

УДК 576.893.19 : 577.123.382/383

© 1992

ОРГАНИЗАЦИЯ БИОСИНТЕЗА ПУРИНОВЫХ И ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ У СПОРОВИКОВ (PROTOZOA: SPOROZOA)

Ю. М. Крылов

На основании анализа особенностей организации и функционирования метаболических путей биосинтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов у представителей типа Sporozoa делается заключение о том, что молекулярными последствиями адаптации к внутриклеточному паразитизму у одноклеточных эукариот являются увеличение молекулярного уровня организации, утрата определенных метаболических путей и отдельных ферментов, возникновение новой метаболической системы — паразито-хозяйинной. Сопряженность этой системы обеспечивается за счет приобретения паразитом механизмов функционирования систем аналогичных хозяйинным.

В основе внутриклеточного паразитизма лежит использование одним организмом внутриклеточного и внутреннего пространства другого в качестве среды обитания, источника пищи и посредника своих взаимоотношений с внешней средой. Выбор в эволюции такой экологической ниши привел к формированию специфических механизмов, обеспечивающих паразиту существование в таких своеобразных условиях, как внутриклеточная среда. Возникновение и становление данных механизмов в процессе длительной эволюции и коэволюции с организмом хозяина принципиально можно рассматривать как последствия адаптации к внутриклеточному паразитизму.

Цель настоящей статьи — рассмотреть эти механизмы, действующие на молекулярном уровне, на примере организации и функционирования биосинтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов у споровиков (Protozoa, Sporozoa) — облигатных внутриклеточных паразитов.

Выбор данного раздела метаболизма для решения поставленной задачи объясняется прежде всего относительно хорошей его изученностью как у споровиков, так и свободноживущих организмов.

Пуриновые (АТР, dАТР, GTP, dGTP) и пиримидиновые (УТР, dТТР, СТР, dСТР) нуклеотиды являются основными компонентами нуклеиновых кислот. У свободноживущих организмов биосинтез пуриновых, и пиримидиновых нуклеотидов осуществляется двумя независимыми путями: *de novo* — из низших предшественников нуклеотидной природы и *salvage* — из готовых оснований и нуклеозидов, образующихся при катаболизме ДНК и РНК. Путь биосинтеза *de novo* в обычных условиях существования организма является основным, в то время как *salvage* либо функционирует с низкой интенсивностью, либо не работает. Биосинтез из готовых оснований и нуклеозидов становится основным лишь при отсутствии питательных веществ в окружающей среде или голодании (Jones, 1980).

У высших многоклеточных эти пути и их основные промежуточные метаболиты строго компартиментализованы, а ферменты организованы в мультиферментные комплексы (Карасев и др., 1989). Из числа паразитов биосинтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов наиболее подробно изучен у малярий-

Организация биосинтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов у споровиков
(Protozoa, Sporozoa)

Biosynthesis of purine and pyrimidine nucleotides in Sporozoa

Вид	Пуриновые		Пиримидиновые		Источник
	de novo	salvage	de novo	salvage	
<i>Plasmodium falciparum</i>	—	+	+	+	Reyes, 1982
<i>Plasmodium berghei</i>	—	+	+	+	Hill e. a., 1979; O'Sullivan, Ketley, 1980
<i>Plasmodium vinkei</i>	—	+	Не изучено		Sherman, 1979
<i>Plasmodium knowlesi</i>	—	+	+	+	Sherman, 1979; Gutteridge, Trigg, 1970
<i>Plasmodium chabaudi</i>	—	+	+	+	Sherman, 1979
<i>Plasmodium lophurae</i>	—	+	+	+	Sherman, 1979; Yamada, Sherman, 1981; Hill e. a., 1981
<i>Babesia maior</i>	—	+	+	+	Irvin, Yung, 1979
<i>Babesia divergens</i>	—	+	+	+	Тот же
<i>Nicolia microti</i>	—	+	+	+	»
<i>Nicolia rodhaini</i>	—	+	+	+	»
<i>Theileria parva</i>	—	+	+	+	Irvin, Strugg, 1977
<i>Toxoplasma gondii</i>	—	+	+	+	Perrotto e. a., 1971; Pfefferkorn, Pfefferkorn, 1977; Pfefferkorn, Schwartzman, 1981
<i>Eimeria tenella</i>	—	+	+	+	Ouellette e. a., 1973; Wang, 1978; Wang, Simashkevich, 1981
<i>Eimeria nieschulzi</i>	Не изучено	+	Не изучено		Mayberry, Maquardt, 1974

Примечание. Метаболический путь: — отсутствует; + функционирует.

