

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ У ПАРАЗИТИЧЕСКИХ НИЗШИХ ЭУКАРИОТ

© Шемарова И. В.

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова, Санкт-Петербург;
электронный адрес: shem@iephb.ru*

В обзоре суммированы данные о путях передачи сигналов у паразитических простейших на этапе заражения клеток хозяина, а также в период их внутриклеточной адаптации, созревания и размножения. Рассматриваются факторы, которые влияют на вирулентность одноклеточных паразитов. Особое внимание уделяется вопросам межклеточной коммуникации паразитов и клеток хозяина.

Ключевые слова: паразитические простейшие, сигнализация, иммуносупрессия, внутриклеточный паразитизм.

Принятые сокращения: КХ — клетка хозяина, М-АТ — моноклональные антитела, ПВ — паразитофорная вакуоль, ПМ — плазматическая мембрана, РПЖ — регуляторы продолжительности жизни, bFGF-щелочной фактор роста фибробластов, CSF — колониестимулирующий фактор роста, EGF — эпидермальный фактор роста, IFN- γ — интерферон- γ , IL — интерлейкин, MAPK — митоген-активируемая протеинкиназа, NF- κ B — ядерный фактор карра В, PI-3K — фосфоинозитид-3-киназа, PKA — протеинкиназа А, PTK — протеин(тирозин)киназа, TNF — фактор некроза опухолей.

Сигнализация паразитических простейших относится к категории биологических процессов, характерных для всех клеток эукариот. Однако судьба внутриклеточных паразитов как живых организмов самым непосредственным образом зависит от состояния клеток хозяина (КХ). В связи с этим для обеспечения своей жизнедеятельности в КХ паразитам требуются особые приспособительные механизмы, работа которых координируется с помощью внутриклеточных сигнальных систем. В ходе эволюции в сигнальных системах паразитических простейших появились уникальные элементы, не свойственные сигнальным системам свободноживущих микроорганизмов и клеток Metazoa. Именно они позволяют паразитам осуществлять стратегию выживания и развития в КХ и использовать инфицированные клетки в качестве среды обитания.

История изучения сигнальных систем паразитических простейших неотделима от истории изучения взаимоотношений простейших с КХ. Она невелика и насчитывает не более полувека (Moulder, 1962; Mauel, 1982; Trager, 1986; Сопрунов, 1987; Nehl, Nemphill, 2006). Лишь во второй половине прошлого столетия благодаря применению электронного микроскопа началось систематическое исследование процессов взаимодействия паразита и КХ на молекулярном уровне. Данные электронной микроскопии позволили изучить тонкую организацию паразитических простейших, строение их апикальных органелл, а также проиллюстрировать феномен паразитофорной вакуоли (ПВ) и, наконец, понять, каким образом происходит проникновение паразитов в КХ.

Прорыв в области изучения молекулярных основ внутриклеточного паразитизма был достигнут в самые последние годы благодаря разработке новейших молекулярно-генетических методов. Так, применение методов

трансфекции простейших и получение мутантов с нокаутом по генам, кодирующим сигнальные белки, позволили выявить механизмы межклеточной коммуникации паразита и КХ на ранних этапах инвазии и установить функции белков, участвующих в проникновении паразитов в КХ. Среди достижений последнего времени следует упомянуть разработку методов направленного мутагенеза, получение мутантов с делециями в изучаемых генах, а также стратегию использования клеток модельных микроорганизмов для изучения свойств продуцируемых ими белков. С помощью этих методических приемов была установлена биологическая роль многих ранее описанных белков, в том числе и сигнальных, как в процессе заражения КХ, так и на различных этапах развития паразитов внутри инфицированных клеток.

К настоящему времени появились новые данные о механизмах воздействия паразитов на КХ, объясняющие, каким образом им удается избежать губительного воздействия защитного аппарата КХ. В основе этого феномена лежат приспособительные механизмы паразитических простейших, к которым прежде всего относятся образование ПВ и тканевых цист, а также синтез белков, нейтрализующих действие иммунной системы организма хозяина. Следует отметить, что белки, ассоциированные с мембраной ПВ, и белки, секретируемые паразитами, являются важными факторами вирулентности протозойных паразитов (см. таблицу).

