию и обеспечило их господство в природе. Сохранение жизненных циклов и высокой биохимической «потенции» позволило простейшим и низшим многоклеточным проникнуть в живую материю и расселиться в ней. Не следует забывать, что паразиты более многочисленны и более разнообразны, чем свободноживущие животные и растения.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ЭНДОПАРАЗИТИЗМА

Переход к эндопаразитизму предполагает успешное решение эндопаразитом нескольких сложных общебиологических проблем [26]. Прежде всего встает вопрос об обеспечении энергетических потребностей в среде с пониженным и непостоянным содержанием кислорода (в кишечнике, желчных путях, тканях и органах хозяина). В главе, посвященной углеводному и энергетическому обмену паразитов, приведены примеры перехода эндопаразитов к анаэробным брожениям на отдельных стадиях жизненного цикла, упоминается об усложнении и повышении эффективности брожений и о проблеме удаления конечных продуктов. Можно только заметить, что проблемы биоэнергетики, связанные с возвращением в среду с низким окислительно-восстановительным потенциалом, могут возникнуть и у свободноживущих организмов (простейших и низших многоклеточных) и в принципе они решаются ими так же, как при переходе к эндопаразитизму: снижаются затраты на подвижность и обмен, изменяются концентрации и свойства внеклеточных и внутриклеточных переносчиков кислорода и цитохромов, повышается сродство к кислороду и появляется независимый тип дыхания, развивается сеть частично дублирующих анаэробных и полуаэробных путей и т. д. Такие изменения описаны, например, у простейших и многоклеточных гидробионтов, вторично адаптированных к недостатку кислорода [2]. Вторая биохимическая проблема, которую должен решить эндопаразит, — это обеспечение незаменимым строительным материалом интенсивный биосинтез, связанный с быстрым ростом и крайне высокой активностью репродуктивной системы. Этот вопрос обсуждался выше при рассмотрении обмена белков, аминокислот, пуринов и пиримидинов у эндопаразитов. И здесь эндопаразиты не исключение: те же адаптивные изменения обмена, например пути сбережения пуринов и пиримидинов, реиспользования различных низкомолекулярных фрагментов, описаны у свободноживущих простейших и низших многоклеточных, вторично адаптированных к бедной среде (2). Третья биохимическая проблема специфична для эндопаразитов и заключается в преодолении защитных барьеров и систем организма

хозяина. Быстро накапливаются знания о молекулярных механизмах взаимодействия в системе паразит—хозяин [17] и паразит—переносчик.

Эндопаразитизм может существовать только в том случае, если соблюдается равновесие в системе паразит—хозяин, а также в экосистеме между популяциями хозяина (или хозяев), переносчика и возбудителя. Гибель одного из сочленов влечет за собой гибель всей экосистемы: чтобы существовать, эндопаразит должен достаточно бережно относиться к хозяину и переносчику. Отбор длительно шел в сторону сосуществования. Большую часть биохимического пути к установлению равновесия прошел; конечно, эндопаразит, но определенная адаптация произошла и у хозяина; например, адаптивные мутации гемоглобина и энзимопатии появились у человека в очагах тропической малярии [37].

Закрепление эндопаразитизма и его необратимости были достигнуты двумя основными механизмами, о которых тоже говорилось выше:

выпадением у эндопаразита жизненно важного звена, например биосинтеза холестерина, что ставит его в зависимость от поступления холестерина из организма хозяина. В результате факультативный эндопаразит становится облигатным;

заклеплением в геноме эндопаразита «сценария» прохождения жизненного цикла со сменой нескольких сред обитания и появлением у эндопаразита молекулярного опережающего рефлекса. У свободноживущих высших животных опережающий рефлекс имеется, но на молекулярном уровне он выражен слабо [36], у них рефлекс является надклеточным — гормональным и нервным. Напротив, у эндопаразитических простейших и низших многоклеточных опережающий рефлекс является внутриклеточным и выражается в опережающем биосинтезе тех цепочек ферментов, которые потребуются на следующей стадии жизненного цикла.

В заключение подчеркнем, что рассмотрение начальных этапов биохимической эволюции позволяет многое понять в удивительном и широко распространенном явлении эндопаразитизма, и прежде всего само его возникновение. Эволюция (по Дарвину) не объясняет скачок от свободноживущих, далеких и самостоятельно развивающихся организмов к уравновешенной многокомпонентной биологической системе, объединенной сложным циклом развития эндопаразита. Объяснение становится более простым и убедительным, если заметить, что перешли к эндопаразитизму только представители тех ветвей эволюции, у которых сохранились циклы развития и пластичность обмена древних эукариотов. Проявилась «молекулярно-генетическая преадаптация» к эндопаразитизму. Ничего метафизического в этом нет. Примеры преадаптации приводил еще Дарвин [8], широко обсуждаются эволюция генома и его мобильных элементов [1, 19, 35], их связь с морфофункциональной эволюцией [9, 20], роль преадаптации [5]. Мы предполагаем, что особенности, унаследованные от древнейших предков, дали начало расцвету эндопаразитизма на следующем витке биохимической эволюции.

Возникает, конечно, вопрос о том, исчерпаны ли возможности простейших и низших беспозвоночных к переходу к эндопаразитическому образу жизни или это имеет место и в настоящее время. Думается, что нет оснований для отрицания такой возможности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белозерский А. Н. Нуклеиновые кислоты и их связь с эволюцией, физиологией и систематикой организмов // Вестн. АН СССР. 1971. № 2. С. 37—49.
2. Бидл Л. Адаптация некоторых водных животных к недостатку кислорода и анаэробным условиям // Механизмы биологической конкуренции. М.: Мир, 1964. С. 155—169.
3. Волькенштейн М. В. О нейтралистской теории Кимуры // Молекуляр. биол. 1984. Т. 18, № 6. С. 1705—1709.
4. Гаффрон Г. Роль света в эволюции, переход от одноквантового механизма к двухквантовому // Происхождение предбиологических систем. М.: Мир, 1966. С. 437—456.
5. Георгиевский А. Б. Преадаптация и ее роль в прогрессивной эволюции // Журн. общ. биологии. 1971. Т. 32, № 5. С. 573—583.
6. Гольдовский А. М. О закономерностях биохимических изменений организмов при их морфологическом усложнении в ходе эволюции // Закономерности прогрессивной эволюции. Л.: Ин-т истории естествознания и техники АН СССР. 1972. С. 83—94.
7. Гольдовский А. М. Биохимия и дарвинизм // Биохимия. 1960. Т. 25. С. 3—11.
8. Дарвин Ч. Происхождение видов Соч. Т. III, IV, М.: Л., 1951.
9. Эволюция генома/Под ред. Г. Доувера., Р. Флейвелла М.: Мир, 1986. 367 с.
10. Дулиттл У. Ф. Четырнадцать месяцев концепции «эгоистической» ДНК // Эволюция генома. М.: Мир, 1986. С. 13—39.
11. Заварзин Г. А. Литотрофные организмы. М.: Наука, 1972. 323 с.
12. Заварзин Г. А. Водородные бактерии и карбоксидобактерии. М.: Наука. 1978. 206 с.
13. Захваткин А. А. Сравнительная эмбриология низших беспозвоночных. М.: Сов. наука, 1949. 395 с.
14. Контримавичус В. Л. Паразитизм и эволюция экосистем (экологические аспекты паразитизма) // Журн. общ. биологии. 1982. Т. 43, № 3. С. 291—302.
15. Котельникова А. В. Пути превращения энергии мембранными генераторами в процессе эволюции // Успехи биол. химии. М.: Наука, 1985. Т. 26. С. 153—168.
16. Лысенко А. Я. Этапы изучения, эволюция, филогения, таксономия и география малярийных плазмодиев млекопитающих // Малярийные паразиты млекопитающих. Л.: Наука, 1986. С. 5—29.
17. Лысенко А. Я., Авдохина Т. И. Взаимоотношения малярийного паразита и позвоночного хозяина // Малярийные паразиты млекопитающих. Л.: Наука, 1986. С. 78—107.
18. Панцхава Е. С. Биохимия метаногенеза // Успехи биол. химии. М.: Наука, 1985. Т. 26. С. 169—194.
19. Петров Н. Б. К вопросу о специфичности первичных структур ДНК беспозвоночных животных // Строение ДНК и положение организмов в системе. М.: Наука, 1972. С. 211—136.
20. Петров О. Е. Некоторые вопросы генетики малярийных плазмодиев млекопитающих и эволюционной системы паразит—хозяин // Малярийные паразиты млекопитающих. Л.: Наука, 1986. С. 41—53.
21. Пономаренко А. Г. Развитие регулирующей способности живых организмов // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1969. Т. 3. С. 150—153.
22. Расницын А. П. Увеличение мощности регулятора, как критерий прогресса // Бюл. МОИП. Отд. биологии. 1969. Т. 3. С. 149—150.
23. Расницын А. П. К вопросу о причинах морфофункционального прогресса // Журн. общ. биол. 1971. Т. 32. Т. 15. С. 549—555.
24. Сафьянова В. М. Проблема таксономии лейшманий // Лейшмании. Сер. Протозоология. Л.: Наука, 1982. Вып. 7, № 7. С. 5—109.
25. Сафьянова В. М. Об эволюции взаимосвязи сочленов паразитарной системы лейшманий // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1986. № 2. С. 43—48.
26. Сопрунов Ф. Ф. Молекулярно-генетические механизмы микропаразитогенеза // Паразитология: Теоретические и прикладные аспекты/Под ред. А. П. Маркевича. Киев: Наук. думка, 1985. С. 108—116.
27. Шноль С. Э. Физико-химические факторы биологической эволюции. М.: Наука, 1979. 260 с.
28. Brambl R. Mitochondrial biogenesis during fungal spore germination. Bio-

- synthesis and assembly of cytochrome "c" oxidase in *Botrydipodia theobromae* // J. Biol. Chem. 1980. Vol. 255. P. 7673—7680.
29. *Bryant C.* The regulation of respiratory metabolism in parasitic helminths // *Adv. Parasitol.* 1978. Vol. 16. P. 311—331.
 30. *Coatney G. R.* Evolution of the primate malarias // *The primate malarias* / Ed. G. R. Coatney, W. E. Collins, M. W. Warren, P. G. Contacos. Bethesda (Maryland), 1971. P. 1—9.
 31. *Kimura M.* The neutral theory of molecular evolution. L.; N. Y.: Cambridge Univ. press, 1983. 330 p.
 32. *Lima-de-Faria A.* Molecular evolution and organization of the chromosome. Amsterdam ect.: Acad. ress, 1983. 1186 p.
 33. *Margulis L.* Origin of eukaryotic cells. N. Y.: Yale Univ. Press, 1970. 349 p.
 34. *Margulis L.* Symbiosis in cell evolution. San Francisco Freeman, 1981. 419 p.
 35. *Mattingly D. F.* Evolution of the malarias: the problems of origins // *Parasitologia.* 1976. Vol. 18. P. 1—8.
 36. *Pertman P. S., Mahler H. R.* Depression of mitochondria and their enzymes in yeast: regulatory aspects // *Arch. Biochem. and Biophys.* 1974. Vol. 162. P. 248—271.
 37. *Schopf J. W.* Earliest evidence of fossil eukaryotes // *Chemical evolution of the Early Precambrian* / Ed. C. Ponnanperuna. N. Y.: Acad. press. 1977. P. 107—109.
 38. *Shapiro J., Cordell B.* Eucariotic mobile and repeated genetic elements // *Biol. Cell.* 1982. Vol. 43. P. 31—54.
 39. *Soprounov F. F.* Détermination des constantes d'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène. L' "effet de bascule" de l'oxyhémoglobine et son importance biologique // *Biochimie.* 1974. Vol. 56, N 3. P. 355—362.
 40. *Wakelin P.* Genetics of interaction between host and parasite // *Trop. Disease. Res. Ser.* 1981. N 4. P. 213—235.
 41. *Warhurst D. C.* Pathogenic free-living amoedae // *Parasitol. Today.* 1985. Vol. 1. P. 24—29.

ЗАДАЧИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ПАРАЗИТОЛОГИИ

Молекулярная паразитология возникла недавно как самостоятельное направление развития паразитологии. Сперва возникла молекулярная гельминтология, она выделилась из биохимии и биофизики гельминтов, и ее раннее появление объясняется прежде всего доступностью биоматериала, необходимого для лабораторных работ. В дальнейшем, по мере того как разрабатывались методы культивирования паразитических простейших в искусственных средах, расширялись биохимические и биофизические исследования патогенных простейших. В последние 10—15 лет особое значение приобрело изучение структуры и функции генома эндопаразитов, создание банков генов, применение моноклональных антител и методов генной инженерии для разработки новых методов диагностики эндопаразитозов и их иммунопрофилактики. Это объясняется прежде всего глобальным значением эндопаразитозов человека, сельскохозяйственных животных и культурных растений.

По мере накопления данных о геноме эндопаразитов, обмене у них нуклеиновых кислот, пуриновых и пиримидиновых оснований, белков и аминокислот, углеводов, липидов и других соединений становилось все более очевидным, что молекулярные особенности строения и обмена эндопаразитов определяются не их принадлежностью к простейшим или

многоклеточным, а характером паразито-хозяйинных отношений и особенностями жизненного цикла. Так, если сравнить трансмиссивных кровепаразитов — филлярий и трипаносом — с кишечными нетрансмиссивными паразитами — острицами и патогенными амебами, то с полной определенностью выясняется, что с молекулярной точки зрения эндопаразиты делятся на кровепаразитов, с одной стороны, и на кишечных паразитов — с другой, а вовсе не на гельминтов (филлярий и остриц) и простейших (трипаносом и амеб). Более того, развитие молекулярной паразитологии возможно только при совместном рассмотрении простейших и гельминтов и выделении тех особенностей, которые их характеризуют как эндопаразитов с общей локализацией, у одного хозяина и с близкими циклами развития. Принадлежность к простейшим или многоклеточным накладывает, конечно, свои особенности, но, во-первых, они менее выражены, чем адаптивные изменения к эндопаразитизму, во-вторых, они могут быть учтены, поскольку в ряде случаев они уже изучены. Подразделение молекулярной паразитологии на два независимых направления — молекулярную гельминтологию и молекулярную протозоологию — может только затормозить развитие обоих направлений, не говоря о том, что при этом резко возрастут расходы на научные исследования.

Молекулярная паразитология очень быстро перестала быть только теоретической наукой. Во введении указано, что этому способствовали международные программы ВОЗ, ФАО, ЮНЕП по изучению и организации борьбы с глобальными паразитозами. Полученные данные быстро нашли применение в разработке систематики эндопаразитов и диагностике паразитозов, в создании новых методов профилактики и новых подходов к химиотерапии. По каждому из этих направлений практического применения достижений молекулярной паразитологии можно написать подробный обзор. Мы ограничимся небольшим числом примеров, специально подобранных, чтобы показать разные тенденции развития и потенциальные возможности молекулярной паразитологии.

СИСТЕМАТИКА ЭНДОПАРАЗИТОВ И ДИАГНОСТИКА ПАРАЗИТОЗОВ

В 1974 г. Боурнс писал: «...применение биохимических подходов к систематике паразитических простейших и гельминтов кажется мало-перспективным». Но прошло немного более десяти лет и положение коренным образом изменилось: сейчас никто не отрицает необходимость применения методов молекулярной биологии и биохимии для получения данных, дополняющих морфологическое и микроморфологическое изучение эндопаразитов.

Приводим перечень методов, получивших наибольшее распространение, и некоторые результаты их применения:

1. Электрофоретическое изучение состава изозимов.

В настоящее время отработаны методы подразделения изоэнзимного состава более 100 ферментов. Как правило, легкорастворимые ферменты цитозоля оказываются генетически более изменчивыми, чем структурные белки или ферменты, связанные с мембранами. Не касаясь реальной зна-

чимости различий в электрофоретической подвижности анализируемых белков, следует заметить, что электрофорез в крахмале или полиакриламидном геле может выявить не более 1/3 генетически обусловленных замен аминокислот в первичной структуре белков и что, с другой стороны, многие различия в зимограммах могут быть вторичными, посттрансляционными, вызванными деаминированием остатков глутамина и аспарагина, взаимодействием между сульфгидрильными группами, агрегацией, частичным протеолизом и другими побочными факторами. Изменения на зимограмме могут отражать и реальные изменения, происходящие в течение жизненного цикла. В целом метод оказался намного менее надежным в применении к эндопаразитам, чем к позвоночным, хотя продолжает широко применяться и позволил получить некоторые интересные результаты, как уточнение родства между представителями семейства *Trichomonadidae* [110], между лейшманиями [14, 32, 53, 131], трипаносомами [76, 164, 212] и другими паразитическими простейшими. Изоэнзимный анализ применен к изучению степени родства между паразитическими нематодами [163, 15, 60] и на основании расхождения зимограмм и средней скорости генетической изменчивости генома условно рассчитано, что *Parascaris equorum* и *P. univalens* являются разными видами, дивергировавшими более 10 млн лет назад, что виды *Ascaris lumbricoides* и *A. suum* разделились 1—1,5 млн лет назад, что *Toxascaris leonina* и *Baylisascaris transfuga* относятся к разным родам [103]. Думается, что к этим выводам следует относиться осторожно, поскольку они обычно зависят от состава и числа белков, выбранных для изoenзимного анализа.

2. Двухмерное гель-электрофоретическое разделение суммы белков отдельных клеток и целых организмов [35].

Метод позволяет разделить от одной до двух тысяч белков одновременно и, следовательно, проследить за изменением большого числа потенциально полиморфных белковых маркеров. Метод может уловить видовые различия у позвоночных, а также нарушения экспрессии генов при патологии. Возможно, что метод найдет широкое применение в паразитологии, когда будут разработаны автоматические системы анализа результатов стандартизованных электрофоретических определений и когда будет накоплен достаточный банк данных для сравнения.

3. Применение моноклональных антител для определения эндопаразитов.

К эпитопам антигенов паразитов получены моноклональные антитела, обладающие специфичностью к штамму возбудителя, его стадии развития, виду и, по всей вероятности, роду [35]. Имеются целые наборы многочисленных моноклональных антител к лейшманиям, трипаносомам и плазмодиям, которые используются для обнаружения циркулирующих антигенов, выделения их и очистки, для иммунодиагностических тестов и других целей. Применение набора моноклональных антител для типизации и подразделения изолятов лейшманий иллюстрирует рис. 37.

