

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕНЕТИКА ПРОСТЕЙШИХ,
ПАТОГЕННЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХCOMPARATIVE GENETICS OF PROTOZOA,
PATHOGENIC TO HUMANS AND ANIMALS**N. Fokina
A. Grinev**

Summary. The polyphyletic group Protozoa includes unicellular eukaryotic organisms, many of which are parasites of humans and animals. Their molecular-genetic features, however, are only weakly studied. The aim of this work is to systematize and analyze the main quantitative indicators that characterize the genetic features of representatives of the polyphyletic group Protozoa that are pathogenic to humans and animals, as well as some specific characteristics inherent to their individual clades.

Keywords: Protozoa, protozoans, genetics, invasive diseases, host-parasite system.

Фокина Наталья Юрьевна

Аспирант, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет)
retrospector@yandex.ru

Гринев Александр Борисович

Кандидат биологических наук,
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет)
sagrinev@yandex.ru

Аннотация. Полифилетическая группа Protozoa включает в себя одноклеточные эукариотные организмы, многие из которых являются паразитами человека и животных. При этом их молекулярно-генетические особенности изучены слабо. Целью настоящей работы является систематизация и анализ основных количественных показателей, характеризующих генетические особенности патогенных для человека и животных представителей полифилетической группы Protozoa, а также некоторых частных характеристик, присущих их отдельным кладам.

Ключевые слова: Protozoa, простейшие, генетика, инвазионные болезни, система «паразит-хозяин».

Введение

Многие простейшие являются паразитами человека и животных. Причем, важное значение для этиологии и патогенеза инвазионных заболеваний имеют молекулярно-генетические особенности паразита. Целью настоящей работы является сравнительный анализ организации геномов наиболее распространенных представителей полифилетической группы Protozoa, которые вызывают паразитарные заболевания у человека и животных. В работе будут рассмотрены таксоны, традиционно относимые к простейшим, за исключением входящих в настоящее время в иные царства (т.е. типов Microsporidia и Muxosporidia), с учетом их современного систематического положения.

Материалы и методы

Материалом для исследования выступали данные о строении геномов простейших, паразитирующих на человеке и других животных, которые к настоящему моменту были секвенированы и имеются в открытом доступе. Информация была получена из базы данных GenBank. Сравнение проводилось по основным количественным показателям [2, с. 150].

Результаты

Ниже подробно проанализированы результаты, полученные при сравнении вышеупомянутых показателей, а также описаны специфические молекулярно-генетические особенности, присущие отдельным кладам в составе полифилетической группы Protozoa.

1. Супергруппа SAR

Супергруппа SAR (Stramenopiles, Alveolata, Rhizaria) включает в себя таких представителей, как *Plasmodium* spp. — возбудителей малярии, возбудителей токсоплазмоза (*Toxoplasma gondii*), пироплазмозов (отряд Piroplasmida); паразитических инфузорий типа Ciliophora, вызывающих такие заболевания, как балантидиаз и ихтиофтириоз, а также многих других патогенных для человека и животных простейших [5, с. 320].

1.1. Надтип Alveolata

Тип Apicomplexa. Род *Plasmodium*

Род *Plasmodium* является одним из наиболее изученных таксонов из числа простейших. В первую очередь, это связано с высокой заболеваемостью смертностью от малярии. У человека это заболевание вызывают пять видов плазмодиев.

Таблица 1.

Сравнительная характеристика геномов
паразитических простейших (по данным GenBank)