Паразитофорная вакуоль образуется вокруг внедрившегося в КХ паразита и выполняет функцию буфера между клеточными системами паразита и хозяина, что и определяет ее роль как в выживании паразита в КХ, так и в сохранении самой зараженной клетки в течение длительного времени (Бейер и др., 2003). Другим важным

Факторы вирулентности и мишени действия секретлируемых паразитическими простейшими белков

Вид простейшего	Фактор вирулентности	Функция	Литературный источник
<i>Toxoplasma gondii</i>	Адгезивный белок BSR4	Адгезия	Crawford et al., 2009
» »	Адгезивный белок MIC2	В партнерстве с белком M2AP участвует в образовании трансмембранного адгезивного комплекса	Huynh Carruthers, 2006
» »	Поверхностный антиген SAG1	Адгезия	Gaechter, Hehl, 2005
<i>Plasmodium falciparum</i>	Адгезивный белок PfEMP1	»	Kun et al., 1997
» »	Адгезивный белок PfRh5	»	Chaudhuri et al., 2008; Baum et al., 2009
» »	Экспортируемый белок KANRP	Увеличивает адгезивность и ригидность КХ; служит платформой для прикрепления адгезина	Crabb et al., 1997; Maier et al., 2008
<i>Leishmania donovani</i>	Ламининсвязывающий белок 67 кДа	Связывается с белками внеклеточного матрикса (ВМ), облегчает прохождение паразитов через ВМ и ассоциацию с КХ	Ghosh et al., 1999
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Рецептор к галектину-1	Связывается с галектином-1, экспрессируемым КХ; обеспечивает прикрепление паразита к КХ	Okumura et al., 2008
<i>Entamoeba histolytica</i>	Поверхностные антигены PPG-1 и PPG-2	Связываются с галектином, экспрессируемым КХ; обеспечивают прикрепление паразита к КХ	Moody-Haupt et al., 2000; Lejeune et al., 2009
» »	Gal/GalNac-ингибирующий лектин — адгезин, локализующийся в липидных рафтах ПМ	Взаимодействует с КХ путем связывания галактозы или N-ацетилгалактозаминовой половины мембранного гликопротеина КХ; обеспечивают прикрепление паразита к КХ	Mirelman et al., 2008; Mittal et al., 2008
<i>Sarcocystis neurona</i>	Поверхностный антиген SPR1	Обеспечивает прикрепление паразита к КХ	Zhang, Howe, 2008
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Поверхностные муциноподобные белки gp40 и gp15	Обеспечивают прикрепление паразита к КХ; инвазивность	Cevallos et al., 2000
<i>Toxoplasma gondii</i>	Белок ROP18, представитель комплекса вирулентных белков RONs, секретлируемых роптриями	Белок ассоциирован с мембраной ПВ. Мишень действия не установлена. Предполагается, что ROP18 модифицирует NF-κB-зависимые сигнальные пути в КХ и изменяет экспрессию ряда генов КХ	Saeij et al., 2006; Taylor et al., 2006; Bradley, Sibley, 2007; El Hajj et al., 2007; Qiu et al., 2009
» »	Белок ROP16, представитель комплекса вирулентных белков RONs, секретлируемых роптриями	Фосфорилирование STAT3 STAT6; иммуносупрессия; инвазивность	Buzoni-Gatel et al., 2008
<i>Trypanosoma brucei gambiense</i>	Триггерный фактор лимфоцитов, индуцируемый трипаносомами (мол. масса 41—46 кДа)	Селективно активирует Т-клетки CD8 ⁺ для продукции интерферона-γ, который затем активирует макрофаги, стимулирует продукцию оксида азота, простагландинов и некоторых интерлейкинов, деактивирующих макрофаги	Dumas, Bouteille, 1996
<i>Theileria annulata</i>	Казеинкиназа ТаСКIIα	Экспортируется из шизонтов. Активирует пролиферацию лимфоцитов через экспрессию <i>c-Myc</i>	Biermann et al., 2003
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Секретлируемые белки ESA	Подавляют активность макрофагов, Т- и В-клеток иммунной системы	Fernandez-Gomez et al., 1998; Cordeiro-Da-Silva et al., 2001; Ouaisi et al., 2002a
» »	Лиганд рецептора TrkA	Имитирует действие на КХ фактора роста нервов NGF и тем самым стимулирует выживаемость и дифференцировку зараженных клеток	Lu et al., 2008
<i>Sarcocystis gigantea</i> (синоним <i>S. ovisfelis</i>)	Лектиновая фракция из цист	Стимулирует пролиферацию Т- и В-клеток, понижает эффективность ответа иммунных клеток	Tietz et al., 1989; Drössigk et al., 1996
<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	bFGF-подобный белок	Стимулирует пролиферацию паразитов; фактор колонизации	Kardami et al., 1992
<i>Leishmania donovani</i>	То же	То же	То же