Моноклональные антитела применены также для характеристики штаммов фасциол и шистосом [211].

4. Технология рекомбинантных ДНК.

		моноклональные антитела к штамму L-137								
		16	27	85	28	34	41	44	3F 11	4B 5
Leishmania tropica	L-137	+	+		+	+	+	+	+	+
То же	L-287	+	+	+	+	+	+	+	+	+
”	L-251	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	L-38	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Leishmania "recidiva"	L-32	+							+	
То же	L-286	+							+	
(из Ирака)										
Leishmania species	L-285	+						+		
” mexicana	L-94				+	+			+	
” donovani	L-52				+	+			+	+
” enrietti	L-144	+		+	+	+		+	+	
Crithidia fasciculata									+	+

Р и с. 37. Идентификация штаммов лейшманий при помощи моноклональных антител, по [35]

+ — реакция положительная

Банки генов паразитических простейших и гельминтов созданы в нескольких странах, в том числе и у нас. Это позволяет выявить различия в строении ДНК и разрабатывать методы диагностики, основанные на гибридизации нуклеиновых кислот [144, 69, 220]. Изучение строения ДНК паразитов представляет большой теоретический интерес, поскольку в последовательности нуклеотидов ДНК, включая кодирующие и молчащие отрезки, записана летопись пройденного пути эволюции. Стабильность темпов эволюции отдельных полипептидов позволяет использовать эти своеобразные «молекулярные часы» для ориентировочной оценки времени возникновения паразитарных систем и темпов их эволюции. С практической точки зрения для диагностики видов и штаммов паразитов интерес представляют следующие (доступные через TDR) биопрепараты: клонированные рибосомные РНК плазмодиев и шистосом; клонированные гены, кодирующие тубулин лейшманий; клонированный ген, кодирующий поверхностный варибельный антиген трипаносом; клонированная ДНК миниколец кинетопластов лейшманий, критидий и трипаносом; клонированная ДНК максиколец кинетопластов лейшманий и трипаносом.

В качестве примера практического применения в паразитологии метода

гибридизации ДНК можно привести недавно разработанные методы диагностики тропической малярии, шистосомозов и лейшманиозов [134].

Для диагностики малярии использован клонированный фрагмент ДНК возбудителя тропической малярии с многократно повторенным специфическим участком. Тест ставят с радиоактивной или биотинмеченной ДНК. Метод позволяет выявить паразитию в 0,001% в 50 мкл крови (напомним, что опытный микроскопист при тщательном и длительном просмотре может выявить паразитию в 0,0002%). Основное преимущество нового метода — в возможности его автоматизации для массовых обследований. Перекрестная реакция с другими видами малярийных паразитов отсутствует, но пока нет уверенности в том, что реакция будет положительной со всеми вариантами возбудителя [42, 56, 99, 174, 183, 143, 233]. Недавно предложен тест, позволяющий обнаружить паразитию в 0,0001% в 10 мкл крови [98, 178].

Для диагностики и подразделения видов шистосом использованы различия в строении гена, кодирующего рибосомные белки. Ген разделен на три фрагмента рестриктазой и клонирован в бактериальных плаزمиде и *Escherichia coli*. Для выявления гибридной ДНК использован радиоавтографический метод [193]. Метод позволяет четко определить следующие виды шистосом: *Schistosoma mansoni*, *S. curassoni*, *S. bovis*, *S. haematobium*, *S. margrebowici*, *S. matthei*, *S. intercalatum*, которые имеют сходие по внешнему виду яйца [227]. Определение видовой принадлежности методом гибридной ДНК можно проводить с яйцами, церкариями или мирацидиями, а также со спороцистами в промежуточном хозяине (в последнем случае положительная проба указывает на зараженность моллюска, но не позволяет уточнить вид паразита). Показана видоспецифичность кинетопластной ДНК лейшманий [20, 21, 41, 93].

Для определения промастиготов патогенных лейшманий разработан метод ДНК: ДНК гибридной ДНК с кинетопластной ДНК миниколец, клонированной в плазмиде *E. coli*. Достаточно 5 тыс. промастиготов, лизированных на нитроцеллюлозных фильтрах, чтобы определить вид лейшманий [67, 138, 230].

Биотехнология только начинает проникать в паразитологию, но можно не сомневаться, что в ближайшем будущем значительно расширится набор диагностических методов, повысится их чувствительность и специфичность и это поможет многое понять в становлении и развитии паразитарных систем.

5. Методы газовой хроматографии, жидкостной хроматографии под высоким давлением, масс-спектропии и ядерного парамагнитного резонанса, е-микроскопии, радиореспирометрии и др. [6, 20, 21, 83, 84, 179].

Разработаны автоматизированные системы анализов, позволяющие определить состав метаболитов и конечных продуктов эндопаразитов [161, 202]. Можно думать, что необходимая аппаратура в скором времени появится в институтах паразитологического профиля и метод «метаболических профилей» получит широкое распространение [205]. В качестве биохимических «маркеров» могут быть использованы специфические конечные продукты паразитов, как разветвленные летучие жирные кислоты у гельминтов или конечные продукты обмена трипрофана у трипаносоматид (табл. 68 [28, 205]).

Таблица 68

**Конечные продукты распада триптофана
у представителей семейства Trypanosomatidae, по [205]**

Систематическое положение	Конечные продукты распада триптофана
Trypanosoma Stercoraria Herpetosoma lewisi	Индол-лактат
» » » musculi	»
Trypanosoma Salivaria Trypanozoon gambiense	Индол-лактат, индол-пируват, индол-ацетат, индол-этанол
» » » equiperdum	Индол-пируват, индол-лактат, индол-ацетат, индол-этанол
Crithidia fasciculata	Индол-этанол
Phytomonas davidii	»

Маркерами могут быть также ферменты паразитов, отсутствующие в клетках хозяина, как, например, холинфосфотрансфераза и этаноламинфосфотрансфераза, которые имеются у *Plasmodium knowlesi* и отсутствуют в эритроцитах хозяина [223].

6. Химическая таксономия паразитов.

Химическая таксономия основана на определении уникальных, специфических для данного рода или вида химических соединений в составе структурных макромолекул или метаболитов паразита, как, например, аскаридол у некоторых нематод, циклические высшие жирные кислоты у некоторых паразитических простейших, кутикулярные парафины у насекомых-переносчиков и др. Химическая таксономия только начинает проникать в паразитологию и на ее основе разрабатываются первые диагностические методы [53, 122, 194].

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭНДОПАРАЗИТОВ НА ИСКУССТВЕННЫХ СРЕДАХ

Развитие экспериментальной паразитологии, на основе которой возникла в дальнейшем молекулярная биология эндопаразитов, долго сдерживалось отсутствием методов культивирования эндопаразитов на искусственных средах. Создание таких методов оказалось сложной задачей. Потребовалось много терпения, усилий и применения сложных сред, содержащих многочисленные питательные вещества и кофакторы роста, чтобы добиться развития в лабораторных условиях некоторых эндопаразитов. Более того, как правило, в питательные среды приходилось включать биологические компоненты — отдельные белки или экстракты из тканей хозяев, без которых не происходило развитие эндопаразитов, простейших или гельминтов. В отдельных случаях оказалось необходимым присутствие сопутствующей микрофлоры.

Культивирование малярийных паразитов. Впервые культивирование в лаборатории эритроцитарных стадий *Plasmodium falciparum* осуществлено в 1976 г. Хейнсом с сотрудниками [120] и независимо от них Трэгером и Йенсенсом [218]. Длительное развитие эритроцитарных стадий получено с применением среды RPMI 1640 с HEPES буфером в аппарате,

приспособленном для поддержания постоянной газовой фазы — 2% CO₂ и 10% O₂ в азоте — над проточным слоем питательной среды, омывающей эритроциты человека, зараженные возбудителем тропической малярии. Исходный метод Трэгера послужил толчком к развитию многочисленных как упрощенных, так и усложненных модификаций. Упрощенные методы используются для изучения действия препаратов на возбудителей малярии [48, 49, 175], усовершенствованные варианты — для получения больших количеств биомассы плазмодиев. Накоплено большое количество данных об условиях, необходимых для развития *P. falciparum* в культуре, о пищевых потребностях возбудителя тропической малярии, о факторах, способствующих или подавляющих развитие [59, 128]. В последние годы разработаны методы длительного культивирования *in vitro* возбудителя малярии грызунов *P. berghei* [159, 160] и четырех видов возбудителей малярии обезьян: *P. knowlesi* с 24-часовым циклом развития, *P. fragile*, близкий к *P. falciparum*, с 48-часовым циклом развития, *P. inui*, близкий к *P. malariae*, с 72-часовым циклом развития, и *P. cynomolgi*, близкий к *P. vivax*, с 48-часовым циклом развития [11, 44]. Сообщения о длительном культивировании *P. vivax* и *P. malariae* совместно с *P. falciparum* не подтвердились, но получено завершение шизогонии *P. vivax* в культуре [52] и налажен метод длительного культивирования возбудителя трехдневной малярии на искусственных средах и в гепатоцитах [151, 152, 158]. Разработано несколько методов синхронизации развития культур, образования гаметоцитов, эксфлагелляции микрогаметоцитов, образования оокинет *in vitro*. Ведутся работы по воспроизведению в лаборатории всего цикла малярийных плазмодиев, предпринимаются попытки получить внеклеточное развитие отдельных возбудителей малярии (*P. lophurae*).

Экзоэритроцитарные (тканевые) стадии развития возбудителей малярии удалось наблюдать в лабораторной культуре гепатоцитов и других клеток лет двадцать назад при экспериментировании с возбудителями малярии птиц *P. gallinaceum*, *P. elongatum*, *P. cathemerium*, *P. relictum*, *P. lophurae*, *P. fallax* [44]. Тканевые формы возбудителей малярии грызунов и млекопитающих оказались очень требовательными к линии клеток, в которых протекает их шизогония [1]. *P. berghei* завершает свой цикл от инвазионного спорозонта через стадию многоклеточного шизонта до инвазионных мерозоитов в линии клеток из легочной ткани эмбриона человека, а также гепатомы. Получен полный цикл тканевой шизогонии у *P. falciparum* [153], *P. berghei*, *P. yoelii* и *P. vivax*. У *P. vivax* недавно описана вторая разновидность мелких пассивных шизонтов, возможно, гипнозоитов, с которыми связана длительная инкубация при трехдневной малярии. Изучены особенности обмена ДНК и белка у *P. falciparum* и механизм проникновения возбудителя тропической малярии в эритроцит [33, 50, 61, 128], а также ультраструктура эритроцитов инвазированных *P. ovale* [149, 150].

В качестве дополнения к вышеприведенным данным о культивировании *in vitro* возбудителей малярии следует привести краткие сведения о культивировании в лабораторных условиях тейлерий, вызывающих тяжелое заболевание крупного рогатого скота. Тейлерии принадлежат к семейству Theileriidae, отряду Piroplasmida, классу Sporozoa, они переносятся

Таблица 69

Культивирование *in vitro* отдельных стадий развития *S. mansoni*

Развитие яиц	В течение 4—8 ч
Вылупление	» 2—4 дней
От мирации до материнской спороцисты	» 10 дней
От материнской до дочерней спороцисты	Не удается в лаборатории
Дочерняя спороциста	В течение 3 недель
До вторичной дочерней спороцисты	» 7 дней
От спороцисты до церкарии	Не удается в лаборатории
От эмбриона до церкарии	В течение 4—7 дней
Церкарии	» 18 ч
От церкарии до шистосомулы	» 24 ч
Шистосомулы	» 10—15 дней
До неполовозрелой взрослой стадии	» 5 недель
До оплодотворенных яиц	Не удается в лаборатории
Взрослая стадия	В течение 2—3 мес.
Откладка жизнеспособных яиц	» 3—7 дней

клещами, у них шизогония протекает в лимфоидных клетках, имеется внутриэритроцитарная стадия. Любопытным является то, что тейлерии, развиваясь в лимфоидных клетках хозяина, изменяют свойства этих клеток и темп их деления в клеточной культуре. Паразит и клетка-хозяин образуют как бы единую биологическую систему, в которой синхронизированы ритмы деления клетки и паразита. Это позволяет накапливать в массовых культурах значительное количество биологического материала для получения антигена. Лабораторные культуры получены с *Theileria annulata*, *T. parva*, *T. hirsi*, *T. lawrencii* и др. [54].

Культивирование трипаносом. Попытки получить лабораторные культуры кровяных форм африканских трипаносом долгое время оканчивались неудачно: кровепаразиты изменялись морфологически и теряли патогенность для млекопитающих. Только в последние десять лет удалось разработать методы культивирования *in vitro* трипомастигот *Trypanosoma brucei* и *T. rhodesiense* в присутствии слоя фибробластов или эпителиальных клеток [123, 124]. При этом кровепаразиты сохраняли патогенность в течение трех лет. Кровяные формы трипаносом очень чувствительны к малейшим изменениям среды и лишь недавно удалось подобрать условия для полного завершения цикла развития *T. brucei* в лабораторной культуре. Культивирование *in vitro* *T. cruzi*, возбудителя болезни Шагаса, не представляет особенного труда, и разработаны методы получения больших количеств трипомастигот и амастигот *T. cruzi* [117].

Культивирование лейшманий. Имеются эффективные методы массовых культур промастигот и амастигот лейшманий на средах, разработанных для поддержания культур клеток млекопитающих и насекомых. Описаны проточные системы и ферментаторы. В последнее время стараются перейти на химические среды, содержащие смеси солей, аминокислот, витаминов, сахара, а также буфер, гем, бычий альбумин. Применение сред с известным химическим составом позволило уточнить питательные потребности лейшманий, видимо, еще не полностью известных [121], и получить необходимый биологический материал для изучения строения генома и первичной структуры отдельных генов у *L. major* [46, 121].

Таблица 70

Состав среды для образования спороцист у *S. mansoni* [116]

Компонент	Количество, мг/л	Компонент	Количество, мг/л
β-аланин	150	Альфа-кетоглутарат	60
L-аргинин	120	Фумарат	30
L-аспартат	120	Малат	30
L-цистеин	18	Сукцинат	30
L-цистин	30	Гидролизат дрожжей	600
L-глутамат	240	Глюкоза	600
L-глутамин	540	Трегалоza	600
Глицин	75	Хлористый кальций	180
L-гистидин	120	Хлористый калий	480
L-изолейцин	45	Монофосфат калия	135
L-лейцин	45	Сульфат магния	1100
L-лизин	495	Хлористый натрий	630
L-метионин	240	Бикарбонат натрия	120
L-фенилаланин	45	Дифосфат натрия	210
L-пролин	510	Галактоза	2 г/л
L-серин	75	L-цистеин	1 мМ
L-треонин	105	Глютатион	0,5 мМ
L-триптофан	30	Сыворотка крови	10 %
L-тирозин	150		
L-валин	90		

Примечание. Состав близок к составу среды для культивирования клеток дрозофилы (среда Шнайдера); последние три компонента добавлены дополнительно, pH среды — 7,0. Состав газовой фазы: 0,5% CO₂+1—9% O₂+90—98% N₂; температура 25°.

Культивирование шистосом. Большинство стадий жизненного цикла возбудителей шистосомоза человека *Schistosoma mansoni*, *S. japonicum*, *S. haematobium* могут протекать *in vitro* в тщательно подобранных средах, однако пока не удается получить весь цикл развития шистосом в искусственных условиях (табл. 69). [116].

На каждой стадии цикла развития паразит предъявляет особые, иногда довольно сложные требования к составу питательной среды (табл. 70). Например, для обеспечения образования спороцист у *S. mansoni* нужна среда состава, данного в табл. 70.

Развитию исследований по культивированию эндопаразитов на искусственных средах сильно способствовали производство и поступление в продажу самых различных, как простых, так и сложных, питательных сред, специально разработанных для культивирования *in vitro* тканевых клеток млекопитающих, насекомых, моллюсков. Облегчила поисковую работу возможность получать стандартизованные линии клеток для гибридной технологии, для добавления в среду развития паразитов и для других целей. Чтобы быстро идти вперед, наука должна опираться на высокоразвитую промышленную технологию.

Культивирование филярий. Пока не удалось достичь заметных успехов в разработке методов культивирования филярий на искусственных средах. Личинки отдельных видов (*Dirofilaria immitis*) могут выживать в течение 8—10 дней и даже проходить линьку в среде с плазмой крови и экстрактом из куриных эмбрионов, но половозрелые филярии, которые в естественных условиях живут годами в организме позвоночного хозяина, быстро

погибают в искусственных средах, даже обогащенных кофакторами и экстрактами из эмбриональных тканей. Приходится признать, что мы еще очень мало знаем о молекулярной адаптации филярий к организму хозяина. Между тем эти знания крайне необходимы для разработки методов массовых культур и экспериментального изучения таких широко распространенных филярий, как *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Loa loa* или *Onchocerca volvulus* [181].

* * *

Здесь приведены только некоторые примеры результатов, полученных при попытках культивирования эндопаразитов *in vitro*. Многие лаборатории и у нас и за рубежом разрабатывают методы выращивания эндопаразитических простейших и гельминтов на искусственных средах. Все понимают, что без этого невозможно развитие экспериментальной паразитологии, включая молекулярную паразитологию, невозможен прогресс иммунологии, химиотерапии, профилактики. И все же надо признать, что культивирование эндопаразитов-эукариотов оказалось значительно более трудноразрешимой проблемой, чем культивирование паразитов-прокариотов. Предстоит справиться со многими трудностями и, может быть, попытаться разработать новые подходы. Как бы то ни было, можно не сомневаться, что в ближайшие годы расширится список эндопаразитов, культивируемых *in vitro*.

ИММУНОПРОФИЛАКТИКА

Общие вопросы иммунологии паразитарных болезней в этой монографии не рассматриваются. По иммунологии паразитов человека имеются интересные работы Е. С. Лейкиной, Н. Н. Озерецковской и др. [10, 16, 17, 23, 24, 26], к ним мы отсылаем читателя. Однако при разработке некоторых конкретных вопросов, как конструирование противопаразитарных вакцин, все шире используются данные молекулярной паразитологии и применяются методы генной инженерии. На этом следует кратко остановиться.