	Кол-во хромосом	Размер генома	Кол-во белков	GC- состав
Супергруппа SAR, надтип Alveolata				
Тип Apicomplexa				
<i>Plasmodium falciparum</i>	14+MT+API	23.4945	5929	19.8551
<i>Plasmodium knowlesi</i>	14+MT+API	24.3599	5194	38.6189
<i>Plasmodium malariae</i>	14+MT+API	31.9252	5960	24.7
<i>Plasmodium ovale</i>	14+MT+API	35.0868	8098	28.7513
<i>Plasmodium vivax</i>	14+MT+API	29.0402	6381	39.7917
<i>Babesia bovis</i>	2+MT+API	8.17971	3674	41.6972
<i>Babesia divergens</i>	н/д	9.65187	н/д	42.45
<i>Babesia microti</i>	4+MT+API	6.43801	3601	36.3
<i>Cytauxzoon felis</i>	н/д	9.10917	н/д	31.8
<i>Theileria equi</i>	2+MT+API	10.7328	5327	40.2168
<i>Toxoplasma gondii</i>	11-14+MT+API	64.5312	9376	52.3
Тип Ciliophora				
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	н/д	48.8	16112	15.95
Супергруппа SAR, надтип Rhizaria				
<i>Paramikrocytos cancri</i>	н/д	15.2329	н/д	30.7
Надцарство Excavata				
<i>Leishmania braziliensis</i>	36+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	33.7558	8202	57.3627
<i>Leishmania chagasi</i>	36+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	31.9248	н/д	59.4283
<i>Leishmania donovani</i>	36+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	32.445	8014	59.1146
<i>Leishmania infantum</i>	36+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	32.1221	8338	59.5625
<i>Leishmania major</i>	36+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	32.7976	8412	59.6469
<i>Leishmania mexicana</i>	34+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	32.0829	8147	59.7896

	Кол-во хромосом	Размер генома	Кол-во белков	GC- состав
<i>Leishmania panamensis</i>	35+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	30.9764	7748	57.444
<i>Leishmania tropica</i>	36+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	32.2807	н/д	59.6
<i>Trypanosoma brucei</i>	10+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	26.9917	8758	46.2229
<i>Trypanosoma cruzi</i>	40+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	30.4226	13965	50.6
<i>Trypanosoma equiperdum</i>	н/д	26.228	7668	45.7
<i>Trypanosoma evansi</i>	10+~10K _{max} +~10 ³ K _{min}	25.4322	н/д	46.5285
<i>Trichomonas elongata</i>	н/д	55.0605	н/д	34.15
<i>Lambliа intestinalis</i>	5+MT	11.4675	4986	47.3
<i>Naegleria fowleri</i>	н/д	27.7913		
Надцарство Amoebozoa				
<i>Entamoeba histolytica</i>	≥15	17.8483	7406	24.95
<i>Entamoeba invadens</i>	н/д	40.88	11997	30.3
<i>Entamoeba nutalli</i>	н/д	14.4	6187	25.1
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	~30+MT [6]	40.88	14969	30.3
<i>Acanthamoeba triangularis</i>	н/д	66.4284	н/д	58.6
<i>Acanthamoeba quina</i>	н/д	83.589	н/д	59.2
<i>Balamuthia mandrillaris</i>	н/д	55.9637	н/д	46.7966

Прим. API — геномапикопласта, MT — митохондриальный геном, K — геном кинетопласта: K_{max} — максикольца, K_{min} — миникольца, н/д — нет данных. Количество максикольцев и миникольцев указано сточностью до порядка. Если не указано иное, каждая из внеядерных органелл содержит одну хромосому

Геномы *P. falciparum* и *P. vivax* достаточно хорошо изучены. Их кариотип насчитывает 14 хромосом, а также имеются две хромосомы в составе митохондрии и апи-копласта. Характерной особенностью генома является низкое содержание гуанина и цитозина в ДНК. В то вре-

мя как у *P. vivax* оно составляет около 40 %, у *P. falciparum* содержание гуанина и цитозина вдвое меньше и составляет менее 20 %, что является одним из наименьших показателей среди всех живых организмов [9, с. 280]. Причины подобного явления до сих пор неизвестны, однако филогенетический анализ показал, что геном общего предка *Plasmodium* spp. также был крайне богат аденином и тиминном.

Крайне важное значение для обеспечения жизнедеятельности организма имеет регуляция уровня экспрессии генов. Одним из них является наличие у *P. falciparum* механизма, сходного с РНК-интерференцией. В работе было показано, что необходимые для протекания РНК-интерференции структуры отсутствуют у всех изученных представителей рода *Plasmodium*. Тем не менее, было установлено, что необходимые белки вместе с микроРНК импортируются извне, из клеток человека [1, с. 200]. Такой механизм совершенно нетипичен для простейших и чаще всего встречается у высших растений. В 2012 году было установлено, что микроРНК человека способны проникать в организм плазмодия и комплексно связываться с иРНК последнего, в результате чего образуются дуплексы, препятствующие трансляции белков, кодируемых данными иРНК.