Продолжение таблицы

Вид простейшего	Фактор вирулентности	Функция	Литературный источник
<i>Sarcocystis neurona</i>	Неидентифицированный ингибитор роста Т-клеток	Подавляет рост иммунных клеток; трансформирует фенотип Т-лимфоцитов	Yang et al., 2006; Witonsky et al., 2008
<i>Toxoplasma gondii</i>	Неидентифицированные факторы иммуносупрессии	Подавляют продукцию α -фактора некроза опухолей и интерлейкина-12; иммуносупрессия	Denkers et al., 2004
» »	Неидентифицированный индуктор лиганда цитокина-2 и интерлейкина-12	Иммуносупрессия, подавляет клеточный иммунитет	Del Rio et al., 2004
» »	Индуктор простагландина PDE2	Стимулирует продукцию простагландина PDE2; подавляет клеточный иммунитет в острой фазе заболевания	Peng et al., 2008
<i>Plasmodium yoelii</i>	Индукторы простагландина PDE2 и TNF β	Стимулируют продукцию простагландина PDE2 и TNF β ; подавляют клеточный иммунитет в острой фазе заболевания	Ocaña-Morgner et al., 2008
<i>Entamoeba histolytica</i>	Простагландин PDE2	Стимулирует продукцию интерлейкина-8; вызывает острую воспалительную реакцию	Dey, Chadee, 2008
<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	Индукторы интерлейкинов-2 и -10	Генерализованная иммуносупрессия	Courtin et al., 2006
<i>Leishmania amazonensis</i>	Поверхностный антиген LaAg	Подавляет рост и спонтанный пролиферативный ответ Т-клеток	Pinheiro et al., 2004
<i>Sarcocystis neurona</i>	Поверхностный антиген SnSAG1	Понижает продукцию интерферона- γ , увеличивает синтез интерлейкина-10	Spencer et al., 2005
<i>Leishmania major</i>	Индуктор интерлейкина-10	Генерализованная иммуносупрессия	Nagase et al., 2007
» »	Неидентифицированный фактор, угнетающий освобождение цитохрома c	Ингибирование апоптоза; транзиторная иммуносупрессия	Akarid et al., 2004
<i>Toxoplasma gondii</i>	То же	То же	Carmen, Sinai, 2004
<i>Trypanosoma cruzi</i>	Неидентифицированный фактор, деактивирующий каспазу-9	» »	Petersen et al., 2006
<i>Toxoplasma gondii</i>	То же	» »	Carmen et al., 2006
<i>Plasmodium berghei</i>	Неидентифицированный фактор, деактивирующий Bcl-2	» »	Van de Sand et al., 2005
<i>Cryptosporidium parvum</i>	То же	» »	Mele et al., 2004
<i>Trypanosoma cruzi</i>	» »	» »	Aoki et al., 2004
<i>Theileria parva</i>	Индукторы c-IAP и XIAP	Индуктируют синтез ингибиторов апоптоза; иммуносупрессия	Kuenzi et al., 2003
<i>Toxoplasma gondii</i>	Индукторы NAIP1/2, c-IAP1/2 и XIAP	То же	Molestina et al., 2003
<i>Theileria parva</i>	Активаторы JNK-пути	Ингибирование апоптоза; транзиторная иммуносупрессия	Lizundia et al., 2005
<i>Theileria annulata</i>	Активатор PKA	Ингибирование апоптоза; иммуносупрессия	Guernon et al., 2006