Эндопаразит находится в непосредственном контакте с внеклеточной или внутриклеточной средой организма хозяина или с клетками, выстилающими желчные, мочеполовые пути или кишечный тракт хозяина. На поверхности клеточной мембраны паразита или в наружном слое кутикулы гельминта разыгрываются молекулярные взаимодействия, от которых зависит судьба паразита. Наиболее яркие примеры молекулярной борьбы между паразитом и хозяином дает рассмотрение строения и функции поверхностных молекул, покрывающих тело кровепаразитов.

Напомним, что поверхностный слой трипаносом, например *T. brucei*, имеет толщину в 10—12 нм и состоит из $10 \cdot 10^6$ одинаковых молекул гликопротеида [52]. Гликопротеид содержит 500 аминокислот [60] (рис. 38).

Иммуноактивный гликопротеид фиксирован на мембране при помощи фосфолипидов [67, 201] и может легко отщепляться специфической фосфолипазой, которая активна на одних стадиях цикла развития и репрессирована на других [47, 113, 185]. Изучена структура кодирующих генов



Р и с. 38. Строение поверхностного гликопротеида *Trypanosoma brucei*, по [52]
1 — сигнальный пептид (20 аминокислот); 2 — варибельный участок (360 аминокислот); 3 — гомологичный участок (100 аминокислот); 4 — гидрофобный участок (20 аминокислот)



Р и с. 39. Строение поверхностного полипептида спорозонта *Plasmodium falciparum*, по [78]

1 — сигнальный пептид (20 аминокислот); 2 — полярный участок (32 аминокислоты); 3 — 41 тандемный повтор тетрапептидов, из них 37 идентичных (164 аминокислоты); 4 — полярный участок (21 аминокислота); 5 — фиксирующий участок (22 аминокислоты)

и первичное строение гликопротеида [55, 68, 97], механизм реализации вариантов структуры, их более 500 [51], показана возможность одновременного считывания и трансляции двух генов во время смены поверхностных антигенов [66]. Еще не все известно о триггерных механизмах, регулирующих биосинтез поверхностного гликопротеида [34, 71, 72, 90, 102], но соревнование на скорость между сменой трипаносомой белковой антигенной оболочки и выработкой антител хозяином, бесспорно, выигрывает кровепаразит. В данном случае изучение на молекулярном уровне защитных механизмов трипаносом привело не к созданию защитных вакцин, а к пониманию того, что в настоящее время мало надежды на их разработку. Некоторым утешением может служить тот факт, что удалось наладить иммунодиагностику африканских трипаносомозов.

Работы по изучению антигенов и созданию вакцин против малярии ведутся в последнее время широко, интенсивно и в самых различных направлениях [45, 80, 36, 77, 65, 73, 133, 118, 168, 204, 207, 140, 169, 166, 226, 142, 203, 222, 128, 51, 104, 137, 167]. В принципе возможны вакцины, действие которых направлено на разные стадии жизненного цикла плазмодиев: спорозонты, мерозонты, гаметы, зиготы и оокинеты. Наиболее продвинулась разработка антиспорозонтной и антимерозонтной вакцин как за рубежом, так и в нашей стране. Возбудители малярии являются внутриклеточными паразитами и у них нет такого совершенного механизма смены поверхностных антигенов, который описан у трипаносом. Однако у плазмодиев тоже выработаны механизмы избежания иммунного ответа хозяина: смена поверхностных антигенов от стадии к стадии при прохождении цикла развития и многократно повторенные эпитопы, для инактивации которых требуется большое число молекул антител [108]. Приводим схематическое строение молекулы поверхностного полипептида спорозонта *P. falciparum* (CS-белок содержит 421 аминокислотный остаток) [78] (рис. 39).

CS-белки изучены у *P. berghei*, *P. knowlesi*, *P. falciparum*, *P. vivax* и *P. cynomolgi*. Они отличаются по строению и молекулярной массе, но имеют некоторые идентичные участки [170, 200]. Считают, что CS-белки спорозонтов ответственны за инвазию гепатоцитов, поскольку фрагменты полипептидной цепи антиспорозонтных моноклональных антител

взаимодействуют с эпитопами CS-белков и препятствуют внедрению споровозитов в гепатоциты [39].

Гены, кодирующие CS-белки, клонированы и определены их нуклеотидные последовательности. Заложены банки генов *P. knowlesi* [92, 170], *P. falciparum* [95], *P. cynomolgi* [94] и определены последовательности, кодирующие эпитопы: 12 tandemных повторов додекапептида у *P. knowlesi*, 23 повтора тетрапептида у *P. falciparum*, десять повторов у *P. cynomolgi*. На рис. 39 схематически показано строение CS-белка спорозонта *P. falciparum* и полипептида (200 кД) зрелого шизонта *P. falciparum* [167, 207].

Ниже приводится строение кодирующих генов и поверхностных полипептидов спорозонта и зрелого шизонта *P. falciparum*

Спорозонт:	TGCT	GAA	GAA	AAT	GTT	GAA	GAA	AAT	GTT	} × 20
		глут.	глут.	асп.		вал.	глут.	асп.	вал.	
Зрелый шизонт:	GGG	CCA	AAT	GCA	AAC	CCC	AAT	GCA	AAC	} × 23
		про.	асп.	ала.	асп.	про.	асп.	ала.	асп.	

Удивляет сходство в строении полипептидов, синтезируемых на разных стадиях развития возбудителя тропической малярии. В обоих случаях основой построения полипептидов служат многократно повторенные тетрапептиды. Тетрапептиды отличаются между собой, но общий план строения белка сохранен [112]. С этим, видимо, связана важная для паразита функция отторгаемого белка. Высказано предположение, что тетрапептиды вызывают мощный иммунный ответ со стороны хозяина; ответ истощает иммунную систему хозяина без особого вреда для паразита, который активно синтезирует и сбрасывает в кровяное русло множество полипептидов с многократно повторяющимися тетрапептидами [88, 108].

Интересная особенность обнаружена при изучении ДНК *P. falciparum*. Оказалось, что нуклеаза из маша (золотистой фасоли) разрезает нить ДНК *P. falciparum* точно по обе стороны генов [141], что позволяет избежать выделения мРНК и получения комплементарной ДНК для банка генов.

В настоящее время антиспорозитные вакцины производятся методом рекомбинантной ДНК или путем химического синтеза. Небольшие синтетические пептиды фиксируются на носителе или белке, как правило, используется адъювант. Первые антиспорозитные вакцины промышленного производства прошли испытания в лаборатории (тест иммунопреципитации на спорозонтах и тест предупреждения внедрения в гепатоциты) на модельных животных (обезьянах *Aotus trivirgatus* и *Saimirus sciureus*, восприимчивых к *P. falciparum*) и в настоящее время испытываются на добровольцах. Двумя комитетами экспертов ВОЗ уточнены правила испытания противомаларийной вакцины, предусматривающие четыре последовательных этапа испытаний [180].

К экзоэритроцитарным стадиям плазмодиев вакцины пока не разрабатываются, однако показано наличие у тканевой формы видо- и стадий-специфического антигена [91]. Усовершенствуются методы культивирования тканевых форм плазмодиев *in vitro*, и это облегчит изучение специфических антигенов.

Полипептиды, выделяемые при внедрении мерозонта в эритроцит, прохождении шизогонии, разрыве эритроцита и выделении мерозонтов, изучены в многочисленных лабораториях [68]. Накопившийся большой фактический материал нуждался в систематизации и при ВОЗ был создан реферативный центр для идентификации и сравнения между собой многочисленных описанных антигенов эритроцитарных стадий плазмодиев (более 200 полипептидов).

Шизонты разных видов малярийных возбудителей содержат высокомолекулярный белок (190—230 кД), который синтезируется на последних стадиях эритроцитарного цикла и выделяется при разрыве мембраны эритроцита. Это гликопротеид с поверхностно расположенными штаммоспецифическими эпитопами [82]. Другой полипептид (96 кД), синтезируемый трофозонтами и молодыми шизонтами, содержит многочисленные tandemные повторы олигопептидов, обрамленные участками полярных аминокислот [64, 210, 225]. Полипептид применен для вакцинации и показал защитное действие.

Поверхностные антигены мерозонтов играют предположительно важную роль в распознавании сиалогликопротеинов (гликофоринов) на эритроцитарной мембране [130]. Получены антитела, блокирующие *in vitro* проникновение мерозонтов в эритроциты.

В качестве потенциальных кандидатов для создания на их основе антималярийных вакцин следует еще упомянуть «стабильный» белок *P. falciparum* (S-белок), который выдерживает температуру в 100°, и «обогащенный гистидином» белок в выступах на мембране пораженных *P. falciparum* эритроцитах.

Термостабильный белок водорастворим и содержит полипептиды с повторами различных олигопептидов. Гены, кодирующие S-полипептиды, клонированы из банка кДНК: экспрессируемые антигены взаимодействовали с иммунной сывороткой. Богатый гистидином белок был впервые очищен из цитоплазматических гранул трофозонтов [134]. Молекулярная масса полипептида 45 кД, содержание гистидина 70%. Первичная структура полипептида *P. lophurae* и кодирующего его гена выяснены [188], показана перекрестная реактивность богатых гистидином белков от *P. lophurae* и из выступов *P. falciparum* [132].

Поиски вакцин, действующих на гаметы, зиготы и оокинеты *P. gallinaceum*, *P. yoelii*, *P. falciparum* и *P. vivax*, пока не дали четких результатов.

Применение гибридной технологии и методов рекомбинантных ДНК стали в последние годы все шире применяться к изучению гельминтов, но пока трудно говорить о применении методов генной инженерии или биотехнологии при разработке основ иммунопрофилактики гельминтозов и протозоозов, вызываемых другими простейшими, кроме плазмодиев.

Методы биосинтеза антигенов паразитов в бесклеточных системах и их экспрессии после включения в *E. coli* применены к изучению антигенов шистосомул *Schistosoma mansoni* [40, 125], эффекторных механизмов регуляции иммунного ответа [62], стадий-специфичности поверхностных антигенов [136, 164], появления антигенов в крови хозяина [206] и другим вопросам. Заложены банки генов кДНК *S. mansoni* и выделены клоны,

пригодные для целей иммунодиагностики [70] или тормозящие развитие шистосом [75]. Подобные исследования проведены на *Taenia taeniaeformis*, *Toxocara canis*, *Onchocerca volvulus* [60, 105, 173, 184, 215].

* * *

В последнее десятилетие достигнут значительный прогресс в изучении молекулярных основ иммунологии паразитарных болезней, о чем свидетельствуют многие прекрасно написанные обзоры [126, 135, 226]. Из накопившихся фактов можно сделать несколько осторожных обобщений: эндопаразиты стараются уйти от иммунного ответа хозяина путем изменчивости молекулярных поверхностных структур, которые соприкасаются с организмом хозяина. Это явление характерно для всех эндопаразитов, но оно особенно выражено у кровепаразитов: трипаносом, филарий, шистосом. Следовательно, интенсивный обмен веществ во внешней мембране (ускоренный обмен молекул, отторжение поверхностного молекулярного слоя, интенсивный обмен электролитов и неэлектролитов с организмом хозяина) определяется паразитическим образом жизни и особенно локализацией в теле хозяина.

Болезни, вызываемые паразитированием прокариотов, часто завершаются выработкой длительного иммунитета, при паразитозах возникает, как правило, нестойкий и краткосрочный иммунитет. Вакцины, защищающие от многих болезней, вызываемых прокариотами, были получены простыми методами, когда еще не существовало ни молекулярной генетики, ни современной биологии. С тех пор биологическая наука сделала колоссальный скачок и располагает сегодня удивительно мощными и тонкими методами исследования. Проблема создания вакцин против возбудителей эукариотов не представлялась вначале очень сложной. Прошли десятилетия усилий крупнейших научных центров, мы теперь знаем первичную структуру многих белков паразитов и строение эпитопов, кодирующих генов, методами генной инженерии синтезированы сложные полипептиды и испытаны в качестве вакцин. Выявлены молекулярные основы иммунного ответа хозяина и генетические механизмы, определяющие интенсивность этого ответа. Мы поняли, что стабильность паразитарной системы — результат длительной адаптации ее сочленов и биохимической интеграции. Разработка эффективных вакцин при паразитозах оказалась сложной задачей, это видно на примере разработки антималярийной вакцины.

Работа по международной программе разработки противомаларийной вакцины продолжается. С 1983 г. выдано 13 патентов на противомаларийную вакцину (из них 5 — по заявкам фирм и лабораторий США, 5 — по заявкам из Англии), проводятся первые опыты в полевых условиях, но вакцина в продажу не поступила и неизвестно, когда она будет доступна для применения в очагах. Материалы и отчеты ВОЗ [208, 209] дают представление о трудностях на пути создания вакцины.

Первая трудность вызвана тем, что имеется четыре вида возбудителя малярии человека (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* и *P. malariae*), и каждый проходит несколько стадий развития в организме человека. Антималярийные вакцины видо- и стадийспецифичны, следовательно, общее число возможных противомаларийных вакцин достигает двенад-

цати и даже больше. К счастью, относительно редко стоит вопрос об одновременной вакцинации против нескольких видов возбудителя: ареалы распространения видов перекрываются лишь частично и обычно имеется превалирующий в данной местности вид плазмодия малярии.

Вторая трудность объясняется различиями в действии вакцин в зависимости от стадии развития паразита, на которую направлено действие вакцины:

- применение спорозитной вакцины может снизить заболеваемость в очаге, тяжесть проявлений и смертность от малярии;

- применение мерозитной вакцины может снизить тяжесть болезни и смертность;

- применение вакцины против половых форм может снизить только интенсивность передачи малярии.

Для эффективного оздоровления эндемичного очага желательна поливалентная, комбинированная вакцина.

Следующая трудность связана с кратковременным действием противомаларийных вакцин. У населения природного очага может наблюдаться состояние длительного нестерильного иммунитета, но это состояние поддерживается за счет постоянной реинвазии [189]. Без повторного заражения иммунитет практически угасает в течение полугода. Чтобы достичь оздоровления очага, нужна вакцина, вызывающая длительный и стойкий иммунитет, иначе вакцинацию населения придется проводить многократно.

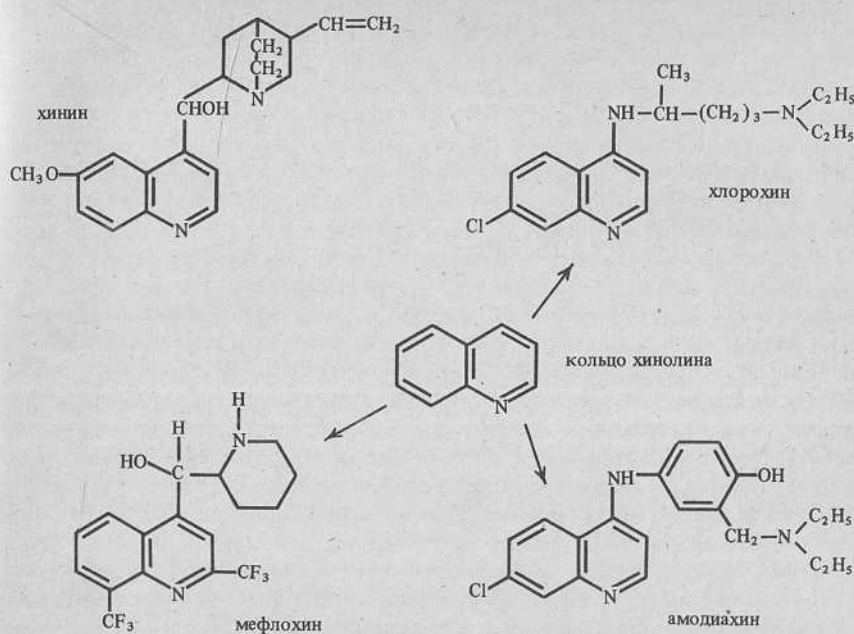
И наконец, вакцинация многих миллионов людей возможна только в том случае, если вакцина будет дешевой. Методы генной инженерии, применяемые для получения антималярийной вакцины, являются дорогими, по крайней мере на сегодняшний день. Противомаларийная вакцина, если она действительно будет создана в ближайшее время, будет применяться не для оздоровления эндемичных очагов, а для защиты мобильных контингентов, туристов, специалистов и др.

Перечисленные выше трудности действительно очень серьезны, но преодолимы. Развитие биотехнологии настолько стремительно, что хочется верить в осуществимость мечты о живом рекомбинантном вирусе, способном сохраняться в организме привитого и длительно вырабатывать все антитела, необходимые для поддержания стойкого иммунитета. В таком случае станут возможны подавление передачи, снижение заболеваемости и облегчение клинического течения малярии и в дальнейшем оздоровление очагов.

ХИМИОТЕРАПИЯ ПАРАЗИТОЗОВ

В химиотерапии паразитарных болезней долгое время преобладал эмпирический подход: поиск новых химиотерапевтических соединений вели среди многочисленных аналогов лечебного препарата, выделенного из растения, издавна известного в народной медицине.

Химиотерапия малярии. Лечебные свойства коры хинного дерева были известны с давних времен. Дерево, кора которого «излечивает от лихорадки», было названо Линнеем в 1749 г. *Cinchona*, по имени жены вице-короля Перу графини de Chinchon. Графиня была излечена в



Р и с. 40. Хинин и антималярийные препараты, производные хинина

1630 г. от лихорадки при помощи настоя из «перуанской коры». В Европе целебная кора стала известна с середины XVII столетия, и кардинал Жуан де Луго предложил миссионерам, выезжающим в дальние страны, принимать регулярно настой из коры «лечебного дерева». В 1820 г. во Франции из коры были выделены два основных алкалоида — хинин и синхонин — и вскоре началось промышленное производство хинина из хинного дерева. Плантации *Cinchona ledgeriana* на Яве давали до 10 тыс. т коры в год в 30-х годах. Несмотря на это, производство хинина отставало от потребностей. Поиску синтетических соединений, заменяющих хинин растительного происхождения, способствовали войны: страна, отрезанная от растительного сырья, стремилась разработать методы синтеза активного аналога хинина. Первое активное соединение — плазмохин — получено в начале 20-х годов, следующее — атебрин — в начале 30-х. Активное участие в этих исследованиях принимали советские ученые. Вторая мировая война дала новый толчок к ускоренному поиску активных соединений среди производных 4-амино- и 8-аминохинолинов, 2,4-диаминопиримидинов и других классов химических соединений [45].