Род *Toxoplasma*

Род *Toxoplasma* имеет в своем составе единственный вид — *T. gondii*, возбудителя токсоплазмоза. Заболевание очень широко распространено: уровень серопревалентности составляет 25.7 % по всему миру. Геном *T. gondii* является одним из самых крупных среди простейших и достаточно GC-насыщенным — его размер составляет около 64.5 млн пар нуклеотидов, GC-состав — 52.3 %. По сравнению с размером генома, количество белок-кодирующих генов относительно невелико и насчитывает менее 9.5 тысяч генов [6, с. 100].

T. gondii — один из немногих представителей типа Apicomplexa, у кого подтверждено наличие стандартного механизма РНК-интерференции. Биогенез микроРНК из их предшественников у *T. gondii* достаточно хорошо изучен, в т.ч. проводилось моделирование взаимодействий выявленных микроРНК с иРНК организма и экспериментальное подтверждение построенной модели, используя доступные данные секвенирования РНК. Однако, стоит отметить, что, так же, как и в случае заболевания малярией, при инвазии *T. gondii* в пораженных тканях человека наблюдается изменение уровней содержания некоторых микроРНК, а именно, miR-146a, miR-155, miR-132, а также микроРНК кластера miR-17-92. Более того, токсоплазма способна экзоцитировать микроРНК и взаимодействовать посредством них с макроорганизмом, вызывая дерегуляцию таких его ключевых сигнальных путей, как STAT и NF-κB, а также онкогена c-myc.

Отряд Piroplasmida

Геномы пироплазмид — одни из самых небольших среди паразитических простейших. Вместе с тем, белок-кодирующие гены расположены в них достаточно плотно [8, с. 250]. Например, количество белок-кодирующих генов у *Theileria equi* сопоставимо с таковым у большинства представителей рода *Plasmodium*, хотя размер генома последних в 2–3 раза крупнее, чем у тейлерий.

За почти полутора вековую историю изучения, систематика пироплазмид претерпела множество изменений. Например, различных представителей рода *Babesia* в разное время относили к родам *Piroplasma*, *Nuttallia*, *Microbabesia*, *Babesiella*, *Gonderia* и *Francaielli*. В настоящее время, как правило, выделяют три рода в составе отряда: *Babesia*, *Theileria* и *Cytauxzoon*, но с появлением новых данных, систематика регулярно подвергается пересмотру. Пироплазмидозами болеют многие домашние и сельскохозяйственные животные: крупный и мелкий рогатый скот, лошади, собаки, кошки [1, с. 24]. Известны случаи заболевания бабезиозом у человека; возбудителями могут выступать четыре вида бабезий: *B. divergens*, *B. microti*, *B. duncani*, *B. venatorum*.

Тип Ciliophora

Тип Ciliophora включает в себя ресничных инфузорий. Большая часть из них относится к свободноживущим организмам, однако около 30 % ведут паразитический образ жизни [15, с. 143]. Почти все они паразитируют на беспозвоночных и рыбах. Для человека патогенным является только один вид ресничных инфузорий, *Balantidium coli*.

Геном достаточно крупный, как по размеру, так и по количеству белок-кодирующих генов, крайне бедный гуанином и цитозином: они составляют лишь около 16 % от всех нуклеотидов в геноме.

Отличительной особенностью типа Ciliophora, с точки зрения организации генома, является ядерный диморфизм. Из-за большого количества т.н. внутренних элиминируемых последовательностей (internally eliminated sequences, IES), в т.ч. транспозонов, в составе микронуклеуса, он практически постоянно находится в неактивном состоянии [10, с. 160]. Поддержание генетического разнообразия обеспечивается посредством конъюгации. Установлено, что паразитические инфузории утратили до 40% генов, отвечающих за конъюгацию.

1.2. Надтип Rhizaria

Надтип морфологически неоднороден, среди входящих в состав ризарий паразитических простейших — классы Ascetosporea и Phytomyxea, однако последние

являются паразитами растений, оомицетов, диатомовых и бурых водорослей, а потому их рассмотрение выходит за рамки настоящей работы [3, с. 55].