моментом в стратегии выживания паразитов на этапе внедрения в КХ является синтез белков, нейтрализующих действие иммунной системы макроорганизма. Такие белки обнаружены у цистообразующих простейших (*Isospora*, *Sarcocystis* и *Toxoplasma*), гемоспоридий (*Plasmodium*) и гемофлагеллят (*Trypanosoma*). Примером секреторного протеина, обладающего иммуносупрессорным действием, является белок роптрий ROP16 *Toxoplasma gondii*. Обладая киназной активностью, он способен проникать в ядро КХ и вызывать фосфорилирование STAT3 и STAT6 — транскрипционных факторов, модулирующих клеточный иммунитет (Buzoni-Gatel et al., 2008). Очевидно, что и другие белки роптрий из подсемейства ROP2, обладаю-

щие серин(треонин)киназной активностью, влияя на функциональное состояние зараженных клеток, вовлекаются в патогенез токсоплазмоза. Их роль состоит в воздействии на генетический аппарат КХ через модификацию NF- κ B-зависимых сигнальных путей. Однако ни их точная структура, ни конкретные мишени их биологического действия пока не установлены (Saeij et al., 2006; Taylor et al., 2009).

Эндогенное развитие внутриклеточных паразитов на всем протяжении существования внутри КХ регулируется с помощью разнообразных сигнальных белков, часто являющихся индукторами репликации и пролиферативных процессов. В последние годы появились доказательства

участия в контроле за событиями жизненного цикла паразитических простейших фосфотирозинсодержащих белков, фосфатаз, многочисленных протеинкиназ, в том числе MAPK, и киназ, зависимых от Ca^{2+} и cAMP (Malaquias, Oliveira, 1999; Rodrigues et al., 1999; Yoshida et al., 2000; Lacey et al., 2007; Low et al., 2007; Nagamune et al., 2008).

Более того, установлено, что внутриклеточные простейшие с помощью собственных сигнальных белков «манипулируют» КХ, обеспечивая себе наиболее благоприятные условия для размножения и созревания (Laliberte, Carruthers, 2008). На этом этапе своего развития большое значение для паразитов имеет способность подавлять или даже изменять фенотип КХ, с тем чтобы продлить срок жизни зараженной клетки на период своей пролиферации и дифференцировки. Эти факты выявлены в отношении по крайней мере простейших, относящихся к типу Apicomplexa (Sager et al., 1997; Dobbelaere, Huesler, 1999; Shiels et al., 2004; Orengo et al., 2008).

Для сохранения инвазивности паразитам необходимо закончить клеточный метаморфоз и завершить биохимическую подготовку к длительной диапаузе или жизни в другом хозяине. В связи с этим немаловажно, чтобы паразито-хозяинные отношения на заключительных этапах инвазии развивались по альтруистическому пути. Обеспечивается это с помощью уже упоминавшихся механизмов генерализованной иммуносупрессии и биохимической модификации КХ (Ahmed et al., 2008), а также с помощью подавления апоптоза зараженных клеток (Carmen, Sinai, 2007). Последний механизм наименее изучен. Он включает в себя элементы управления генетическим аппаратом КХ через воздействие на киназы, факторы транскрипции и непосредственно на эффекторные протеолитические ферменты (Heussler et al., 2001; Donskow-Schmelter, Doli-galska, 2005; Guergnon et al., 2006; Carmen, Sinai, 2007; Hippe et al., 2009).