Хинин был основой поиска противомалярийных препаратов, и химическое строение хинина служило прообразом при синтезе многочисленных вариантов с предполагаемой антималярийной активностью (рис. 40).

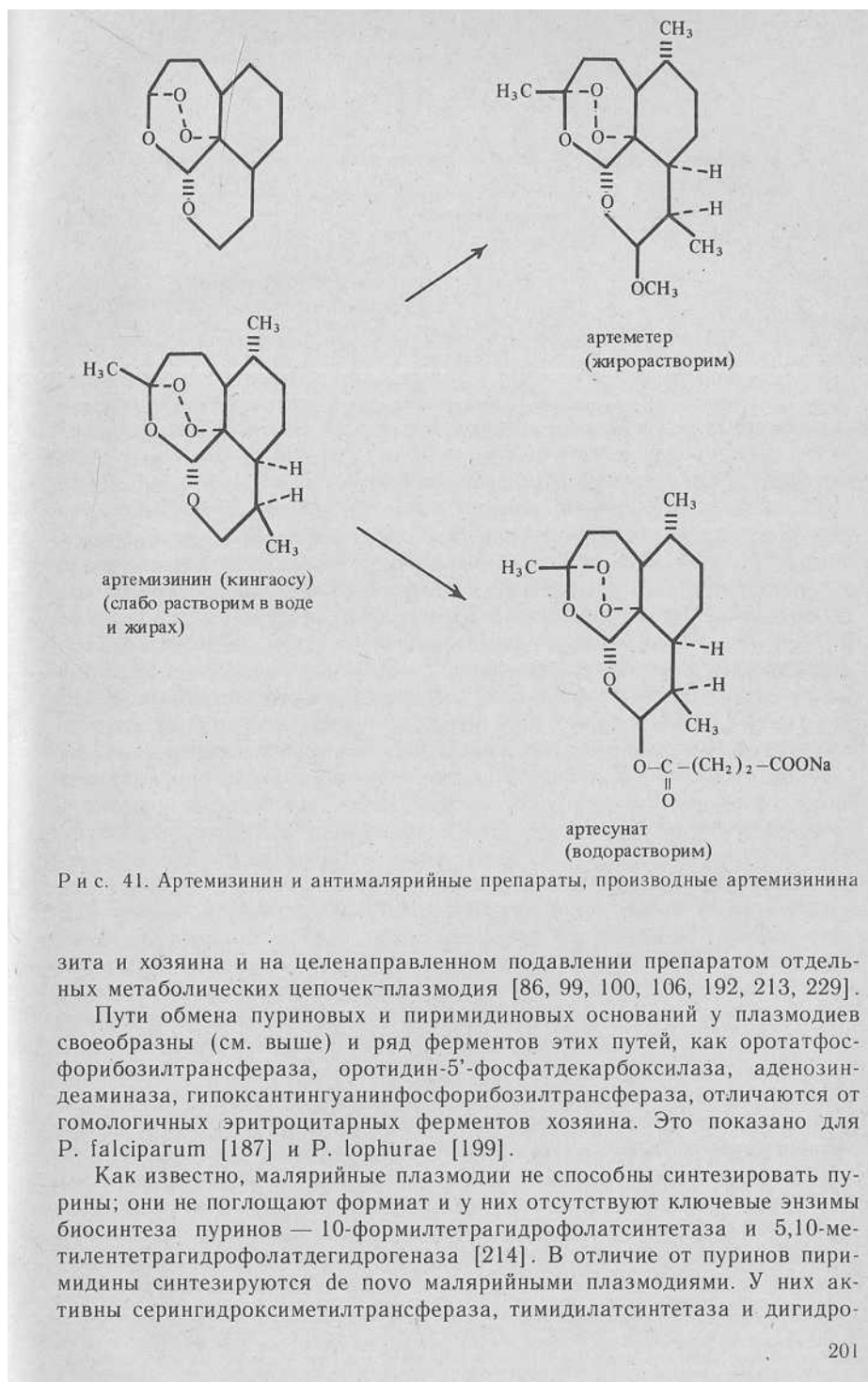
В конце прошлого столетия, примерно через десять лет после открытия Лавраном возбудителя малярии человека, Данилевский описал возбудителя малярии птиц, и это позволило разработать первую лаборатор-

ную модель для скрининга активных соединений. После второй мировой войны был открыт возбудитель малярии грызунов и создана более удобная модель для скрининга препаратов на мышах. В 1965 г. было показано, что ночные обезьяны *Aotus trivirgatus* болеют тремя видами малярии человека. Наконец, большую роль в поиске новых препаратов сыграли методы культивирования *in vitro* кровяных стадий возбудителя тропической малярии и культивирования на гепатоцитах тканевых стадий малярийных плазмодиев [1, 11, 151, 152].

В разных странах, в том числе и в Советском Союзе, были синтезированы и испытаны многочисленные потенциальные антималярийные соединения. Представление о масштабах и результатах скрининга могут дать данные о работе, выполненной в Институте Уолтера Рида за последние 12 лет. Более 250 тыс. соединений, синтезированных по аналогии с известными активными молекулами, прошли проверку на антималярийную активность на мышах, зараженных *P. berghei*. Наиболее активные 170 соединений проверены затем на зараженных малярией обезьянах. Отобранные таким образом 26 соединений подвержены далее фармакологическим и токсикологическим исследованиям и, наконец, 11 соединений или комбинаций прошли полные клинические испытания. В результате выявлены четыре класса потенциальных антималярийных препаратов: 4-хинолинметанола, 9-фенантренметанола, 2,4-диаминохиназолины и 2,4-диаминотриазины. Основным результатом этой titанической работы было создание мефлохина (производного 4-хинолинметанола), который, однако, до сих пор не поступил в широкую продажу, и особенно галофантрина, производство которого начато на заводе одной из английских фирм. Изучается механизм действия отдельных препаратов [66, 221], испытываются их комбинации [119].

Другим примером разработки противомаларийного препарата, исходя из опыта народной медицины, может служить выделение артемизинина из однолетней полыни (*Artemisia annua*). Лечебные свойства настоя из однолетней полыни при лихорадочных заболеваниях были издавна известны традиционной медицине народов Средней Азии и Китая. В 1970—1980 гг. в Китае начато выделение и изучение активного начала однолетней полыни. Выделен артемизинин, в молекуле которого содержится триоксановое кольцо, и ведется поиск активных соединений среди аналогов артемизинина (рис. 41). В нашей стране имеется большое разнообразие подвидов однолетней полыни и тоже изучаются антималярийные препараты из растительного сырья. Первые лабораторные опыты показали высокую активность отечественного аналога артемизинина в отношении возбудителя тропической малярии, активность, превышающую действие синтетических аминохинолиновых шизонтоцидов.

Поиск противомаларийных препаратов растительного происхождения будет продолжаться, известны, например, лечебные свойства некоторых растений Вьетнама; в Лаосе имеются лианы, настой которых обладает противомаларийным действием. Можно также не сомневаться, что хинин еще долго сохранит свое значение как активный антималярийный препарат. Однако в последнее время все большее внимание уделяется рациональному поиску, основанному на знании различий в обменах пара-

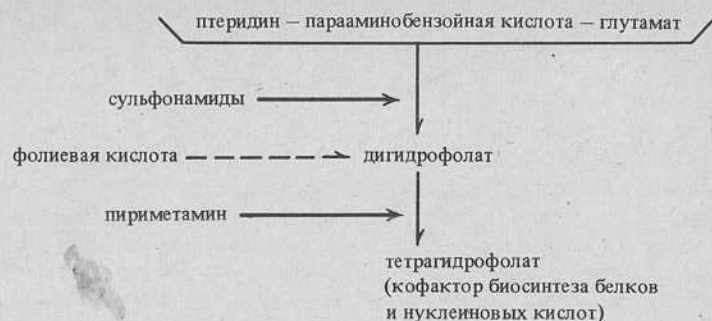


Р и с. 41. Артемизинин и антималярийные препараты, производные артемизинина

зита и хозяина и на целенаправленном подавлении препаратом отдельных метаболических цепочек-плазмодия [86, 99, 100, 106, 192, 213, 229].

Пути обмена пуриновых и пиримидиновых оснований у плазмодиев своеобразны (см. выше) и ряд ферментов этих путей, как оротатфосфорибозилтрансфераза, оротидин-5'-фосфатдекарбоксилаза, аденозиндеаминаза, гипоксантингуанинфосфорибозилтрансфераза, отличаются от гомологичных эритроцитарных ферментов хозяина. Это показано для *P. falciparum* [187] и *P. lophurae* [199].

Как известно, малярийные плазмодии не способны синтезировать пурины; они не поглощают формиат и у них отсутствуют ключевые ферменты биосинтеза пуринов — 10-формилтетрагидрофолатсинтетаза и 5,10-метилентетрагидрофолатдегидрогеназа [214]. В отличие от пуринов пиримидины синтезируются *de novo* малярийными плазмодиями. У них активны серингидроксиметилтрансфераза, тимидилатсинтетаза и дигидро-



Р и с. 42. Механизм антималярийного действия сульфонамидов и пириметамина

фолатредуктаза, восстанавливающая дигидрофолат в тетрагидрофолат. Дигидрофолатредуктаза плазмодия отличается от гомологичного фермента эритроцита хозяина своим необычно высоким сродством к пириметамину: IC_{50} равно 0,5 нМ для фермента паразита и 1 мМ для фермента хозяина, т. е. в 2000 раз больше. При культивировании в лабораторных условиях возбудитель тропической малярии использует фолиевую и парааминобензойную кислоты эритроцита в виде птерилполиглутамата. Лечебное действие сульфадоксина объясняется его ингибиторным действием на дигидроптероатсинтетазу паразита, лечебное действие пириметамин — специфическим ингибиторным действием на дигидрофолатредуктазу плазмодия (рис. 42).

Исходя из структурных и кинетических особенностей дигидрофолатредуктазы плазмодиев были проведены исследования многочисленных потенциальных ингибиторов фермента. При этом выяснилось, что по своему строению ингибиторы дигидрофолатредуктазы паразита отличаются от ингибиторов гомологичного фермента хозяина. Наибольшая активность обнаружена у 2,4-диамино-6-(тио, сульфинил, сульфонил)-хиназолинов: минимальная активная доза для этих соединений при малярии мышей равна 1,25 мг/кг вместо 1280 мг/кг для хинина, 160 мг/кг для хлорохина, 20 мг/кг — для циклогуанила и 10 мг/кг — для примитамина [93].

Хиназолиновые производные оказались высокоактивными на мышах как против обычных, так и против резистентных штаммов возбудителя, не менее активными на ночных обезьянах, но на людях (добровольцах) они оказались почти лишены активности. Осталось загадкой такое несоответствие активности препарата у обезьяны и людей, зараженных одними и теми же штаммами плазмодиев малярии. Это еще раз подчеркивает, как много неуловимых факторов могут иметь решающее значение при разработке химиотерапии паразитозов.

Поиск ингибиторов ферментов, участвующих в синтезе фолиевой кислоты у паразитов, продолжается и, вероятно, будут получены новые высокоактивные соединения, не следует только забывать, что ингибирование происходит по конкурентному типу и подавление активности ферментов зависит от состава среды, в частности от наличия в ней парааминобензойной и фолиевой кислот [228, 157] (табл. 71).

Таблица 71

Влияние парааминобензойной (ПАБК),
парааминобензоилглутаминовой (ПАБГ) и фолиевой (ФК) кислот
на ID₅₀ пириметамин и сульфадоксин
(in vitro на культуре *P. falciparum*), по [228]

Концентрация соединений, добавленных в культуральную среду	Штамм, чувствитель- ный к пириметамину, ID ₅₀ , нМ	Штамм, резистент- ный к пириметамину, ID ₅₀ , нМ
Пириметамин	1,88 нМ (1)	502,2 нМ (1)
» +10 ⁻⁵ М ПАБК	13,41 » (7,1)	5368 » (10,7)
» +10 ⁻⁵ М ПАБГ	15,44 » (8,2)	4419 » (8,8)
» +10 ⁻⁵ М ФК	16,66 » (8,8)	6819 » (13,6)
Сульфадоксин	0,29 М (1)	0,38 М (1)
» +10 ⁻⁷ М ПАБК	8,47 » (29,2)	41,64 » (109,4)
» +10 ⁻⁷ М ПАБГ	1,96 » (6,8)	3,86 » (10,2)
» +10 ⁻⁷ М ФК	2595 » (8948)	2671 » (7029)

Примечание. ID₅₀—доза, ингибирующая рост на 50%.

Кровяные стадии малярийных паразитов позвоночных потребляют кислород в небольших количествах, имеют цитохромоксидазу, но лишены цикла трикарбоновых кислот и цепочки цитохромов. Предполагается, что кислород необходим плазмодиям при синтезе пиримидинов: дигидроротатдегидрогеназа передает водород на коэнзим Q₈ и далее цитохромоксидазе [114].

У плазмодиев дигидроротатдегидрогеназа локализована на внутренней митохондриальной мембране и высокочувствительна к структурным аналогам убихинонов, как 2-(4-*t*-бутилциклогексил)-3-гидрокси-1,4 нафтохинон. У *P. yoelii*, например, подавление активности на 50% достигается при концентрации ингибитора $3 \cdot 10^{-9}$ М [115]. Избирательное действие этого соединения из нового класса потенциальных антималярийных препаратов показало в табл. 72.

Особенности цепочки дыхания плазмодиев — отсутствие витамина К и наличие коэнзима Q₈, который найден у *P. lophurae*, *P. berghei*, *P. knowlesi*, *P. cynomolgi* и *P. falciparum*, — послужили отправной точкой для синтеза многочисленных аналогов коэнзима Q₈ в надежде найти специфический ингибитор тканевого дыхания плазмодиев. Систематический поиск продолжался более двух десятилетий, были синтезированы активные ингибиторы коэнзима Q₈ (6-окси-7-алкил-тио-5,8-хинолинхиноны), но прямой корреляции между ингибиторным действием in vitro и антималярийной активностью in vivo установить не удалось.

Другой молекулярный подход к поиску антималярийных препаратов предложили Пайпер и др. в 1980 г. [177]. Авторы предположили, что можно специфически подавить превращение гипоксантина в инозинмонофосфат под действием гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы и тем самым лишить плазмодий материалов для биосинтеза нуклеиновых кислот. Было синтезировано значительное количество активных соединений, но в целом поиск не привел к желаемому результату.

Еще один путь поиска антималярийных соединений возник из наблюдений Трэгера, который нашел, что коэнзим А, как и пантотенат,

Таблица 72

Влияние ингибитора 2-(4-*t*-бутилциклогексил)-3-окси-1,4 нафтохинона) на биосинтез уридинтрифосфата (УТФ) у *P. falciparum*, по [115] (сокращенный вариант)

Концентрация ингибитора, нМ	Концентрация карбамоиласпартата, нМ	УТФ, нМ	АТФ, нМ	Адениловый заряд
0	0,37	2,2	16	0,81
0,1	3,8	0,8	16	0,82
2,0	2,3	0,3	13	0,79

способствует развитию возбудителя тропической малярии в искусственной среде. Были испытаны десятки аналогов пантотеновой кислоты и коэнзима А, найдены соединения с выраженной терапевтической активностью при малярии птиц и трехдневной малярии человека, но эффективных лечебных препаратов не удалось найти.

Наконец, последний целенаправленный путь синтеза антималярийных препаратов, который был использован химиками Института Уолтера Рида, предполагал получение соединений, взаимодействующих с ДНК паразита наподобие хинина. Предположение о торможении репликации ДНК при интеркаляции антималярийных препаратов в нитях ДНК оказалось более или менее оправданным только в отношении 4-хинолинметанолов. Среди последних (в основном эмпирически) был получен препарат с высокой антималярийной активностью и малой токсичностью — мефлохин, который, возможно, получит широкое применение после завершения тщательных полевых испытаний. Любопытно отметить, что, вопреки теории, мефлохин слабее взаимодействует с ДНК плазмодиев (электростатическое взаимодействие), чем дабехин [81, 176].

Различия в строении и обмене фосфолипидов у плазмодиев и их хозяев могли бы тоже быть использованы для разработки новых подходов к рациональному поиску антималярийных препаратов [224], так же как особенности биосинтеза отдельных белков. Например, биосинтез богатого гистидином белка у отдельных штаммов *P. falciparum* избирательно тормозится аналогами гистидина с замещениями в имидазольном кольце.

Рациональный поиск антималярийных препаратов, основанный на знании молекулярной структуры и биохимических особенностей плазмодиев, фактически делает свои первые шаги. Единственным крупным достижением рационального поиска можно считать создание мефлохина, производного 4-хинолинметанола. Постепенно накапливаются данные о корреляции структуры и биологической активности у многочисленных близких по строению молекул и это позволяет применить компьютерный метод при синтезе соединений с заданными биологическими свойствами. Компьютерный метод уже используется при поиске новых антималярийных соединений [111].