Класс Ascetosporea

Для животных патогенны представители трех порядков в составе класса: *Harposporida*, *Mikrocytida* и *Paramyxida*. Они представляют собой внутриклеточных паразитов морских беспозвоночных: турбеллярий, аннелид, моллюсков, ракообразных. К настоящему времени секвенирован геном лишь одного организма, относящегося к данному типу, *Paramikrocytos canceri*, паразитирующего на ракообразных. Структура генома изучена относительно слабо: количество хромосом и количество белок-кодирующих генов неизвестно [7, с. 90]. Однако, исходя из имеющихся данных, она является типичной для большинства простейших: размер генома невелик и составляет около 15 млн пар нуклеотидов, доля гуанина и цитозина составляет 30.7 %.

2. Надцарство Excavata

Большое значение при выделении экскават в отдельную группу, как и в случае ризарий, имели молекулярно-генетические данные. Однако, в отличие от последних, у большинства экскават также имеются общие морфологические особенности. Большинство экскават имеет два, четыре или более жгутиков [12, с. 210]. Один из них направлен назад и расположен в вентральной борозде, из-за наличия которой таксон и получил свое название.

2.1. Тип Euglenozoa

Род *Trypanosoma*

Семейство Trypanosomatidae, к которому принадлежат трипаномы, включает в себя возбудителей таких заболеваний человека, как африканский трипаномоз, который вызывается простейшими вида *T. brucei*, и болезнь Шагаса (возбудитель *T. cruzi*). У других животных, например, у лошадей и других представителей семейства Equidae, а также верблюдов, собак и ряда других животных, *T. ninaekohljakimovae* (= *evansi*) вызывает заболевание су-ауру (сурра). Еще одним заболеванием, которому подвержены одомашненные непарнокопытные, является т.н. случная болезнь лошадей.

Для представителей семейства Trypanosomatidae характерна полицистронная организация генома, однако, в отличие от оперонов прокариот, гены, транскрибирующиеся совместно, могут быть функционально не связаны друг с другом. Кроме того, в геноме трипаносоматид практически полностью отсутствуют интроны и межгенные промежутки, что обуславливает высокую информационную плотность генома данных организмов.

Характерной особенностью представителей рода *Trypanosoma* является наличие у них явления транссплайсинга [14, с. 250]. В то время как у большинства эукариотных организмов сплайсинг представляет собой цис-реакцию, для формирования зрелой, способной к трансляции иРНК у трипаносом первичному транскрипту необходимо соединиться с т.н. сплайсированным лидером — 37-нуклеотидной молекулой РНК. Эта молекула закодирована в повторяющихся участках генома. Она транскрибируется в виде РНК со сплайсированным лидером (СЛ РНК) длиной до 100 нуклеотидов. Общий принцип данного механизма проиллюстрирован на рисунке 1.

Как и другие представители отряда Kinetoplastida, трипаномы имеют крупную видоизмененную митохондрию, содержащую компартмент, называемый кинетопластом. Он содержит ДНК, представленную т. н. макси- и миникольцами. Максикольца, которых в кинетопласте имеется несколько десятков, содержат белок-кодирующие гены, а миникольца, в количестве нескольких тысяч на кинетопласт, содержат гены, кодирующие направляющую РНК, которая необходима для регуляции экспрессии генов, содержащихся в максикольцах.

Виды, относящиеся к роду *Trypanosoma*, сильно отличаются как с точки зрения организации генома, так и особенностей функционирования молекулярно-генетического аппарата.

К примеру, исключительно у возбудителя сонной болезни *T. brucei* имеется вариабельный поверхностный гликопротеид (ВПГ), позволяющий паразиту избегать иммунную систему хозяина. ВПГ образуют димеры, плотно расположенные на поверхности клетки и скрывающие инвариантные эпитопы от связывания с антителами хозяина.

Еще одной особенностью является неканоническое использование трипаносоматидами РНК-полимеразы 1, область применения которой у большинства эукариотных организмов ограничена лишь трансляцией рибосомной РНК. Однако у *T. brucei* с помощью данной РНК-полимеразы также транскрибируются информационные РНК, в частности, кодирующие вариабельные поверхностные белки и белок проциклин.

Род *Leishmania*

Совместно с трипаносомами, лейшмании входят в класс Kinetoplastida типа Euglenozoa.