Практически все паразитические простейшие являются возбудителями серьезных заболеваний человека и теплокровных животных. Поэтому исследование передачи сигналов у внутриклеточных паразитов, изучение особенностей их взаимодействия с КХ являются важнейшими стратегическими задачами ветеринарно-медицинской паразитологии. Современные методы клеточной биологии позволяют получить ответы на многие вопросы, поставленные практической медициной. Цель настоящего обзора — анализ последних достижений в области изучения сигнальных систем паразитических простейших и взаимодействия внутриклеточных паразитов с КХ, а также оценка перспектив использования имеющихся знаний для практического применения в паразитологии.

Передача сигналов на этапе проникновения паразита в клетку хозяина

Как правило, проникновение протозойных паразитов в КХ включает в себя целый ряд последовательных этапов: узнавание, первичное прикрепление, ориентация, деформация плазматической мембраны (ПМ) и вход в клетку (Бейер, 1989). Каждый из этих этапов сопровождается цепью сигнальных событий, которые важны не только для реализации общебиологических клеточных функций паразита на уровне своего этапа, но существенны и для подготовки новой молекулярной платформы для выполнения паразитом последующих шагов на пути заражения КХ (Sinai, 2008). Так, например, самые начальные этапы

проникновения зоитов Apicomplexa в клетки хозяина определяются наличием на мембранах паразита и КХ определенных лигандов (адгезинов) и соответствующих рецепторов, соединение которых приводит к образованию специфических комплексов, обеспечивающих не только проникновение, но иммуносупрессию и драматическую модификацию генома зараженных клеток (Bradley, Sibley, 2007).

Показано, что проникновение возбудителей человеческой малярии в эритроциты определяется наличием на мембране эритроцитов человека целого ряда рецепторов, важнейшие из которых образованы гликопротеинами и гликофоридами, т. е. сialogликопротеинами с мол. массами соответственно 90 000—100 000 и 30 000—50 000 Да. Кроме того, известно, что заражение *Plasmodium vivax* и *P. knowlesi* связано с наличием в мембране эритроцитов хозяина поверхностных антигенов типа Даффи (Chitnis, Sharma, 2008), а в случае *P. falciparum* — антигенов EBA-140 и EBA-175, относящихся к группе гликофоринов А и В (Perkins, 1984; Jaskiewicz, 2007). Интересно отметить, что лиганды *Plasmodium* обладают свойствами лектинов (белков растительного происхождения). Эти свойства выражаются в способности поверхностных лигандов связываться с полисахаридными группами рецепторов эритроцитарной мембраны и тем самым осуществлять первичное прикрепление мерозонта к клетке (Facer, 1983; Perkins, 1984). В последнее время появились данные о том, что сопряжение рецепторов эритроцитов с лигандами *Plasmodium* определяется остатками сиаловой кислоты, связанными с гидрофильным N-концевым участком гликофоринов (Jaskiewicz, 2007).

При изучении *P. falciparum* было показано, что кроме сialogликопротеинов роль эритроцитарных рецепторов могут выполнять также и другие соединения, не содержащие сиаловой кислоты (Mitchell et al., 1986).

В последние годы исследователями много внимания уделяется расшифровке структуры адгезинов самого малярийного паразита, исследованию их специфичности, механизмов, повышающих эффективность взаимодействия с КХ, а также возможности использования в качестве одной из мишеней терапевтического действия противомаларийных многокомпонентных вакцин (Chaudhuri et al., 2008; Maier et al., 2008; Baum et al., 2009).

Среди поверхностных и секретруемых белков тахизоитов *Toxoplasma gondii* также обнаружено большое количество протеинов, участвующих в прикреплении паразита к КХ и облегчающих его проникновение внутрь клетки. К ним относятся комплекс белков RONs, секретруемых роптриями (Bradley, Sibley, 2007), адгезины (Huynh, Carruthers, 2006; Crawford et al., 2009) и белки-партнеры (Gaechter, Hehl, 2005; Huynh, Carruthers, 2006), которые входят в состав трансмембранных адгезивных комплексов. С учетом того, что подвижность и скользкий тип движения тахизоитов в значительной степени зависят от внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , можно предполагать участие в регуляции образования адгезивных комплексов сигнальных Ca^{2+} -связывающих белков (Wetzel et al., 2004).