Изучение механизма действия противомаларийных препаратов показало, что их активность и токсичность связаны не только с концентрацией в тканях самого препарата, но и его производных, которые образуются в организме хозяина [155, 139, 197]. Приводим [38] схему

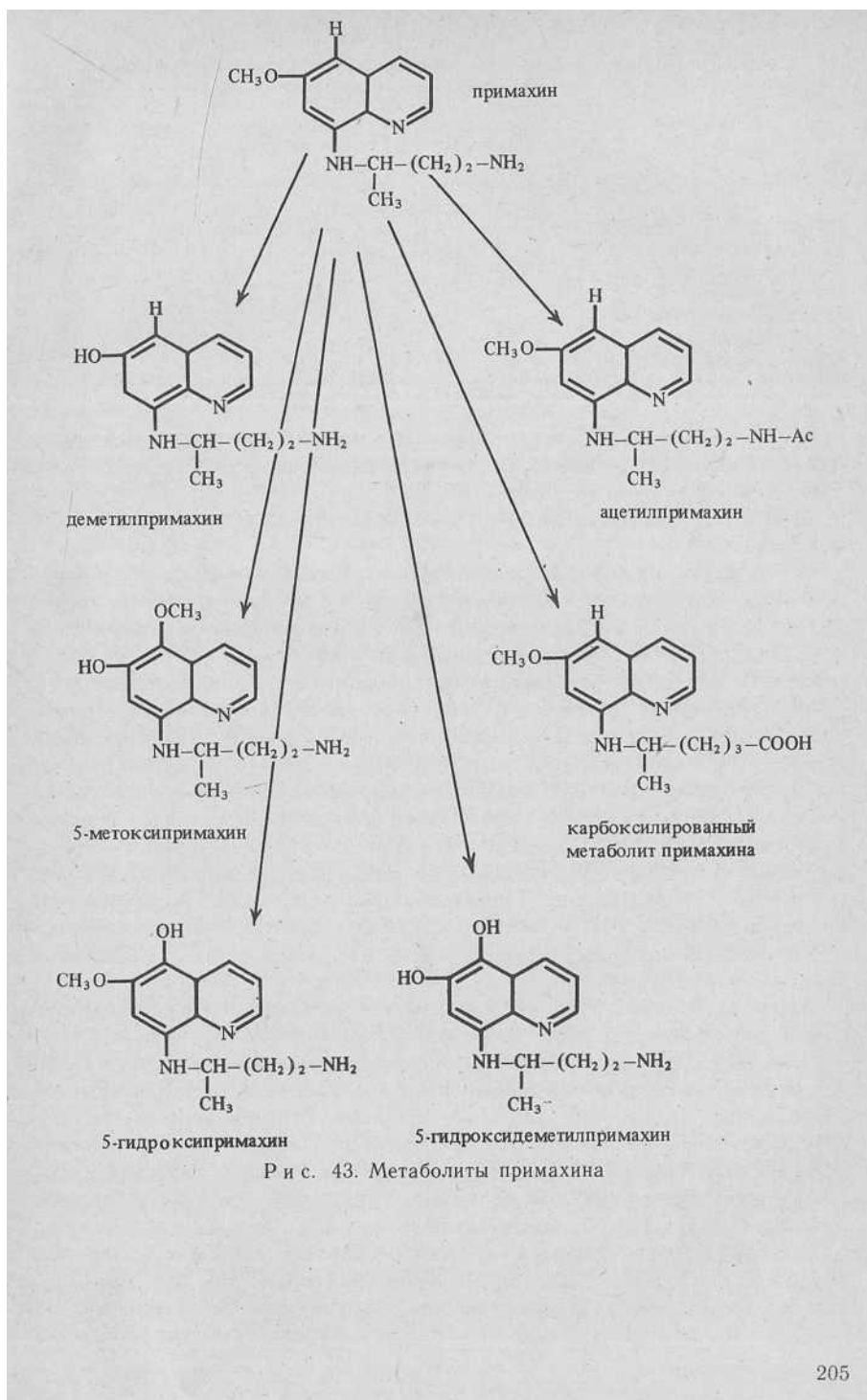


Таблица 73

Антималарийная активность и токсичность метаболитов примахина

Метаболит примахина	Гаметоцидная активность		Шизонтоцидная активность		Токсичность (образование метгемогло- бина)
	in vitro	in vivo	in vitro	in vivo	in vitro
Примахин	+	+	+	+	+
Деметилпримахин	—	—			++
5-метоксипримахин					—
5-оксипримахин	+	—		+	++
5-оксидеметилпримахин	+	—			++
N-ацетилпримахин					—
Карбоксипримахин			+	—	—

путей распада тканевого шизонтоцида примахина, широко применяемого для радикального лечения малярии, вызываемой *P. vivax* и *P. ovale* (рис. 43).

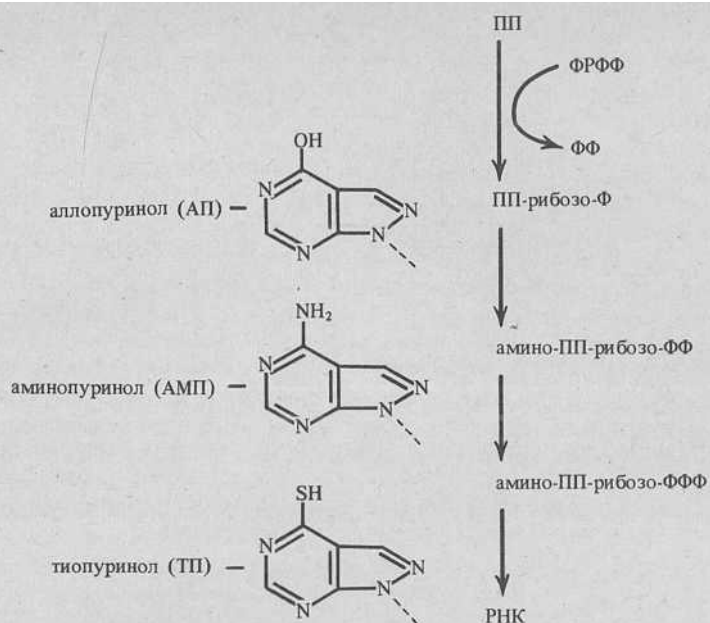
В табл. 73 приведены данные о биологической активности метаболитов примахина.

В принципе рациональные подходы к синтезу лечебных препаратов при малярии могут успешно применяться и при поиске препаратов против других эндопаразитов, поскольку пути обмена эндопаразитов определены локализацией в организме хозяина и способом питания и имеют много общего между собой, например у трипаносом, лейшманий и плазмодиев. Если взять обмен пуринов, то все три группы эндопаразитов лишены способности к биосинтезу и полагаются на пути сбережения пуринов. Имеются, однако, различия, которые проявляются в чувствительности к ингибиторному действию аналогов пуринов. Так, лейшмании и трипаносомы способны включать в свой обмен аналоги гипоксантина — пирозолопиримидины, которые под действием соответствующих ферментов превращаются в аминопирозолопиримидинтриозофосфаты и включаются в синтез РНК. В результате у *Trypanosomatidae* наблюдается ускоренный распад всех видов РНК и тормозится синтез белков. Приводим формулы некоторых аналогов пуринов и схему их превращений у трипаносом и лейшманий (рис. 44, 45).

На рис. 46 показаны особенности путей включения пирозолопиримидинов при биосинтезе РНК у гемофлагеллат [100].

Из опытов *in vitro* видно, что пирозолопиримидины подавляют синтез белка и вызывают гибель *Leishmania braziliensis*, *L. b. panamensis*, *L. donovani*, *L. mexicana*, *L. m. amazonensis*, *Crithidia fasciculata*, *Trypanosoma cruzi*, *T. brucei*, *T. b. rhodesiensis*, *T. gambiense*. Ингибиторное действие зависит от вида эндопаразита, от стадии развития (эпи-, трипо- или амастиготы), от вводимого соединения (например, аллопуринол-рибозид в 400 раз более активен против *L. donovani*, чем аллопуринол). Клинические испытания этих соединений проводятся, но пока трудно сказать, найдут ли они широкое применение для лечения паразитозов, вызываемых эндопаразитами из семейства *Trypanosomatidae*.

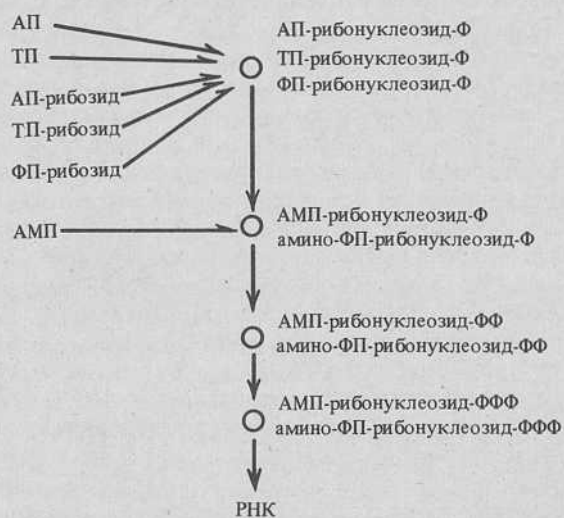
Другим примером применения аналога субстрата для «летального



Р и с. 44. Аналоги пурина

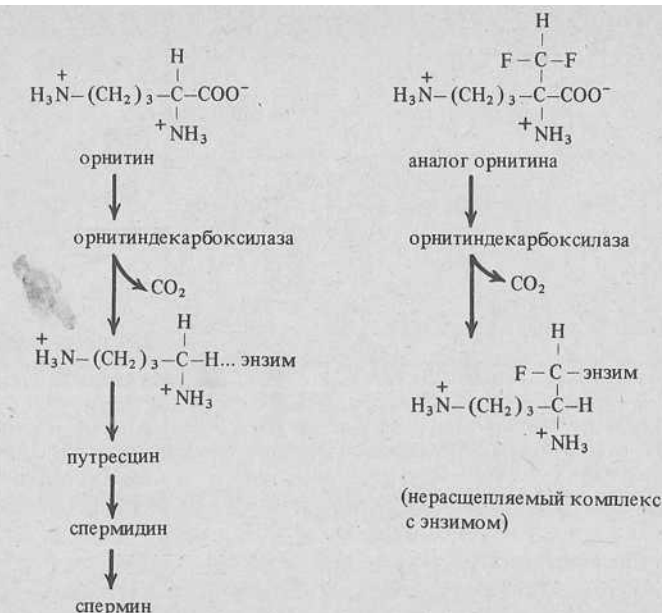
Р и с. 45. Включение пиразолопиримидинов в рибонуклеиновую кислоту у трипаносом, по [123]

ПП — пиразолопиримидины



Р и с. 46. Пути включения пиразолопиримидинов при биосинтезе РНК у гемоглаеллят, по [100]

АП — аллопуринол; АМП — аминопуринол; ТП — тиопуринол; ФП — 7-гидроксипиразоло(4,3-d)пиримидин



Р и с. 47. Подавление биосинтеза полиаминов аналогом орнитина у трипаносом, по [37]

синтеза» у паразитов может служить подавление биосинтеза полиаминов у трипаносом структурным аналогом орнитина DL- α -дифлуорометил-орнитином [37] (рис. 47).

В последние годы все большее значение придается окислительно-восстановительным системам эндопаразитов, обитающих при пониженном парциальном давлении кислорода или в условиях, близких к анаэробным. Выявлены системы биохимической адаптации к анаэробнозу и проверяется возможность их целенаправленного подавления. Так, у филогенетически далеких, но адаптированных к полуанаэробнозу *Lamblia intestinalis* и *Entamoeba histolytica* имеется ряд общих черт, как потребление небольших количеств кислорода при отсутствии митохондрий и цитохромов. Оба паразита растут в аксенических условиях только при пониженном $p\text{O}_2$ и наличии восстановителей в среде. Недавно показано, что на поверхности кутикулярного слоя у лямблий и энтамеб имеются свободные сульфгидрильные группы, видимо, играющие важную роль в жизнедеятельности этих эндопаразитов [107]. При блокировке сульфгидрильных групп специфическими ингибиторами наступает быстрая гибель эндопаразитов.

Экспериментируя с гидрогенозомами анаэробного паразита *Trichomonas vaginalis*, Ярлет и др. [232] показали, что антипаразитарная активность и токсичность нитрогетероциклических препаратов, как и нитроимидазолов или нитрофуранов, зависит от соответствия их потенциала ионизации потенциалу окислительно-восстановительных систем паразита и возможности обмена электронами между ними [216].

Интересные и, вероятно, важные для химиотерапии данные получены при изучении внутриклеточных паразитов [146, 156, 171, 186], например промастигот лейшманий в нейтрофилах и макрофагах хозяина [109]. У внутриклеточных паразитов имеются биохимические механизмы защиты от перекиси и супероксидных радикалов, вырабатываемых макрофагами для умерщвления захваченных паразитов [190]: на внешней мембране промастигот обнаружены три кислые фосфатазы, способные дефосфорилировать фосфомоноэфиры сахаров [191]. Эти активные фосфатазы ингибируют образование супероксидных радикалов и инактивируют лизосомальные гидролазы макрофагов. Внутриклеточный паразит и клетка-хозяин прошли длительный путь взаимной адаптации, и установилось равновесие между их системами агрессии и защиты, что обеспечивает выживание паразита. Если, однако, нарушить равновесие добавлением химических переносчиков электронов, как метиленовая синь, феназинметасульфат, кристал-виолет и др., то наблюдается резкое усиление перекисной агрессии со стороны макрофага и быстрая гибель промастигот лейшманий [145, 147].

Другим примером химиотерапевтического воздействия на систему паразит — хозяин с целью нарушить ее равновесие и вызвать гибель эндопаразита вместе с клеткой-хозяином могут служить разрабатываемые методы воздействия на проницаемость клеточной мембраны паразитированных эритроцитов при малярии [30], связывания препаратов, в основном производных хинолина, с продуктами расщепления гемоглобина протеазами плазмодия [25, 13], торможения энергетического обмена в инвазированных эритроцитах [13] и др. Показано влияние активации перекисного окисления липидов на чувствительность трипаносом к лекарственным препаратам [31].

В Советском Союзе был налажен промышленный выпуск антималярийных препаратов и до 70-х годов шел поиск новых соединений, который завершился созданием дабехина под руководством проф. Бехли. После ликвидации малярии как массового заболевания в нашей стране работы по синтезу новых антималярийных препаратов были приостановлены. В последние годы быстро расширяются связи с тропическими странами и снова ведется поиск антималярийных препаратов, синтетических и из растительного сырья.

ХИМИОТЕРАПИЯ ГЕЛЬМИНТОЗОВ

Изучению биохимии гельминтов и механизму действия антигельминтных препаратов уделялось в последние десятилетия большое внимание у нас и за рубежом. Выполнены интересные работы [5, 19, 29, 79, 101, 127, 147, 148, 196, 217], опубликованы монографии [22, 129].

Как правило, в этих исследованиях проверялось ингибиторное действие серии структурных аналогов известного препарата на звенья или пути обмена гельминтов. При этом выбирались звенья и пути, которые наиболее отличаются от метаболических путей хозяина и поэтому могут быть точками действия специфической химиотерапии. И. И. Бенедиктов [3, 4] изучил, например, действие сотен соединений (бензимидазолов, салициланилидов, сульфидов, сульфоксидов, сульфонов, нафто-

Таблица 74

Активность митохондриальных ферментных систем в условиях, оптимальных для каждой системы (в нмоль, мин⁻¹, мг белка⁻¹), по [5]

Фермент	Белая крыса	Ascaris summ	Fasciola hepat.
Фумаратредуктаза	0	67,6 ± 5,8	25,5 ± 1,4
Малатдегидрогеназа	117,7 ± 7,5	234,4 ± 4,1	43,9 ± 3,2
Сукцинатдегидрогеназа	298,2 ± 12,4	175,8 ± 3,8	117,1 ± 10,7
Малик-энзим (NAD-зависимый)	20,3 ± 1,1	130,3 ± 5,7	—
АТФ-аза (Mg-зависимая)	3160 ± 114	13,3 ± 0,7	77,2 ± 7,8
АТФ-аза (NDP-зависимая)	—	17,4 ± 1,1	134,5 ± 12,3

Таблица 75

Влияние антгельминтиков и органических соединений на активность фумаратредуктазы в митохондриях аскариды, по [5]

Антгельминтик	Концентрация, М	Активность, нмоль окисл. НАДН/мин/мг белка	Торможение (стимуляция), %
1	2	3	4
Нафтамон	6,6 × 10 ⁻⁵	17,74	40
	1,3 × 10 ⁻⁴	0	100
Г-526	6,6 × 10 ⁻⁵	0	100
Г-670	6,6 × 10 ⁻⁵	14,49	51
Г-670	1,3 × 10 ⁻⁴	0	100
Битионол	6,6 × 10 ⁻⁵	2,36	92
	1,3 × 10 ⁻⁴	0	100
Х-610	6,6 × 10 ⁻⁵	0	100
	1,3 × 10 ⁻⁴	0	100
Хлоксил	6,6 × 10 ⁻⁵	3,85	43
	1,3 × 10 ⁻⁴	0	100
Осарсол	6,6 × 10 ⁻⁵	19,63	29
	1,3 × 10 ⁻⁴	0	100
Оксинид	6,6 × 10 ⁻⁵	25,14	15
Дитиазанин	6,6 × 10 ⁻⁵	0	100
Мебендазол	6,6 × 10 ⁻⁵	15,97	46
	1,3 × 10 ⁻⁴	5,62	81
	1,9 × 10 ⁻⁴	0	100
Тетрамизол	6,6 × 10 ⁻⁵	34,28	+24
	1,3 × 10 ⁻⁴	28,75	+4
	1,9 × 10 ⁻⁴	24,88	10
	2,6 × 10 ⁻⁴	9,95	64
Левамизол	6,6 × 10 ⁻⁵	33,18	+20
	1,3 × 10 ⁻⁴	24,88	10
	1,9 × 10 ⁻⁴	10,78	61
	2,6 × 10 ⁻⁵	0	100

Таблица 75 (окончание)

1	2	3	4
Бенацил	$6,6 \times 10^{-5}$	31,32	+7
	$1,3 \times 10^{-4}$	16,81	22
	$1,9 \times 10^{-4}$	2,82	68
Пиперазин адипинат	$6,6 \times 10^{-5}$	41,47	+50
	$1,3 \times 10^{-4}$	33,18	+20
	$1,9 \times 10^{-4}$	24,88	10
	$2,6 \times 10^{-4}$	0	100
Дитразин	$6,6 \times 10^{-5}$	26,54	4
	$1,3 \times 10^{-4}$	15,76	43
	$1,9 \times 10^{-4}$	0	100
Атебрин	$6,6 \times 10^{-5}$	17,74	40
	$1,3 \times 10^{-4}$	4,52	79
	$1,9 \times 10^{-4}$	0	100
Акрисалин	$1,3 \times 10^{-5}$	12,93	40
Хлорохин	$6,6 \times 10^{-5}$	3,08	89
Г-518	$6,6 \times 10^{-5}$	18,33	38
	$1,3 \times 10^{-4}$	8,83	59
	$1,9 \times 10^{-4}$	0	100
Фенотиазин	$6,6 \times 10^{-5}$	0	100
Г-837	$6,6 \times 10^{-5}$	8,87	70
Г-841	$1,3 \times 10^{-4}$	0	100
	$6,6 \times 10^{-5}$	3,54	88
Морфоциклин	$6,6 \times 10^{-5}$	2,48	91
8-Оксихинолин	$6,6 \times 10^{-5}$	18,63	37

хионов и др.) на дегидрогеназы, цепочку транспорта электронов и энергетический обмен у многих тканевых и кишечных гельминтов; М. К. Вертинская [7, 8], С. В. Говорова [12], А. В. Савченко [27], Н. П. Выхрестюк и др. [9] — производных дифенилсульфида и других соединений на ферменты гликолиза и на оксидоредуктазы; Г. Д. Ан-набаева [2] — на очищенную фосфоэнолпируваткарбоксикиназу ряда гельминтов; А. Ф. Кожукару [18] — на фосфолипидные мембраны и дыхание митохондрий и т. д.