В отличие от трипаносом, лейшмании обладают гораздо большим единообразием в организации генома [4, с. 180]. Геном лейшманий имеет размер около 32 млн пар нуклеотидов и включает в себя 36 хромосом. Коли-

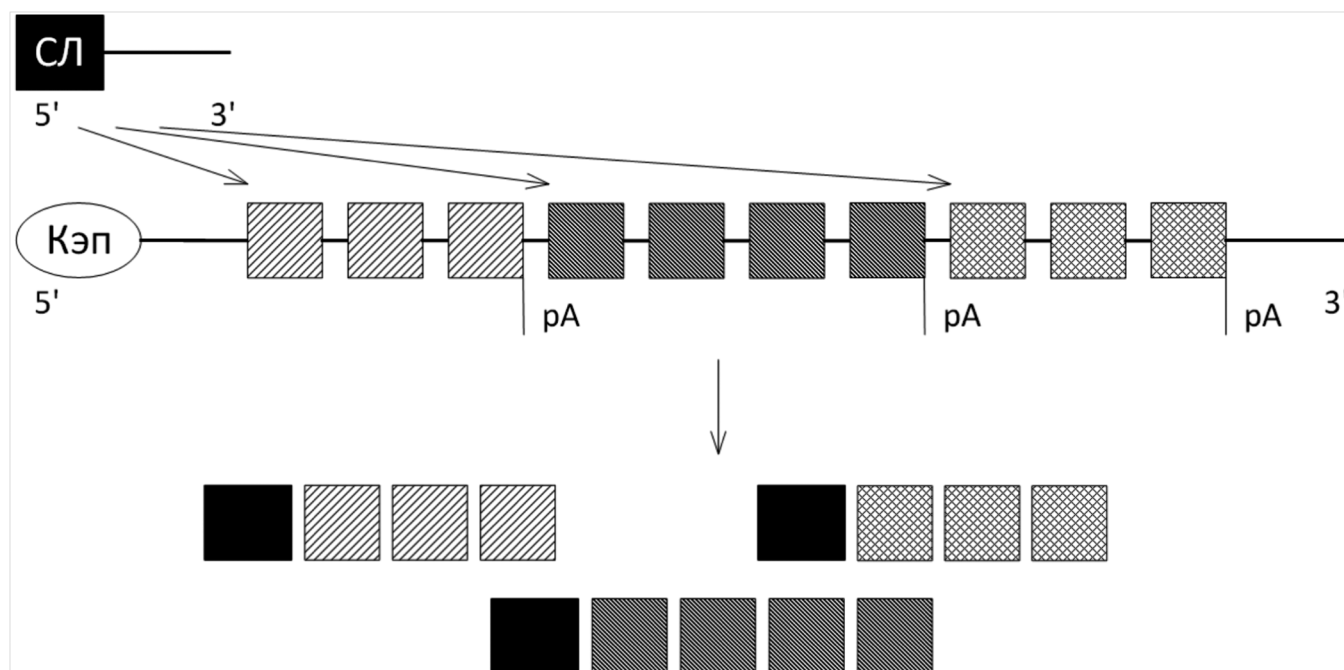


Рис. 1. Принципиальная схема транс-сплайсинга у *T. brucei*; символами СЛ обозначен сплайсированный лидер, pA — присоединение полиаденилового фрагмента, квадратами с различной штриховкой обозначены экзоны разных генов

чество белок-кодирующих генов составляет от 8 до 9 тысяч экземпляров. Геномы лейшманий крайне GC-богаты: на долю гуанина и цитозина приходится более 59% нуклеотидов в геноме.

2.2. Тип Percolozoa

Род *Naegleria*

Несмотря на то, что большинство неглерий — свободноживущие организмы, один из видов в составе рода, *Naegleria fowleri*, является факультативным паразитом человека.

Геном неглерий включает в себя 12 хромосом, а также еще около 4000 внехромосомных плазмид, кодирующих рибосомные РНК. При том, что размер генома сравнительно невелик, как и у некоторых трипаносом, гены расположены очень плотно, и количество белок-кодирующих генов у них является одним из наибольших среди всех паразитических простейших.

3. Надцарство Amoebozoa

Преимущественно, для человека патогенны представители надцарства, относящиеся к двум родам: *Entamoeba* и *Acanthamoeba*.