Связывание *Leishmania* с КХ — дендритными клетками моноцитарного происхождения — осуществляется через рецептор DC-SIGN — лектин С-типа, специфически узнаваемый патогенами вирусного, грибкового и бактериального происхождения. Лиганд (или лиганды) DC-SIGN на поверхности лейшманий пока неизвестны. Интересно, что рецептор L-SIGN, родственник белку DC-SIGN, спе-

цифически экспрессируемый в лимфатических узлах и синусоидальных эндотелиальных клетках печени, действует как рецептор для *L. infantum* — паразита, вызывающего висцеральный лейшманиоз, но не узнающий *L. pifanoi* — возбудителя кожной формы лейшманиоза. Существование этих различий наводит на мысль о наличии у лейшманий по крайней мере двух различающихся по структуре лигандов лектиновых рецепторов (Saragó et al., 2005).

Недавно на поверхности метамасигот *Leishmania donovani* был обнаружен протеин с мол. массой 67 кДа. Оказалось, что этот белок, являясь рецептором ламинина, основного белка внеклеточного матрикса, облегчает прохождение паразитов через внутриклеточный матрикс и ассоциацию с КХ и служит важным фактором вирулентности (см. таблицу) (Ghosh et al., 1999). У криптоспоридий *Cryptosporidium parvum* прикрепление к КХ осуществляется с помощью муциноподобных поверхностных белков gp40 и gp15, которые являются продуктами гидролиза белка-предшественника с мол. массой 49 кДа (см. таблицу) (Cevallos et al., 2000).

Сходные белки имеют и экстраклеточные паразитические простейшие. Так, например, трофозоиты *Trichomonas vaginalis* взаимодействуют с КХ путем связывания липофосфоглюкана, входящего в состав клеточной мембраны паразита, с рецепторным белком галектином-1 (gal-1), принадлежащим к семейству лектинов (см. таблицу). При этом близкородственный белок gal-7, экспрессируемый клетками цервикального эпителия, не обеспечивает прикрепления паразита с КХ, что может говорить о высокой специфичности лигандов *Trichomonas* к своим галектиновым рецепторам (Okumura et al., 2008). Протозойные кишечные паразиты *Entamoeba histolytica* узнают КХ также с помощью лиганд-рецепторного взаимодействия (Moody-Haupt et al., 2000; Mirelman et al., 2008; Mittal et al., 2008; Lejeune et al., 2009). В этом случае лигандами галектинов служат гликопротеины PPG-1 и PPG-2 либо адгезин липидных рафтов Gal/GalNAc (см. таблицу). Для этих белков характерно наличие длинных разветвленных боковых глюкановых цепей, что отличает их от аналогичных белков непатогенных штаммов амёб, обладающих короткими дисахаридными цепями глюкана типа Glcβ1-6Gal (Moody-Haupt et al., 2000).

Лиганды паразитических простейших являются важными факторами вирулентности (см. таблицу). Они выполняют двойную функцию. С одной стороны, являясь адгезинами, они служат для прикрепления паразита к КХ, а с другой, будучи белками клеточной поверхности паразита, — являются антигенами и активаторами иммунной системы макроорганизма. Важно отметить, что у многих микроорганизмов спектр близкородственных белков, выполняющих адгезивную функцию, достаточно велик. Только у тахизоитов *Toxoplasma gondii* их насчитывается более 160 видов (Crawford et al., 2009), а у *Plasmodium falciparum* — 161 (Chaudhuri et al., 2008). Такое внутривидовое разнообразие адгезинов, по-видимому, неслучайно и может рассматриваться как одно из приспособительных механизмов к длительному паразитизму в одном хозяине. У экстраклеточных протозойных паразитов помимо адгезинов к факторам вирулентности относятся цистеиновые протеиназы, ламининсвязывающие белки, интегрин, интегрин-подобные белки, пороформирующие белки, гликозидазы и некоторые другие биологически активные молекулы. Однако с учетом того, что в данной статье систематизируются в основном материалы, связанные с

внутриклеточным паразитизмом, эти белки в обзоре не рассматриваются.