В табл. 74 показано, по каким критериям отбирались ферментные системы для испытания на них действия синтезируемых соединений, а в табл. 75 даны результаты одного из стандартных опытов.

За два десятилетия целенаправленной работы в нескольких научных центрах страны накоплена ценная информация о зависимости антигельминтного действия от строения и физико-химических свойств соединений. Эти данные получены на очищенных ферментах, на клеточных органеллах, на переживающих или культивируемых гельминтах и, естественно, они должны быть проверены на моделях зараженных лабора-

торных животных. Закономерности, выявленные на больших сериях структурных аналогов, дают основу для математического анализа и программирования поиска лечебных противопаразитарных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акиншина Г. Т., Федянина Л. В. Культивирование тканевых форм и стадий спорогонии возбудителей малярии млекопитающих // *Малярийные паразиты млекопитающих*. Л.: Наука, 1986. С. 134—139.
2. Аннабаева Г. Д. Фосфоэнолпируваткарбоксикиназная система гельминтов *Ascaris suum*, *Fasciola hepatica*, *Alveococcus multilocularis* и возможность ее торможения антигельминтными препаратами: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1973.
3. Бенедиктов И. И. Влияние антигельминтных препаратов на биохимические системы трематоды *Fasciola hepatica* // *Мед. паразитология и паразитар. болезни*. 1974. № 6. С. 700—703.
4. Бенедиктов И. И. Ингибирующее действие ароматических сульфидов, сульфоксидов и сульфонов на биохимические системы *Fasciola hepatica* // *Мед. паразитология и паразитар. болезни*. 1975. № 4. С. 473—477.
5. Бенедиктов И. И. Пути биологического окисления и энергетический обмен у гельминтов и биохимический механизм действия антигельминтиков: Дис. ... д-ра биол. наук: М., 1982. 490 с.
6. Богоявленский Ю. К., Боголепова И. И., Онушко И. В. Микроструктура тканей паразитических нематод. М.: Наука, 1982. 277 с.
7. Вертинская М. К. Влияние производных бензотиазола и бензоксазола на оксидоредуктаз *Ascaridia galli* // *Бюл. ВИГИС*. 1983. Вып. 34. С. 11—15.
8. Вертинская М. К., Говорова С. В. Возможности использования биохимических моделей в скрининге антигельминтиков // *Тр. ГЕЛАН. СССР*, 1984. Т. 32. С. 20—24.
9. Выхрестюк Н. П., Буренина Э. А., Клочкова В. И. и др. Влияние некоторых антигельминтных препаратов на углеводный обмен трематоды *Eurytrema rapsceaticum* // *Мед. паразитология и паразитар. болезни*. 1984. № 1. С. 64—68.
10. Глазунова З. И. Антигенная структура малярийных паразитов и иммунный ответ хозяина // *Малярийные паразиты млекопитающих*. Л.: Наука, 1986. С. 109—129.
11. Глазунова З. И., Крайнова Л. А. Культивирование эритроцитарных стадий возбудителей малярии млекопитающих // *Малярийные паразиты млекопитающих*. Л.: Наука, 1986. С. 123—133.
12. Говорова С. В. Влияние некоторых производных дифенилсульфида на гексокиназу *Fasciola hepatica* // *Тр. ВИГИС*. 1971. Т. 18. С. 69—73.
13. Гринберг Л. Н., Лукманова Н. Э. Изучение механизмов антималярийного действия хлорохина и дабехина: образование комплексов с геминем // *Хим.-фармацевтич. журн.* 1983. № 8. С. 903—907.
14. Келлина О. И., Шурхал А. В., Стрелкова М. В. и др. Изотонимная характеристика штаммов возбудителя висцерального лейшманиоза на территории СССР // *Мед. паразитология и паразитар. болезни*. 1985. № 6. С. 11—15.
15. Клименко В. В. Использование в систематике гельминтов метода электрофореза в полиакриламидном геле // *Тр. ВИГИС*. 1977. Т. 23. С. 83—89.
16. Клименко В. В. Фракционирование и очистка антигенов фасциол, их свойства и физиологическая роль в организме паразита // *Профилактика и борьба с трематодозами животных в зонах мелиорации земель*: Тез. докл. Всесоюз. конф. (Баку, 1—3 июня 1983 г.). М., 1983. С. 86—89.
17. Клименко В. В. Сочетание фракционирования антигенов фасциол на гелях сефадекса и сефарозы, их физико-химические и иммунологические свойства // *Тр. ВИГИС*. 1984. Т. 27. С. 66—76.
18. Кожокару А. Ф., Топалы В. П., Фойгель А. Г. Влияние фасциолоцидов на дыхание митохондрий // *Биология и научно-технический прогресс*. Пушкино. 1974. С. 191—195.

19. Кожокарү А. Ф. Исследование механизма действия фасциолоцитов с помощью биомолекулярных фосфолипидных мембран: Дис. ... канд. биол. наук. М., 1976.
20. Колесников А. А., Сафьянова В. М., Теценко М. М. Видспецифичность расщепления кинетопластной ДНК лейшманий рестриктазами // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1984. № 4. С. 37—41.
21. Колесников А. А., Маслов Д. А., Сафьянова В. М., Теценко М. М. Рестрикционная карта максикольцевой кинетопластной ДНК *Leishmania guyodactyli* // Науч. Докл. Высш. шк. Сер. биол. 1984.
22. Кротов А. И. Основы экспериментальной терапии гельминнов. М.: Медицина, 1973. 272 с.
23. Лейкина Е. С. Иммуитет при гельминтозах // Основы общей гельминтологии. М.: Наука, 1976. Т. 3. С. 89—169.
24. Лейкина Е. С. Иммунологический аспект взаимоотношений в системе хозяин-паразит // Паразитоценология. Киев: Наук. думка. 1985. С. 64—82.
25. Лукманова Н. Э. Роль продуктов расщепления гемоглобина плазмодием в антималярийном действии производных хинолина: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1985.
26. Озерецковская Н. Н. Особенности клиники и лечения описторхоза в зависимости от некоторых эндогенных и экзогенных факторов // Вестн. АМН СССР. 1975. № 6. С. 37—43.
27. Савченко А. В., Бенедиктов И. И. Подавление дыхания митохондрий *Fasciola hepatica* производными диоксидифенилсульфида // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1981. № 6. С. 52—54.
28. Сопрунов Ф. Ф., Лурье А. А., Сопрунова Н. Я., Алиева Х. Х. Теоретическое обоснование разработки биохимических методов диагностики гельминтозов // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1981. № 2. С. 76—81.
29. Соханенкова Т. Л. Сравнительная характеристика холинэстеразных систем гельминтов и насекомых и изменение их свойств под влиянием соединений с антигельминтной и инсектицидной активностью: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1980.
30. Соханенкова Т. Л., Сергачева Ю. Ю., Сопрунов Ф. Ф. Чувствительность эритроцитов мышей, зараженных *Plasmodium berghei* к сапонину и гипертоническому раствору // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1984. № 1. С. 46—49.
31. Сухарева-Немакова Н. Н. Активация перекисного окисления липидов в культурах *Criethidia opcorpelti* как возможный путь повышения лекарственной чувствительности // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1984. № 3. С. 375—381.
32. Шурхал А. Ф., Стрелкова М. В., Пассова О. М. и др. Генетическая характеристика изолятов лейшманий выделенных от больных песчанок на территории Монгольской республики // Мед. паразитология и паразитар. болезни. 1985. № 4. С. 38—43.
33. Allered D. R., Sherman I. W. Developmental modulation of protein synthetic patterns by the human malarial parasite *Plasmodium falciparum* // Canad. J. Biochem. and Cell Biol. 1983. Vol. 61, № 12. P. 1304—1314.
34. Alves M. J. M., Abuin G., Kuwjiama V. Y., Colli W. Partial inhibition of trypomastigote entry into cultured mammalian cells by monoclonal antibodies against a surface glycoprotein of *Trypanosoma cruzi* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 21, № 1. P. 75—81.
35. Anderson N. L. High-resolution, two-dimensional electrophoresis as a method of identifying organisms and cell types // New approaches to the identification of parasites and their vectors/Ed. B. N. Newton, F. Michal. Basel: WHO, 1984. P. 107—114.
36. Ardeshtir F., Flint J. F., Reese R. T. Expression of *Plasmodium falciparum* surface antigens in *Escherichia coli* // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1985. Vol. 82, № 8. P. 2518—2522.
37. Bacchi C. J., Garofals J., Mockenhaupt D. et al. In vivo effect of α -DL-difluoromethylornitine on the metabolism and morphology of *Trypanosoma brucei* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1982. Vol. 7. P. 209—225.
38. Baker J. K., Bedford J. A., Clark A. M., McChesney J. O. Metabolism and distribution of primaquine in monkeys // Pharmacol. Res. 1984. Vol. 2.
39. Ballon W. R., Rothbard., Wirtz R. A. et al. Immunogenicity of synthetic

- peptides from circum-sporozoite protein of *Plasmodium falciparum* // Science. 1985. Vol. 228. P. 996—998.
40. Balloul J. M., Pierce R. J., Grzych J. M., Capron A. In vitro synthesis of a 28 KD antigen present on the surface of the schisto-somulum of *Schistosoma mansoni* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 16. P. 105—114.
 41. Barker D. C., Arnot D. E., Butcher J. DNA characterization as a taxonomic tool for identification of kinetoplastic flagellate protozoans // Biochemical characterization of *Leishmania*/Ed. M. L. Chance, B. C. Walton. Geneva, 1982. P. 139—180.
 42. Barker R. H., Suebsaeng L., Rooney W. et al. Specific DNA probe for the diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria // Science. 1986. Vol. 231. P. 1434—1436.
 43. Beach D. H., Holz G. C., Anekwe G. E. Lipids of *Leishmania* promastigotes // J. Parasitol. 1979. Vol. 65. P. 203—216.
 44. Beaudoin R. L., Pacheco N. D. Cultivation of exoerythrocytic stages of malaria parasites // The in vitro cultivation of the pathogens of tropical diseases. Basel, 1980. P. 15—27. (TDR Ser.; Vol. 3.)
 45. Berzins K., Perlmann H., Wahlin B., Carlsson J. et al. Rabbit and human antibodies to a repeated amino-acid sequence of a *Plasmodium falciparum* antigen Pf 155 react with the native protein and inhibit merozoite invasion // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1986. Vol. 83, N 4. P. 1065—1069.
 46. Beverley S. M., Ellenberger T. E., Cordingley J. S. Primary structure of the gene encoding bifunctional dihydrofolate reductase-thymidylate synthase of *Leishmania major* // Ibid. 1986. Vol. 83, N 8. P. 2584—2588.
 47. Biochemical characterization of *Leishmania* // Proceedings of a Workshop held at the Pan American Health Organization, Washington, TDR Programme. Geneva, 1982.
 48. Brandicourt O., Druihle P., Diouf F. et al. Decreased sensitivity to chloroquine and quinine of some *Plasmodium falciparum* strains from Senegal in Sept., 1984 // Amer. J. Trop. Med. and Hyg. 1986. Vol. 35, N 4. P. 717—721.
 49. Brasseur P., Druihle P., Koumaouo J. et al. High level of sensitivity to chloroquine of 72 *Plasmodium falciparum* isolates from Southern Cameroon in Jan. 1985 // Ibid. P. 711—716.
 50. Brauer W. V., Ginsburg H., Cabantchik Z. I. Hydrophobic interactions in *Plasmodium falciparum* invasion into human erythrocytes // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 12, N 2. P. 125—138.
 51. Braun-Breton C., Jendoubi M., Brunet E. et al. In vivo-time course of synthesis and processing of major schizont membrane polypeptides in *Plasmodium falciparum* // Ibid. 1986. Vol. 20, N 1. P. 33—43.
 52. Brockelman C. R., Tan Ariya P., Laovanitch R. Observation on complete schizogony of *Plasmodium vivax* in vitro // J. Protozool. 1985. Vol. 32, N 1. P. 76—80.
 53. Brooks J. B., Basts T., Holler J. S. et al. Frequency-pulsed electron-capture gas-liquid chromatographic studies of chemical changes in sera of patients with schistosomiasis // J. Chromatogr. Biomed. and Appl. 1985. Vol. 339, N 2. P. 243—252.
 54. Brown C. G. D. In vitro cultivation of *Theileria* // The in vitro cultivation of the pathogens of tropical diseases. Basel, 1980. P. 127—143. (TDR Ser.; Vol. 3.)
 55. Brown K. H., Brentano S. T., Donelson J. E. Mung-bean nuclease cleaves preferentially at the boundaries of variant surface glycoprotein gene transposition in trypanosome DNA // J. Biol. Chem. 1986. Vol. 261, N 22. P. 10352—10358.
 56. Bruce-Chwaat L. J. DNA probes for malaria diagnosis // Lancet. 1984. P. 795—796.
 57. Chemotherapy of malaria/Ed. L. J. Bruce-Chwaat. 2nd rev. ed. Geneva: WHO, 1986. 259 p. (Monogr. ser.; N 27.)
 58. Buecher K. J. Sulfhydryl compounds under controlled gas in cultures of *Schistosoma mansoni* sporocyte // Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 1974. Vol. 146. P. 1101—1105.

59. Bulow R., Overath P. Synthesis of a hydrolase for the membrane from variant surface glycoprotein in repressed during transformation of *Trypanosoma brucei* // FEBS Lett. 1985. Vol. 187. P. 105—110.
60. Cabrera Z., Parkhouse R. M. E. Identification of antigens of *Onchocerca volvulus* and *Onchocerca gibsoni* for diagnostic use // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 20, N 3. P. 225—231.
61. Campbell J. R., Hoffman S. L., Leksana B. et al. In vitro growth inhibition of *Plasmodium falciparum* by serum from tropical splenomegaly syndrome patients // Amer. J. Trop. Med. and Hyg. 1986. Vol. 35, № 4. P. 708—710.
62. Capron A., Dessaint J. P., Capron M. et al. Effector mechanisms of immunity to schistosomes and their regulation // Immunol. Rev. 1982. Vol. 61. P. 41—46.
63. Chambers A. E., Almond N. M., Knight M. et al. Repetitive DNA as a tool for the identification and comparison of nematode variants: application to *Trichinella* isolates // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 21, № 2. P. 113—119.
64. Cheung A., Shaw A. R., Leban J., Perrin L. H. Cloning and expression in *Escherichia coli* of a surface antigen of *Plasmodium falciparum* merozoites // EMBO Journal. 1985. Vol. 4. P. 1007—1012.
65. Clough E. R., Audibert F. M., Barnwell J. W. et al. Biologically active antibodies elicited by a synthetic circumsporozoite peptide of *Plasmodium knowlesi* administered in saline with a muramyl dipeptide derivative // Infect. Immunol. 1985. Vol. 48, N 3. P. 839—842.
66. Coleman M. D., Mihal Y. G. W., Ward S. A. et al. The disposition of pyrimethamine in the isolated perfused rat liver // Biochem. Pharmacol. 1985. Vol. 34, N 12. P. 2193—2198.
67. Comeau A. M., Miller S. I., Wirth D. F. Chromosome location of four genes in *Leishmania* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 21, N 22. P. 161—169.
68. Coppel R. L., Culvenor J. G., Bianco A. E. et al. Variable antigen associated with the surface of erythrocytes infected with mature stage of *Plasmodium falciparum* // Ibid. Vol. 20, N 3. P. 265—277.
69. Corcoran L. W., Forsyth K. P., Bianco A. E. et al. Chromosome-size polymorphisms in *Plasmodium falciparum* can involve deletions and are frequent in natural parasite population // Cell. 1986. Vol. 44, N 1. P. 87—96.
70. Cordingley J. S., Taylor D. W., Dunne D. W., Butterwerth A. E. Clone banks of cDNA from the parasite *Schistosoma mansoni*: Isolation of clones containing a potentially immunodiagnostic antigen-gene // Ibid. 1983. Vol. 26. P. 25—39.
71. Cornelissen A. W. C. A., Johnson P. J., Kooter J. M. et al. Two simultaneously active VSG genetranscription units in a single *Trypanosoma brucei* variant // Ibid. 1985. Vol. 41. P. 825—832.
72. Cornelissen A. W. C. A., Michels P. A. M., Borst P. et al. Effect of 3-aminobenzamide on antigenic variation of *Trypanosoma brucei* // Biochem. Pharmacol. 1985. Vol. 34, N 23. P. 4151—4156.
73. Cowman A. F., Saint R. B., Coppel R. L. et al. Conserved sequences flank variable tandem repeats in 2-S-antigen genes of *Plasmodium falciparum* // Cell. 1985. Vol. 40, N 4. P. 775—784.
74. Cross G. A. M. Identification, purification and properties of clone-specific glycoprotein antigen constituting the surface coat of *Trypanosoma brucei* // Parasitology. 1975. Vol. 71. P. 393—417.
75. Crzych J. M., Capron M., Dissous C., Capron A. Blocking activity of rat monoclonal antibodies in experimental schistosomiasis // J. Immunol. 1984. Vol. 133. P. 998—1004.
76. Cully D. F., Gibbs C. P., Cross G. A. M. Identification of proteins encoded by variant surface glycoprotein expression site-associated genes in *Trypanosoma brucei* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 21, N 2. P. 189—197.
77. Dame J. B., McCutchan T. F. The 4-ribosomal DNA units of the malaria parasite *Plasmodium berghei* identification restriction map and copy number analysis // J. Biol. Chem. 1983. Vol. 258, N 11. P. 6984—6990.
78. Dame J. B., Williams J. L., McCutchan T. F. et al. Structure of the gene encoding the immuno-dominant surface antigen on the sporozoite of the human