ных плазмодиев, кокцидий и пироплазмид. Общие сведения об его организации представлены в таблице. Основная особенность организации биосинтеза пуриновых нуклеотидов у споровиков, с которой столкнулись исследователи, — это отсутствие функционирующего метаболического пути биосинтеза de novo. Все необходимые пуриновые нуклеотиды споровики синтезируют из готовых оснований и нуклеозидов, которые образуются как в организме паразита, так и заимствуются из организма хозяина. Встречающиеся отдельные сведения о том, что малярийные паразиты могут синтезировать пуриновые основания из низших предшественников (Sherman, 1979) следует рассматривать с большой осторожностью, так как они получены при использовании в экспериментах сопряженной системы «паразит—хозяин», а вносимые в среду радиоактивные предшественники пуринов могли быть превращены в основания и нуклеозиды системами клетки хозяина и только потом были поглощены паразитом. У малярийных паразитов, кокцидий и пироплазмид активно функционирует путь биосинтеза пуриновых нуклеотидов из готовых оснований и нуклеозидов, которые паразиты получают из организма хозяина. Следует отметить, что в этом метаболическом пути могут быть использованы различные предшественники. Так, малярийные паразиты (*Plasmodium lophurae*) предпочитают адениловые нуклеозиды и основания (Yamada, Sherman, 1981), в то время как кокцидии *Eimeria* и *Toxoplasma* предпочитают гуаниловые (Wang, Simachkevich, 1981).

В отличие от пуриновых пиримидиновых нуклеотиды у споровиков синтезируются как de novo, так и из готовых оснований и нуклеозидов — метаболическим путем salvage (см. таблицу). Существующие данные позволяют утверждать, что биосинтез пиримидиновых нуклеотидов de novo для споровиков является основным, а биосинтез из готовых оснований и нуклеозидов

функционирует с меньшей нагрузкой. Возникает вопрос, чем обусловлены эти различия в организации биосинтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов у споровиков и в результате чего они возникли. Тот факт, что у споровиков произошло упрощение биосинтеза пуриновых нуклеотидов *de novo* позволяет предположить существование механизма утраты как отдельных ферментов, так и целых ферментативных систем при условии, что их субстраты могут быть получены из окружающей среды, т. е. из организма хозяина. Утрата отдельных ферментативных систем и ферментов фенотипически проявляется как ауксотрофность, а ее выраженность отражает степень утраты паразитами определенных биохимических функций (Lwoff, 1943).

Очевидно, биосинтез пуриновых нуклеотидов *de novo* был утрачен споровиками, так как энергетические затраты при использовании готовых оснований и нуклеозидов сравнительно ниже. Следует отметить, что аналогичные процессы утраты отдельных ферментов затронули и биосинтез пуриновых нуклеотидов salvage. Так, у малярийных паразитов отсутствуют 5'-АМФ дезаминаза, 5'-ИМФ нуклеотидаза и ксантин оксидаза (Sherman, 1979), у кокцидий аденин фосфорибозилтрансфераза (Wang, Simachkevich, 1981).

Возникает вопрос, почему утраты затронули только биосинтез пуриновых нуклеотидов *de novo*. Можно предположить, что биосинтез пиримидиновых нуклеотидов сохраняется у споровиков благодаря своей взаимосвязи с окислительным фосфорилированием, т. е. процессом выработки энергии. Справедливость данного предположения подтверждается тем фактом, что у некоторых видов паразитических жгутиконосцев, группы организмов у которых биосинтез пиримидиновых нуклеотидов *de novo* не связан с процессами выработки энергии (Gutteridge e. a., 1979), происходит утрата этого метаболического пути. Отсутствие некоторых ферментов биосинтеза salvage у споровиков не приводит к обрыву всей ферментативной цепочки, что способствует специализации метаболического пути по отдельным субстратам. Можно предположить, что эти утраты, вероятно, позволяют паразиту более полно использовать возможности завоеванной экологической ниши.