По-видимому, лигандопосредованный способ первичного прикрепления паразитов к КХ универсален и имеет общий механизм межклеточного взаимодействия, основанный на гликоконъюгации. Он берет начало от анцестральных коммуникационных систем прокариотического происхождения. На это указывают всеобъемлющее распространение лектинов в мембранах эукариотических клеток и специфичность их узнавания патогенами, принадлежащими к филогенетически отдаленным группам паразитических микроорганизмов, в том числе и доядерных. По мере усложнения организации паразитических клеток совершенствуются и механизмы узнавания КХ, а также механизмы проникновения и защиты.

После первичного прикрепления и ориентации паразитов внутри КХ следуют этапы деформации клетки, а затем инвагинации участка мембраны с прикрепленным паразитом. Это сложные механические процессы, в которые кроме рецепторов вовлекаются примембранные белки КХ. Они характерны для многих протозойных паразитов, активно внедряющихся в КХ (Aikawa, Sprinz, 1971; Aikawa et al., 1978; Aji et al., 1991; Dlugonska, 2008). На данном этапе заражения КХ очень важна роль сигнальных белков паразита, которые модулируют активность транскрипционных факторов КХ и индуцируют процессы, подвляющие защитные свойства иммунной системы макроорганизма. У *Toxoplasma* к таким белкам можно отнести уже упоминавшийся белок роптрий ROP16, способный к ядерной транслокации и активации белков STAT3/6, которые в свою очередь важны для выработки незрелыми иммунными клетками интерлейкина-12 и ранней продукции интерферона-γ (Buzoni-Gatel et al., 2008; Laliberte, Carruthers, 2008). В этом случае достигается определенный компромисс в условиях взаимного существования паразита и хозяина: с одной стороны, ограничивается численность зоитов *Toxoplasma*, а с другой — инфицированная клетка не погибает и дает возможность паразитам развиваться, что приводит к индукции латентной формы токсоплазмоза (Suzuki et al., 1988; Luft, Remington, 1992; Khan et al., 2001).

Секретируемые белки других цистообразующих кокцидий идентифицированы лишь частично, и пока рано говорить об их индивидуальном вкладе в развитие паразито-хозяинных отношений, хотя известно, что многие из них вирулентны для макроорганизма (см. таблицу). Возможно, перспективным с этой точки зрения белком является SPR1 (Surface Protein 1) — поверхностный белок саркоспоридий *Sarcocystis neurona*. Он продуцируется на всем протяжении внутриклеточного периода жизни саркоспоридий и в том числе играет важную роль в прикреплении зоитов к КХ (Zhang, Howe, 2008).

Пироплазмиды *Theileria annulata*, являющиеся возбудителями пироплазмоза телят, воздействуют на хозяина через иммунные клетки (Ahmed et al., 2008). Эти возбудители имеют сложный цикл развития в позвоночном хозяине, причем особенности их взаимодействия с КХ зависят от стадии жизненного цикла. Наиболее принципиальным результатом этого взаимодействия является трансформация иммунных клеток (макрофагов, Т- и В-лимфоцитов), в которых проходят начальные стадии развития паразитов (в пределах 24 ч после заражения КХ) (Williams, Dobbelaere, 1993). Трансформация проявляется в том, что зараженные клетки начинают пролиферировать и, что ин-

тересно, размножение КХ сопровождается неограниченной репликацией самих паразитов. Предполагается, что причина тому — перекрест пролиферативных сигнальных путей в обеих клеточных системах, запускаемых паразитом уже на этапе контакта с КХ. Это подтверждается экспериментами *in vitro*, в которых сопряжение клеточной мембраны *Theileria* с цитоплазмой КХ приводит к индукции пролиферации. Возможно, что в основе стимулирующего действия паразита на КХ лежит его способность активировать NF-κB-, MAPK- и PI3K-ПКВ-сигнальные пути (Galley et al., 1997; Baumgartner et al., 2000; Heussler et al., 2002). С другой стороны, недавно появились данные, свидетельствующие о вовлечении в трансформацию лимфоцитов киназы II, секретируемой шизонтами *Th. annulata* (Biermann et al., 2003). Еще одним следствием этой активации являются выработка цитокинов и усиление контроля за функционированием комплекса белков гистосовместимости (Brown et al., 1998; Graham et al., 2001).