- malaria parasite *Plasmodium falciparum* // *Science*. 1984. Vol. 225. P. 593—599.
79. Dass P. D., Donahue M. J. L-Glutamyl transpeptidase activity in *Ascaris suum* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1986. Vol. 20, N 3. P. 233—235.
80. David P. H., Hadley T. J., Aikawa M., Miller L. E. Processing of a major parasite surface glycoprotein during the ultimate stages of differentiation in *Plasmodium knowlesi* // *Ibid.* 1984. Vol. 11. P. 267—282.
81. Davidson M. W., Criggs B. G. (jun.), Boykin D. W., Wilson W. D. Molecular structural effects involved in the interaction of quinolinemethanolamines with DNA: Implication for antimalarial action // *J. Med. Chem.* 1977. Vol. 20. P. 1112—1117.
82. Deans J. A., Thomas A. W., Inge P. M. G., Cohen S. Stage-specific protein synthesis by asexual blood-stage parasites of *Plasmodium falciparum* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1983. Vol. 8. P. 45—51.
83. Decker-Jackson J. E., Tang D. B. Identification of *Leishmania* spp. by radiorespirometry. II: A statistical method of data analysis to evaluate the reproducibility and sensitivity of the technique // *Biochemical characterization of Leishmania* /Ed. M. L. Chance, B. C. Walton. Geneva, 1982. P. 205—246.
84. Deslauriers R., Geoffrion Y., Butler K. W., Smith C. P. Magnetic resonance studies of the pathophysiology of murine malaria // *Quart. Rev. Biophys.* 1985. Vol. 18 P. 65—110.
85. Di Felice G., Pini C., Afferni C., Vicari C. Purification and partial characterization of the major antigen of *Echinococcus granulosus* (antigen 5) with monoclonal antibodies // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1986. Vol. 20, N 2. P. 133—141.
86. Divo A. A., Geary T. G., Jensen J. B. Oxygen-dependent and time-dependent effects of antibiotics and selected mitochondrial inhibitors on *Plasmodium falciparum* in culture // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985. Vol. 27, N 1. P. 21—27.
87. Divo A. A., Van de Waa J. A., Campbell J. R., Jensen J. B. Isolation and cultivation of *Plasmodium falciparum* using adult bovin serum // *J. Parasitol.* 1985. Vol. 71/11. P. 504—509.
88. Dodin G. Heteroduplex stabilities in highly repetitive DNA a hypothesis for the polymorphism of plasmodium parasite antigenic response // *FEBS Lett.* 1986. Vol. 197, N 1/2. P. 5—8.
89. Donelson J. E., Turner M. J. How the trypanosome changes its coat // *Sci. Amer.* 1985. Vol. 00. P. 32—39.
90. Doyle P., De la Canal L., Engel J. C., Parodi A. J. Characterization of the mechanism of protein glycosylation and the structure of glycoconjugates in tissue culture trypomastigotes and intracellular amastigotes of *Trypanosoma cruzi* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1986. Vol. 21, N 1. P. 93—101.
91. Druilhe P., Puebla R. M., Miltgen F. et al. Species- and stage-specific antigens in exoerythrocytic stages of *plasmodium falciparum* // *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.* 1984. Vol. 33. P. 336—341.
92. Ellis J., Ozaki L. S., Gwadz R. W. et al. Cloning and expression in *E. coli* of the malarial sporozoite surface antigen gene from *Plasmodium knowlesi* // *Nature*. 1983. Vol. 302. P. 536—538.
93. Elslager E. F., Jacob P., Johnson J et al. Folate antagonists. 13: 2,4-diamino-6-[($\alpha\alpha\alpha$ -trifluoromethyl)thio] quinazoline and related 2,4-diamino-6-[(phenyl-and naphthyl)thio] quinazolines, a unique class of antimetabolites with extraordinary antimalarial and antibacterial effects // *J. Med. Chem.* 1978. Vol. 21. P. 1059—1070.
94. Enea V., Arnot D., Schmidt E. et al. Circumsporozoite gene of *Plasmodium cynomolgi* (Gombak) cDNA cloning and expression of the repetitive circumsporozoite epitope // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1984. Vol. 81. P. 7520—7524.
95. Enea V., Ellis J., Zavala F. et al. DNA cloning of *Plasmodium falciparum* circumsporozoite gene: amino-acid sequence of repetitive epitope // *Science*. 1984. Vol. 225. P. 628—630.
96. Esser K. M., Schoenbecker M. J. Expression of two-variant surface glycoproteins in individual African trypanosomes during antigenic switching // *Ibid.* 1985. Vol. 229. P. 190—193.
97. Feagin J. E., Jasmer D. P., Stuart K. Differential mitochondrial gene expres-

- sion between slender and stumpy blood-forms of *Trypanosoma brucei* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 20, N 3. P. 207—213.
98. Ferguson M. A. J., Haldar K., Cross G. A. M. *Trypanosoma brucei* variant surface glycoprotein has a sn-1,2-dimyristyl glycerol membrane anchor at its COOH terminus // J. Biol. Chem. 1985. Vol. 260. P. 4963—4968.
 99. Ferreira A., Enea V., Morimoto T., Nussenzweig V. Infectivity of *Plasmodium berghei* sporozoites measured with a DNA probe // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 19, N 2. P. 103—109.
 100. Ferreira A., Schofield L., Enea V. et al. Inhibition of development of exoerythrocytic forms of malaria parasites by gamma interferon // Science. 1986. Vol. 232, N 4752. P. 881—884.
 101. Fleming M. W. Steroidal enhancement of growth in parasitic larvae of *Ascaris suum* validation of a bioassay // J. Exp. Zool. 1985. Vol. 233, N 2. P. 229—234.
 102. Freymann D. M., Metcalf P., Turner M., Wilkey D. C. 6Å²-resolution X-ray structure of a variable surface glycoprotein from *Trypanosoma brucei* // Nature. 1984. Vol. 311. P. 167—169.
 103. Fusco A. C., Salafsky B., Kevin M. B. *Schistosoma mansoni* eicosanoid production by cercariae // Exp. Parasitol. 1985. Vol. 59, N 1. P. 44—50.
 104. Gabriel J. A., Holmquist G., Perlmann et al. Identification of a *Plasmodium chabaudi* antigen present in the membrane of ring stage infected erythrocytes // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 20, N 1. P. 67—75.
 105. Gasbarre L. C., Romanowski R. D., Douvres T. W. Suppression of antigen- and mitogen-induced proliferation of bovine lymphocytes by excretory-secretory products of *Oesophagostomum radiatum* // Infect. Immunol. 1985. Vol. 48, N 2. P. 540—545.
 106. Geary T. G., Boland M. T., Jensen J. B. Antioxidants do not prevent the in vitro induction of *Plasmodium falciparum* crisis forms by human malaria immune-tuberculosis rabbit tumor necrosis factor serum // Amer. J. Trop. Med. and Hyg. 1986. Vol. 35, N 4. P. 704—707.
 107. Gillin F. D., Reiner D. S., Levy R. B., Henkart P. A. Thiol groups on the surface of anaerobic parasitic protozoa // Mol. and Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 13. P. 1—12.
 108. Godson G. N., Ellis J., Lupski J. R. et al. Molecular biology of *Plasmodium knowlesi* sporozoites: cloning and expression of the surface antigen gene // Molecular parasitology/Ed. J. T. August. N. Y.: Acad. press., 1984. P. 127—142.
 109. Gottlieb M., Dwyer D. M. *Leishmania donovani*: surface membrane acid phosphatase activity of promastigotes // Exp. Parasitol. 1983. Vol. 7. P. 293—301.
 110. Gradus M. S., Matthews H. M. Electrophoretic analysis of soluble proteins and esterase, superoxide dismutase and acid phosphatase isoenzymes of members of the protozoan family Trichomonadidae // Comp. Biochem. 1985. Vol. 81. P. 229—233.
 111. Gund P. Computers in drug research: three-dimensional molecular modeling of drugs and their receptors // Modern design of anti-malarial drugs. Geneva: TDR Progr., 1983. 183 p.
 112. Guntaka R., Gowda S., Rao A., Green T. J. Organization of *Plasmodium falciparum* genome. I: Evidence for a highly-repeated DNA sequence // Nucl. Acids Res. 1985. Vol. 13. P. 1965—1975.
 113. Gurnett A. M., Ward J., Raper J., Turner M. J. Purification and characterization of membrane-form variant surface glycoproteins of *Trypanosoma brucei* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 20, N 1. P. 1—13.
 114. Gutteridge W. E., Dave D., Richards W. H. G. Conversion of dihydroorotate to croate in parasitic protozoa // Biochim. et biophys. acta. 1979. Vol. 582. P. 390—401.
 115. Hammond D. J., Burchell J. R., Pudney M. Inhibition of pyrimidine biosynthesis de novo in *Plasmodium falciparum* in vitro // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. N 1. P. 97—110.
 116. Hansen E. L., Hansen J. W. Present status of culture of schistosomes: limitations, improvements, applications to control // The in vitro cultivation of the pathogens of tropical diseases. Basel, 1980. P. 325—351. (TDR Ser.; Vol. 3).
 117. Hanson W. L. Mass production of trypomastigote and amastigote stage of

- Trypanosoma cruzi* in cell culture // The in vitro cultivation of the pathogens of tropical diseases. Basel, 1980. P. 245—247. (TRD Ser.; Vol. 3).
118. Hansen J. L., McCutchan T. F. Isolation of a gene segment expressed by mature schizonts of *Plasmodium knowlesi* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 19, N 1. P. 11—18.
 119. 120. Harinasute T., Lasserre R., Bunnag D. et al. Trials of mefloquine in vivax malaria and of mefloquine plus fansidar in falciparum malaria // Lancet. 1985. Vol. 1, N 8434. P. 885—888.
 121. Hendricks L. D., Childs G. E. Present knowledge of the in vitro cultivation of leishmania // In vitro cultivation of the pathogens of tropical diseases. Basel, 1980. P. 251—274. (TDR Ser.; Vol. 3).
 122. Hernandez A. G. Lectins as tool in parasitic research // Biochemical characterization of Leishmania/Ed. M. L. Chance, B. C. Walton. Geneva, 1982. P. 181—196.
 123. Hill G. C., Shimer S. P., Canghey B., Sauer L. S. Growth of infective forms of *Trypanosoma rhodesiense* in vitro, the causative agent of African trypanosomiasis // Science. 1978. Vol. 202. P. 763—765.
 124. Hiruni H., Doyle J. J., Hiruni K. African trypanosomes: cultivation of animal-infective *Trypanosoma brucei* in vitro // Ibid. 1977. Vol. 196. P. 992—994.
 125. Holz G. G., Beach D. H. Categorization of Old World leishmaniasis by cyclopropane fatty acid content of cultured promastigotes // Biochemical characterization of Leishmania/Ed. M. L. Chance, B. C. Beach. Geneva, 1982. P. 197—204.
 126. Immunology of parasitic infections/Ed. A. Cohen, K. S. Warren. Oxford: Blackwell, 1982. 343 p.
 127. Jaffe J. J., Lambert R. A. Glutathione S-transferase in adult *Dirofilaria immitis* and *Brugia pahandi* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 20, N 2. P. 199—206.
 128. Janse C. J., Van der Klooster P. F. J., Van der Kaay H. J. et al. DNA synthesis in *Plasmodium berghei* during asexual and sexual development // Ibid. P. 173—182.
 129. Janssens P. G. Chemotherapy of gastrointestinal nematodiasis in man // Handbook of experimental pharmacology/Ed. H. Van den Bossche, D. Thienpont, P. G. Janssens. Berlin etc.: Springer, 1985. Vol. 77. P. 183—406.
 130. Jungery M., Pasvol G., Newbald C. I., Weatherall D. J. A lectin-like receptor is involved in the invasion of red cells by *Plasmodium falciparum* // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1983. Vol. 80. P. 1018—1022.
 131. Kellina O. I., Passova O. M., Sajyanova V. M. et al. A new leishmania parasite of the great gerbil (*R. opimus*) in the USSR // Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 1985. Vol. 79. P. 872—874.
 132. Kilejian A. Immunological cross-reactivity of the histidine-rich protein of *Plasmodium lophurae* and the knob protein of *Plasmodium falciparum* // J. Parasitol. 1983. Vol. 69. P. 257—261.
 133. Kilejian A., Chen S., Stoma A. The biosynthesis of the histidine-rich protein of *Plasmodium lophurae* and the cloning of its gene in *Escherichia coli* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 14, N 1. P. 1—10.
 134. Kilejian A., Liao T. H., Trager W. Studies on the primary structure and biosynthesis of a histidine-rich polypeptide from the malaria parasite *Plasmodium lophurae* // Proc. Nat. Acad. Sci. US. 1975. Vol. 72. P. 3057—3059.
 135. Köhler P. Progress in molecular parasitology // Experientia. 1986. Vol. 42, N 4. P. 377—387.
 136. Knight M., Simpson A. J. G., Payares G. et al. Cell-free synthesis of *Schistosoma mansoni* surface antigens: stage specificity of their expression // EMBO Journal. 1984. Vol. 3. P. 213—219.
 137. Kumar N., Carter R. Biosynthesis of 2-stage specific membrane proteins during transformation of *Plasmodium gallinaceum* zygotes into ookinetes // Mol. and Biochem. Parasitol. 1985. Vol. 14, N 2. P. 127—140.
 138. Lawrie J. M., Jackson P. R., Stiteler J. M., Hockmeyer W. T. Identification of pathogenic *Leishmania* promastigotes by DNA: DNA hybridization

- with kinetoplast DNA cloned into *E. coli* plasmids // *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.* 1985. Vol. 34, N 2. P. 257—265.
139. *Lindstrom B., Ericsson O., Alvang G.* et al. Determination of chloroquine and its diethyl metabolite in whole blood an application for samples collected in capillary tubes and dried on filter paper // *Ther. Drug. Monit.* 1985. Vol. 7, N 2. P. 207—210.
 140. *Lyon J. A., Geller R. H., Haynes J. D.* et al. Epitope map and processing scheme for the 195000-dalton surface glycoprotein of *Plasmodium falciparum* merozoites from cloned overlapping segments of the gene // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1986. Vol. 83, N 9. P. 2989—2993.
 141. *McCutchan T. F., Hansen J. L., Dame J. B., Mulins J. A.* Mung bean nuclease cleaves plasmodium genomic DNA at sites before and after genes // *Ibid.* 1984. Vol. 225. P. 625—628.
 142. *McGarvey M., Perrin L., Mach B.* Expression and production in *Escherichia coli* of merozoite stage specific polypeptide antigens from *Plasmodium falciparum* // 44th Annu. Meet. Swiss Soc. Microbiol. Geneva, 1986. P. 99. (*Experientia*; Vol. 42, N 1).
 143. *McLaughlin G. L., Edlind T. D., Campbell G. H.* et al. Detection of *Plasmodium falciparum* using a synthetic DNA probe // *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.* 1985. Vol. 34, N 5. P. 837—840.
 144. *McLaughlin G. L., Edlind T. D., Uhler G. M.* Detection of *Babesia bovis* using DNA hybridization // *J. Protozool.* 1986. Vol. 33, N 1. P. 125—128.
 145. *Manel J.* Intracellular parasite killing induced by electron carriers. I: Effect of electron carriers on intracellular *Leishmania* spp. in macrophages from different genetic backgrounds // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 13, N 1. P. 83—96.
 146. *Manel J.* Mechanisms of survival of protozoan parasites in mononuclear phagocytes // *Parasitology.* 1984. Vol. 88. P. 579—592.
 147. *Manel J., Schnyder J., Baggiolini M.* Intracellular parasite killing by electron carriers. II: Correlation between parasite killing and the induction of oxidative events in macrophages // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1984. Vol. 13, N 1. P. 97—110.
 148. *Mansour J. M., Mansour T. E.* GTP-binding proteins associated with serotonin-activated adenylate cyclase in *Fasciola hepatica* // *Ibid.* 1986. 21, N 2. P. 139—149.
 149. *Matsumoto Y., Matsuda S., Yoshida Y.* Ultrastructure of human erythrocytes infected with *Plasmodium ovale* // *Amer. J. Trop. Med. and Hyg.* 1986. Vol. 35, N 4. P. 697—703.
 150. *Matsumoto Y., Matsuda S., Yoshida Y.* Ultrastructure of erythrocyte stage *Plasmodium ovale* in humans // *Ibid.* P. 689—696.
 151. *Mazier D., Landau I., Miltgen F.* et al. Infestation in vitro des hépatocytes humains par des sporozoites de *Plasmodium vivax*: schizogonie et libération des merozoites infestants pour des hématies humaines // *Ann. parasitol. hum. et comp.* 1983. Vol. 58, N 4. P. 405—406.
 152. *Mazier D., Landau I., Druilhe P.* et al. Cultivation of liver forms of *Plasmodium vivax* in human hepatocytes // *Nature.* 1984. Vol. 307. P. 367—369.
 153. *Mazier D., Beaudoin R. L., Mellouk R. L.* et al. Complete development of hepatic stages of *Plasmodium falciparum* in vitro // *Science.* 1985. Vol. 227. P. 440—442.
 154. *Marr J. J., Berens R. L.* Pyrazolopyrimidine metabolism in the pathogenic *Trypanosomatidae* // *Ibid.* 1983. Vol. 7, N 4. P. 339—356.
 155. *Mihaly G. W., Nicholl D. D., Edwards G.* et al. High-performance liquid chromatographic analysis of amodiaquine in human plasmas // *J. Chromatogr. Biomed. and Appl.* 1985. Vol. 337, N 1. P. 166—171.
 156. *Mikkelsen R. B., Wallach D. F. H., Van Doren E., Nillni E. A.* Membrane potential of erythrocytic stages of *Plasmodium chabaudi* free of the host cell membrane // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1986. Vol. 21, N 1. P. 83—91.
 157. *Milhous W. K., Weatherly Y. N. F., Bowdre J. H., Desjardins R. E.* In vitro activities and mechanisms of resistance to antifol antimalarial drugs // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985. Vol. 27, N 4. P. 525—530.
 158. *Mons B.* Recent progress with in vitro culture of *Plasmodium vivax* //