Акантамебы, как правило, являются свободноживущими организмами, однако могут выступать в качестве факультативных паразитов, вызывающих амёбный кератит и амёбный менингоэнцефалит. Помимо представителей рода *Acanthamoeba*, гранулематозный амёбный

энцефалит могут вызывать и амёбы вида *Balamuthia mandrillaris*.

В отличие от большинства других простейших в целом и представителей надцарства Amoebozoa в частности, у *E. histolytica* вместо митохондрии имеется т.н. митосома — видоизмененная митохондрия, не содержащая ДНК. Это обусловлено тем, что дизентерийная амёба в организме хозяина является анаэробным микроорганизмом [13, с. 300].

Заключение

С течением времени наблюдается конвергенция различных признаков генетических аппаратов между некоторыми видами, относящимися к различным кладам простейших.

В то время, как строение геномов многих видов паразитических простейших изучено достаточно хорошо, того же нельзя сказать про их функциональные особенности, среди которых особенно выделяется регуляция экспрессии генов, в частности, посредством РНК-интерференции.

Несмотря на то, что направление активно развивается, и у части простейших предполагается либо экспериментально подтверждено наличие данного механизма, в ряде случаев, достаточно противоречивы. Кроме того, результаты многих исследований последних лет свидетельствуют о том, что нецелесообразно изучать механизм РНК-интерференции у паразитических простейших изолированно, вне системы «паразит-хозяин».

ЛИТЕРАТУРА

1. Агол И.И. Происхождение животных и человека. — 2-е изд. — Москва: [б. и.], 2012. — 200 с. — (Из наследия естественно-научной мысли: биология).
2. Буторина А.К., Калаев В.Н. Лекции по генетике человека: учебное пособие по курсу «Человек». — Воронеж: [б. и.], 2003. — 150 с.
3. Дунин И.М., Прудов А.И., Бороздин Э.К., Жигачев А.И. Современные проблемы генетики и селекции животных // Сельскохозяйственная биология. — 1987. — Т. 22, № 11. — С. 50–57.
4. Яковлев В.В. Происхождение человека на Земле. — СПб.: [б. и.], 2003. — 180 с.
5. Клёсов А.А., Тюняев А.А. Происхождение человека: по данным археологии, антропологии и ДНК-генеалогии. — Москва: [б. и.], 2010. — 320 с.
6. Захаров-Гезехус И.А. Сравнительная генетика животных: НИР: грант № НШ-3914.2008.4. — Москва: Совет по грантам Президента Российской Федерации, 2008. — 100 с.
7. Захаров-Гезехус И.А. Сравнительная генетика животных: НИР: грант № НШ-10122.2006.4. — Москва: Совет по грантам Президента Российской Федерации, 2006. — 90 с.
8. Клеточное и генетическое строение человека: иллюстрированный справочник. — Москва: [б. и.], 2009. — 250 с. — (Человеческое тело. Анатомия).
9. Клеточное и генетическое строение человека: самый полный справочник по анатомии человека. — Москва: [б. и.], 2008. — 280 с. — (Человеческое тело. Анатомия: иллюстрированный справочник).
10. Мяндина Г. И., Тарасенко Е.В. Биология: конспект лекций для иностранных студентов, обучающихся по специальности «Лечебное дело». — Москва: [б. и.], 2014. — 160 с.
11. Тетушкин Е.Я. Молекулярная и фенотипическая дивергенция приматов: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. — Москва: Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 2009. — 24 с.
12. Гнатик Е.Н. Генетика человека. Былое и грядущее. — Москва: [б. и.], 2007. — 210 с.
13. Актуальные проблемы генетики, селекции и воспроизводства сельскохозяйственных животных: сборник научных трудов. — Санкт-Петербург; Павловск: [б. и.], 2011. — 300 с.
14. Гендон Ю.З. Генетика вирусов человека и животных. — Москва: [б. и.], 1967. — 250 с.
15. Медникова М.Б. Современная концепция биологического вида и происхождение человека // Орус: Междисциплинарные исследования в археологии / ред. А.П. Бужилова. — Москва: [б. и.], 2008. — С. 141–152.

© Фокина Наталья Юрьевна (retrospector@yandex.ru); Гринев Александр Борисович (sagrinev@yandex.ru)
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»