Возникает вопрос о том, приводят ли эти утраты к упрощению системы в целом или оно только кажущееся. Обнаружение у *Plasmodium lophurae* ферментативной системы, сопряженной с биосинтезом пуриновых нуклеотидов и способствующей включению адениловых нуклеотидов хозяина в метаболизм паразита (Yamada, Sherman, 1981), позволяет утверждать, что упрощение организации метаболических систем — кажущееся. Утрата некоторых ферментативных систем или отдельных ферментов сопровождается возникновением новых интегрирующих систем паразита и хозяина. Принципиально такие эволюционные приобретения должны приводить и к формированию эффективных способов организации ферментативных систем и способов их регуляции. Анализ особенностей организации биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов *de novo* у споровиков и паразитических жгутиконосцев показывает, что у облигатных внутриклеточных паразитов он выше. Так, установлено, что у споровиков организация ферментов биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов *de novo* практически не отличается от таковой у их хозяев, т. е. первые три фермента карбамоилфосфатсинтетаза II, аспартат-транскарбамоилаза и дигидрооротаза образуют ферментативный комплекс I, дигидрооротат-дегидрогеназа локализована в митохондриях и сопряжена с окислительным фосфорилированием, оротат-фосфорибозилтрансфераза и оротидилат-декарбоксилаза образуют ферментативный комплекс II, а регуляция осуществляется по механизму обратной связи до первой реакции конечным продуктом (Hill e. a., 1981). Строгая компартментизация промежуточных субстратов в таких ферментативных комплексах позволяет избежать энергетических затрат на создание их пула в цитоплазме клетки.

Такой способ организации и регуляции существенно отличается от такового

у паразитических жгутиконосцев (критидий, трипаносом, трихомонад), у которых ферменты разобщены и не связаны с окислительным фосфорилированием (Kidder e. a., 1976; Hill e. a., 1981; Hammond e. a., 1984).

Анализ вышеизложенного материала приводит к вопросу о том, насколько специфичны эти процессы для паразитизма и для эндопаразитизма, в частности.

Следует признать, что процессы утраты определенных ферментов или систем происходят и у свободноживущих организмов. В процессе эволюции имеет место усложнение систем, способов их регуляции, отмечается тенденция к компартментизации как субстратов, так и ферментативных систем. По-видимому, данные процессы не являются специфичными для паразитизма и отражают общую тенденцию эволюционных изменений, происходящих при завоевании экологических ниш с возрастающим содержанием питательных веществ:

Можно утверждать, что у эукариотических внутриклеточных паразитов при адаптации к условиям среды обитания в процессе эволюции и коэволюции происходит повышение уровня организации молекулярных систем, согласование их с системами клетки хозяина. При этом системы паразита приобретают черты ферментативных и метаболических систем более высокоорганизованного хозяина.

Таким образом, молекулярными последствиями адаптации к внутриклеточному паразитизму у одноклеточных эукариот являются повышение уровня молекулярной организации, утрата определенных метаболических путей и отдельных ферментов, возникновение новой метаболической системы — паразито-хозяинной.