- IX Intern. Congr. Infect. and Parasit. Diseases: Abstr. Munich, 1986. Vol. P-7. P. 231.
159. Mons B., Croon A. B., Croon J. J. et al. In vitro culture of *Plasmodium berghei* using a new suspension system // Intern. J. Parasitol. 1983. Vol. 13. P. 213—217.
 160. Mons B., Croon A. B., Croon J. J. et al. Long-term in vitro cultures of *Plasmodium berghei* and preliminary observations on gametocytogenesis // Ibid. 1984. Vol. 14. P. 317—320.
 161. Morrisson D. D., Bennett J. L. GC/MS metabolic profiling analysis of intermediary metabolites from *Fasciola hepatica* and *Schistosoma mansoni* // Mol. and Biochem. Parasitol. Suppl.: Abstr. V Intern. Congr. Parasitol. Toronto, 1982. P. 114.
 162. Myler P., Nelson R. G., Agabian N., Stuart K. Two mechanisms of expression of a predominant variant antigen gene of *Trypanosoma brucei* // Nature. 1984. Vol. 309. P. 282—284.
 163. Nascetti G., Bullini L. Biochemical taxonomy of some ascaridoid nematodes // Abstr. V Intern. Congr. Parasitol. Toronto, 1982.
 164. Nene V., Dunne D. W., Johnson K. S. et al. Sequence and expression of a major egg antigen from *Schistosoma mansoni*: Homologies to heat shock proteins and alpha-crystallins // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 21, N 2. P. 179—187.
 165. New approaches to the identification of parasites and their vectors. Basel, 1984. (TDR Ser.; Vol. 5.)
 166. Nussenzweig V., Nussenzweig R. S. Development of a sporozoite malaria vaccine // Amer. J. Trop. Med. and Hyg. 1986. Vol. 35, N 4. P. 678—688.
 167. Oquendo P., Goman M., Mackay M. et al. Characterization of a repetitive DNA sequence from the malaria parasite *Plasmodium falciparum* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 18, N 1. P. 89—101.
 168. Orjih A. U., Cochrane A. H., Nussenzweig R. S. Active immunization and passive transfer of resistance against sporozoite-induced malaria in infant mice // Nature. 1981. Vol. 291. N 5813. P. 331—332.
 169. Ozaki L. S., Mattei D., Jendoubi M. et al. Plaque antibody selection rapid immunological analysis of a large number of recombinant phage clones positive to sera raised against *Plasmodium falciparum* antigens // J. Immunol. Meth. 1986. Vol. 89, N 2. P. 213—220.
 170. Ozaki L. S., Svec P., Nussenzweig R. S. et al. Structure of the *Plasmodium knowlesi* gene coding for the circum-sporozoite protein // Cell. 1983. Vol. 34. P. 815—822.
 171. Paolantonacci P., Lawrence F., Lederer F., Robert-Gero M. Protein methylation and protein methylases in *Leishmania donovani* *Leishmania tropica* promastigotes // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 21, N 1. P. 47—53.
 172. Parra J. F. C., Franca R. C. S., Kusel J. R. et al. *Schistosoma mansoni*: phospholipid methylation and the escape of schistosomula from in vitro cytotoxic reaction // Ibid. N 2. P. 151—159.
 173. Perler F. B., Karam M. Cloning and characterization of two *Onchocerca volvulus* repeated DNA sequences // Ibid. P. 171—177.
 174. Persson T., Wigzell H., Petersson U. Analysis of clinical specimens by hybridization with probe containing repetitive DNA from *Plasmodium falciparum*: A novel approach to malaria diagnosis // Lancet. 1984. Vol. 1, N 8376. P. 525—528.
 175. Petersen E. Tritiated hypoxanthine incorporation into fresh and stored blood implications for resistance determination in *Plasmodium falciparum* malaria // Ann. Trop. Med. and Parasitol. 1986. Vol. 80, N 2. P. 251—252.
 176. Petrov O., Bekli A., Kozyreva N. Benzo(G)quinoline binding with DNA secondary structure stabilization // Application of biochemical micromethods for the investigation of tropical diseases pathogens. Geneva: WHO, 1982. P. 207—209.
 177. Piper J. R., Laseter A. G., Montgomery J. A. Synthesis of potential inhibitors of hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase for testing as anti-protozoal agents. I: 7-substituted 6-oxopurines // J. Med. Chem. 1980. Vol. 23. P. 357—364.

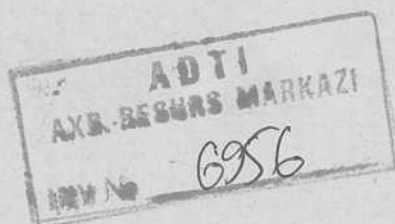
178. Pollack Y., Metzger S., Shemer R. Detection of *Plasmodium falciparum* in blood using DNA hybridization // Amer. J. Trop. Med. and Hyg. 1985. Vol. 34/41. P. 663—667.
179. Powell J. W., Stables J. N., Watt R. A. An N. M. R. study on the effect of glucose availability on carbohydrate metabolism in *Dipetalonema vitea* and *Brugia pahangi* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 19. P. 265—271.
180. Principles of Malaria vaccine trials: report of a joint meeting of the scientific working groups in immunology of malaria and on applied field research in malaria // TDR / IMMAL-Fiel / M al / Vac. Geneva. 1985. Vol. 3.
181. Pudney M., Varma M. G. R. Present state of knowledge of in vitro cultivation of filariae // The in vitro cultivation of pathogens of tropical diseases. Basel, 1980. P. 367—389. (TDR. Ser.; Vol. 3).
182. Qu L. H., Hardman N., Gill L. et al. Phylogeny of helminths determined by rRNA sequence comparison // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 20, N 1. P. 93—99.
183. Rabson A. B., Rabson A. S. Recombinant DNA technology and laboratory medicine // Arch. Pathol. and Lab. Med. 1983. Vol. 107, N 10. P. 505—509.
184. Rajasekariah G. R., Rickard M. D., Donnell I. J. *Taenia pisiformis* protective immunization of rabbit with solubilized oncospherical antigens // Exp. Parasitol. 1985. Vol. 59, N 3. P. 321—327.
185. Rangel-Aldao R., Comach C., Allende O. et al. *Trypanosoma cruzi*: polypeptide markers of epimastigotes and trypomastigotes // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 20, N 1. P. 25—31.
186. Rassam M. B., Dawood N. S. Purification and properties of cytochrome c_{555} from *Leishmania donovani* // Ibid. Vol. 21. N 1. P. 1—5.
187. Rathod P. K., Reyes P. Orotidylate-metabolizing enzymes of the human malarial parasite, *Plasmodium falciparum*, differ from host-cell enzymes // J. Biol. Chem. 1983. Vol. 258, N 5. P. 2852—2855.
188. Ravetch J. V., Feder R., Pavlovic A., Blobel G. Primary structure and genomic organization of the malaria parasite *Plasmodium lophurae* // Nature. 1984. Vol. 312. P. 616—620.
189. Ravindran B., Sharma B. K., Pillai C. R., Hussain Q. Z. Leucocyte migration inhibition test in human *Plasmodium vivax* malaria // J. Trop. Med. and Hyg. 1983. Vol. 86, N 6. P. 207—211.
190. Remaley A. T., Kuhns D. B., Basford R. E. et al. Leishmanial phosphatase blocks neutrophil O_2^- production // Ibid. 1984. Vol. 259. P. 11173—11175.
191. Remaley A. T., Das S., Campbell P. I. et al. Characterization of *Leishmania donovani* acid phosphatases // J. Biol. Chem. 1985. Vol. 260. P. 880—886.
192. Riou J. F., Gabillot M., Philippe M. et al. Purification and characterization of *Plasmodium berghei* DNA topoisomerases I and II drug action inhibition of decatenation and relaxation and stimulation of DNA cleavage // Biochemistry. 1986. Vol. 25, N 7. P. 1471—1479.
193. Rollinson D., Walker T. K., Simpson A. J. G. New approaches to shistosoma identification // Parasitol. Today, 1986. Vol. 2, N 6. 24—25.
194. Ryan L., Phillips A., Milligan P. et al. Separation of female *Psychodopygus wellcomei* and *P. complexus* (Diptera: Psychodidae) by cultural hydrocarbon analysis // Acta trop. 1986. Vol. 43. P. 85—89.
195. Saint R. B., Beall J. A., Grumont R. J. et al. Expression of *Schistosoma japonicum* antigens in *Escherichia coli* // Mol. and Biochem. Parasitol. 1986. Vol. 18, N 3. P. 333—342.
196. Salafsky B., Fusco A. C. *Schistosoma mansoni* cercarial eicosanoid production and penetration response inhibited by esculetin and ibuprofen // Exp. Parasitol. 1985. Vol. 60, N 1. P. 73—81.
197. Salako R. A., Idowu O. R. Failure to detect amodiaquine in the blood after oral administration // Brit. J. Clin. Pharmacol. 1985. Vol. 20, N 4. P. 307—312.
198. Santoro F., Cochrane A. H., Nussenzweig V. et al. Structural similarities among the protective antigens of sporozoites from different species of malaria parasites // J. Biol. Chem. 1983. Vol. 258, N 5. P. 3341—3345.
199. Schimandle C. M., Sherman I. W. Characterization of adenosine deaminase

- from the malarial parasite, *Plasmodium lophurae* and its host-cell, the duckling erythrocyte // *Biochem. Pharmacol.* 1983. Vol. 32. P. 115—122.
200. Schmidt-Ullrich R., Wallach D. F. H., Monroe M. M. T. Membrane orientation and antigenic peptides of an immuniprotective 74 kDa *Plasmodium knowlesi* glycoprotein // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1986. Vol. 20, N 1. P. 15—23.
 201. Schmitz B., Klein R. A., Egge H., Peter-Katalinic J. A study of the membrane attachment site of the membrane-form variant surface glycoprotein from *Trypanosoma brucei* using lipid vesicles as a model of the plasma membrane // *Ibid.* N 2. P. 191—197.
 202. Schnell S., Becker W., Winkler A. Amino-acid metabolism in the freshwater pulmonate *Biomphalaria glabrata* infected with the trematode *Schistosoma mansoni* // *Comp. Biochem. and Physiol. B.* 1985. Vol. 81, N 4. P. 1001—1008.
 203. Shamansky L. M., Liu H. Y., Hager L. Pl., Ristic M. Purification and characterization of culture-derived exoantigens of *Plasmodium falciparum* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 17, N 3. P. 299—310.
 204. Sharma S., Godson G. N. Expression of the major surface antigen of *Plasmodium knowlesi* sporozoites in yeast // *Science.* 1985. Vol. 228, N 4701. P. 879—882.
 205. Seed J. R., Hall J. E. Identification and quantification of metabolic substrates and end-products in parasite and vector identification // *New approaches to the identification of parasites and their vectors.* Basel, 1984. P. 115—130. (TDR Ser.; Vol. 5.)
 206. Simpson A. G. J., Smithers S. R. Schistosomes: surface, eggs and circulating antigens // *Current topics in microbiology and immunology* / Ed. M. R. E. Parkhouse. Heidelberg: Springer, 1985. P. 205—239.
 207. Smith G. L., Godson G. N., Nussenzweig V. et al. *Plasmodium knowlesi* sporozoite antigen expression by infectious recombinant vaccinia virus // *Science.* 1984. Vol. 224, N. 4647. P. 397—399.
 208. Special Programme for research and training in tropical diseases: Report of the Steering committees of the scientific working groups on malaria (1980—83). Geneva: WHO, 1983. 179 p.
 209. Special Programme for research and training in tropical diseases: Seventh programme report (1983—84). Geneva: WNO. 1985, N 14/10.
 210. Stahl H. D., Grewther P. E., Anders R. F. et al. Interdispersed blocks of repetitive and charged amino acids in a dominant immunogen of *Plasmodium falciparum* // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1985. Vol. 82. P. 543—547.
 211. Stein L. D., David J. R. Cloning of a developmentally regulated tegument antigen of *Schistosoma mansoni* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1986. Vol. 20, N 3. P. 253—263.
 212. Stieger J., Seebeck T. Monoclonal antibodies against a 60 kDa phenothiazine-binding protein from *Trypanosoma brucei* can discriminate between different trypanosome species // *Ibid.* Vol. 21, N 1. P. 37—45.
 213. Stocker R., Hunt N. H., Buffinton G. D. et al. Oxidative stress and protective mechanisms in erythrocytes in relation to *Plasmodium vinckei* load // *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* 1985. Vol. 82, N 2. P. 548—551.
 214. Sweeney T. R. Biochemical approaches to antimalarial drugs // *Modern desing of antimalarial drugs* / Ed. W. Wernsdorfer, P. I. Trigg. Geneva: TDR Progr., 1983.
 215. Taylor D. W., Cordingley J. S., Butterworth A. F. *Onchocerca volvulus*: immunoprecipitation of surface antigens and in vitro translation products // *Parasitology.* 1984. Vol. 89. P. 305—318.
 216. Theoharides A. D., Chung H., Velazquez H. Metabolism of a potential 8 aminoquinoline antileishmanial drug in rat-liver microsomes // *Biochem. Pharmacol.* 1985. Vol. 34, N 2. P. 181—188.
 217. Thissen J., Desai S., McCartney P., Komuniecki R. Improved purification of the pyruvate dehydrogenase complex from *Ascaris suum* body muscle and characterization of PDH_B kinase activity // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1986. Vol. 21, N 2. P. 129—137.

218. *Trager W., Jensen J. B.* Cultivation of malarial parasites // *Nature*. 1978. Vol. 273. P. 621—622.
219. *Trigg P. I.* Recent advances in malaria parasite cultivation and their application to studies on host-parasite relationships: A review // *Bull. WHO*. 1985. Vol. 63, N 2. P. 387—396.
220. *Unger E. R., Budgeon L. R., Myerson D., Brigati D. J.* Viral diagnosis by in situ hybridization: Description of a rapid simplified colorimetric method // *Amer. J. Surg. Pathol.* 1986. Vol. 10, N 1. P. 1—8.
221. *Verdier F., Le Bras J., Clavier F.* et al. Chloroquine uptake by *Plasmodium falciparum* infected human erythrocytes during in vitro culture and its relationship to chloroquine resistance // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985. Vol. 27, N 4. P. 561—564.
222. *Vermeulen A. N., Van Deursen J., Brakenhoff R. H.* et al. Th. Characterization of *Plasmodium falciparum* sexual stage antigens and their biosynthesis in synchronised gametocyte cultures // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1986. Vol. 20, N 2. P. 155—163.
223. *Vial H. J., Thuet M. J., Philpott J. R.* Cholinephosphotransferase activities in *Plasmodium knowlesi*-infected erythrocytes. Their use as parasite-specific markers // *Biochem. et biophys. acta*. 1984. Vol. 795, N 2. P. 372—383.
224. *Vial H. J., Thuet M. J., Ancelin M. L.* et al. Phospholipid metabolism as a new target for malaria chemotherapy. Mechanism of action of D-2-amino-1-butanol // *Biochem. Pharmacol.* 1984. Vol. 33, N 17. P. 2761—2770.
225. *Wahlgren M., Aslund L., Franzen L.* et al. A *Plasmodium falciparum* antigen containing clusters of asparagine residues // *Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1986. Vol. 83, N 8. P. 2677—2681.
226. *Wakelin D.* Genetic control of immunity to helminth infection // *Parasitol. Today*. 1985. Vol. 1. P. 17—23.
227. *Walker T. K., Rollison D., Simpson A. J. G.* Differentiation of *Schistosoma haematobium* from related species using cloned ribosomal RNA gene probes // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1986. Vol. 20, N 2. P. 111—121.
228. *Watkins W. M., Sixsmith D. G., Chulay J. D., Spencer H. C.* Antagonism of sulfadoxine and pyrimethamine antimalarial activity in vitro p-aminobenzoic acid, p-aminobenzoic acid folic acid // *Ibid.* 1985. Vol. 14. P. 55—62.
229. *Whaun J. M., Brown N. D.* Ornithine decarboxylase inhibition and the malaria-infected red cell a model for polyamine metabolism and growth // *J. Pharmacol. and Exp. Ther.* 1985. Vol. 233, N 2. P. 507—511.
230. *Wirth D. F., MacMahon-Pratt D.* Rapid identification of *Leishmania* species by specific hybridization of kinetoplast DNA // *Proc. Nat. Acad. Sci. US*. 1982. Vol. 77. P. 6999—67011.
231. DNA probes in the detection of parasitic infections // *Proc. IX Intern. Congr. Infect. and Parasit. Diseases*. Munich, 1986. P. 31—33.
232. *Yarlett N., Gorrell T. E., Marczak R., Muller M.* Reduction of nitroimidazol derivatives by hydrogenosomal extracts of *Trichomonas vaginalis* // *Mol. and Biochem. Parasitol.* 1985. Vol. 14, N 1. P. 29—40.
233. *Wulff K.* Nucleic acids as analytes in laboratory diagnosis // *Arzneimittelforschung*. 1986. Bd. 36, N 1. S. 157—161.

ОГЛАВЛЕНИЕ

От автора	3
Введение	4
Геном паразитов	28
Обмен белков и аминокислот	84
Биоэнергетика эндопаразитов	104
Изменения путей обмена на последовательных стадиях цикла развития эндопаразитов	138
Молекулярные аспекты взаимоотношений паразита и хозяина	149
Возникновение и эволюция паразитизма	167
Задачи молекулярной паразитологии	184



Федор Федорович Сопрунов

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПАРАЗИТИЗМА

Утверждено к печати Всесоюзным обществом гельминтологов Академии наук СССР

Редактор издательства Р.Л. Цыбульская

Художник Л.А. Григорян. Художественный редактор М.Л. Храмцов

Технические редакторы О.В. Аредова, Л.Н. Богданова

Корректор О.А. Разуменко

ИБ № 35519

Подписано к печати 03.07.87. Т — 15522. Формат 60 x 90 1/16
Бумага книжно-журнальная. Гарнитура Литературная (фотонабор). Печать офсетная
Усл.печ.л. 14,0. Усл.кр.-отт. 14,4. Уч.-изд.л. 18,7. Тираж 1100 экз.
Тип. зак. 260. Цена 3 р. 60 к.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство "Наука"
117864 ГСП-7, Москва В-485, Профсоюзная ул., д. 90

2-я типография издательства "Наука"
121099, Москва Г-99, Шубинский пер., 6