Список литературы

- Карасев В. А., Стефанов В. Е., Курганов Б. И. Надмолекулярные биоструктуры: организация, функционирование, происхождение // Итоги науки и техники. Биол. химия. ВИНТИ. 1979. Т. 31. 196 с.
- Крылов Ю. М. Использование спорозонтами *Eimeria tenella* (Sporozoa, Coccidiida) ^{14}C аспаргиновой и ^{14}C ороговой кислот для биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов // Паразитология. 1982. Т. 16, в. 3. С. 204—208.
- Gutteridge W. E., Dave D., Richards W. H. G. Conversion of dehydroorotate to orotate in parasitic protozoa // Biochem. Biophys. Acta. 1979. Vol. 582, N 3. P. 390—401.
- Gutteridge W. E., Trigg P. I. Incorporation of radioactive precursors into DNA and RNA of *Plasmodium knowlesi* in vitro // J. Protozool. 1970. Vol. 17, N 1. P. 89—96.
- Hammond D., Gutteridge W. E. Purine and pyrimidine metabolism in the Trypanosomatidae // Mol. Biochem. Parasitol. 1984. Vol. 3, N 3. P. 243—261.
- Hill B., Kilsby J., Ginger C. D. Pyrimidine metabolism in *Plasmodium berghei* // J. Protozool. 1979. Vol. 26, N 3. Pt. 1. P. 74 A.
- Hill B., Kilsby J., Rogerson G. W., McIntosh R. T., Ginger C. D. The enzymes of pyrimidine biosynthesis in range of parasitic protozoa and helminths // Mol. Biochem. Parasitol. 1981. Vol. 2, N 3/4. P. 123—134.
- Irvin A. D., Stagg D. A. *Theileria parva*: purine and pyrimidine metabolism and the action of folate antagonist in parasitized bovin lymphoid cells // Exp. Parasitol. 1977. Vol. 41, N 1. P. 172—185.
- Irvin A. D., Yung E. R. Further studies on the uptake of tritiated nucleic acid precursors by *Babesia* spp. of cattle and mice // Int. J. Parasitol. 1979. Vol. 9, N 2. P. 109—114.
- Jones M. E. Pyrimidine nucleotide biosynthesis in animals: genes, enzymes and regulation of UMP biosynthesis // Ann. Rev. Biochem. 1980. Vol. 49. P. 253—279.
- Kidder G. W., Dewey V. C., Nolan L. L. Enzyme of the orotate biosynthetic pathway in *Crithidia fasciculata* // Can. J. Biochem. 1976. Vol. 54, N 1. P. 32—41.
- Lwoff A. L'évolution physiologique: Etudes des fonctions chez les microorganismes. Paris: Hermann, 1943. 239 p.
- Mayberry L. F., Maquardt W. C. Nucleic acid precursor incorporation by *Eimeria nischulzi* (Protozoa: Apicomplexa) and jejunal villus epithelium // J. Protozool. 1974. Vol. 21, N 4. P. 599—603.
- O'Sullivan W. J., Ketley K. Biosynthesis of uridine monophosphate in *Plasmodium berghei* // Ann. Trop. Med. Parasitol. 1980. Vol. 74, N 2. P. 109—114.
- Ouellette C. A., Strout R. G., McDougall L. R. Incorporation of radioactivity pyrimidine nucleosides into DNA and RNA of *Eimeria tenella* (Coccidia) cultured in vitro // J. Protozool. 1973. Vol. 20, N 1. P. 150—153.

- Pfefferkorn E. R., Pfefferkorn L. C. *Toxoplasma gondii*: specific labeling of nucleic acid of intracellular parasites in Leish-Nyhan cells // *Exp. Parasitol.* 1977. Vol. 41, N 1. P. 95—104.
- Pfefferkorn E. R., Schwartzman J. D. Use of mutants to study of Biochemistry of the host-parasite relationship in cultured cells infected with *Toxoplasma gondii* // *Int. Cell. Biol.*, 1980—1981. 2-nd Int. Congr. Berlin (West). Berlin e. a., 1981. P. 411—420.
- Perrotto J., Kester D. B., Gelderman A. H. Incorporation of precursors into *Toxoplasma* DNA // *J. Protozool.* 1971. Vol. 18, N 3. P. 470—473.
- Reyes P. Enzymes of purine and pyrimidine metabolism from the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* // *Mol. Biochem. Parasitol.* 1982. Vol. 5, N 2. P. 275—290.
- Sherman I. W. Biochemistry of plasmodium (malarial parasites) // *Microbiol. Rev.* 1979. Vol. 43, N 4. P. 453—495.
- Wang C. C. Biochemical and nutritional aspects of coccidia // *Avian Coccidiosis*. Edinburg, 1978. P. 135—184.
- Wang C. C., Simashkevich P. M. Purine metabolism in the protozoa parasite *Eimeria tenella* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Biol. Ser.* 1981. Vol. 78, N 11. P. 6618—6622.
- Yamada K., Sherman I. W. Purine metabolism by the avian malarial parasite *Plasmodium lophurae* // *Mol. Biochem. Parasitol.* 1981. Vol. 3, N 4. P. 253—264.

Институт экологии
Волжского бассейна РАН,
Тольятти

Поступила 14.12.1990

BIOSYNTHESIS OF PURINE AND PYRIMIDINE NUCLEOTIDES IN SPOROZOA (PROTOZOA)

Ju. M. Krylov

Key words: purine nucleotides, pyrimidine nucleotides, biosynthesis, intracellular parasites, Sporozoa

SUMMARY

Analysis of peculiarities in organization and functioning of metabolic ways of biosynthesis of purine and pyrimidine nucleotides in representatives of Sporozoa type has shown that molecular aftereffects of adaptation to intracellular parasitism in unicellular eucaryots consists in the increase in the level of molecular organization, loss of some metabolic path ways and some enzymes, origin of a new metabolic system, a host-parasite one. Functioning of this system is achieved due to developing by the parasite mechanisms that are similar to the host's ones.