У *Trypanosoma cruzi* и *Leishmania* sp. сигнальными белками, включенными в стратегию манипулирования иммунитетом зараженного макроорганизма на начальном этапе инвазии, являются метаболические белки типа «excreted-secreted antigens», сокращенно ESA (Ouaissi et al., 2004). Обнаружено, что ESA регулируют активность макрофагов, а также T- и B-клеток иммунной системы (Fernandez-Gomez et al., 1998; Cordeiro-Da-Silva et al., 2001; Ouaissi et al., 2002a). Среди молекул ESA, секретируемых трипаносомидами, наиболее важное значение имеют ферменты, относящиеся к суперсемейству глутатион-S-трансфераз. Оказалось, что эти белки, родственные глутатион-S-трансферазам млекопитающих, функционируют как иммуномодуляторы (Ouaissi et al., 2002b). Так, недавно у *T. cruzi* идентифицирован белок с мол. массой 52 кДа (Tc52), который в своем составе имеет два гомологичных домена, близких по первичной структуре последовательностям, локализованным в N-терминальном конце типичных глутатион-S-трансфераз (Ouaissi et al., 2001). Интересно, что белок Tc52 совмещает две функции: катализирует тиол-дисульфидный обмен между дигидротрипанотионом и дисульфидом глутатиона (Moutiez et al., 1995, 1997) и стимулирует продукцию оксида азота через индукцию IFN-γ (Ouaissi et al., 1995). Таким образом, взаимодействие паразита с КХ на начальном этапе инвазии приводит, с одной стороны, к дестабилизации окислительно-восстановительного баланса в КХ, способствующей внутриклеточной адаптации паразита, но с другой — к разрыванию долгосрочных процессов иммунологической защиты макроорганизма, обеспечивающих вялотекущий характер заболевания *in vivo*.

Еще одним приспособительным белком трипаносом является не идентифицированный пока белок, который связывается с рецептором TrkA, обладающим тирозинкиназной активностью. Он имитирует действие на КХ фактора роста нервов NGF и тем самым стимулирует выживаемость и дифференцировку зараженных трипаносомами клеток (Lu et al., 2008). У *Trypanosoma brucei gambiense* в стратегию противоиммунной защиты включен так называемый триггерный фактор лимфоцитов, индуцируемый трипаносомами, — белок с мол. массой ~ 45 кДа. Он селективно активирует T-клетки CD8+ для продукции интерферона-γ, который затем активирует макрофаги, стимулирует продукцию NO, простагландинов и некоторых интерлейкинов, деактивирующих макрофаги (см. таблицу) (Dumas, Bouteille, 1996).

Интересно, что у протозойных паразитов, не проникающих внутрь КХ, механизмы межклеточной коммуникации также включают в себя этапы активного взаимодействия сигнальных систем паразита и КХ. В частности, первичный контакт жгутикового простейшего *Trichomonas vaginalis* с КХ, с одной стороны, приводит к активации цитокинового сигнального пути, индукции синтеза интерлейкина-8 и трансмиграции нейтрофилов через эндотелий к зараженным клеткам, а с другой — к адгезии паразита и запуску в нем приспособительных защитных механизмов (Lopez et al., 2000; Fichorova et al., 2006).

Таким образом, взаимодействие паразитов с КХ является важнейшим клеточным событием не только для самих паразитов, начинающих новую стадию жизненного цикла в позвоночном хозяине, но прежде всего для зараженных клеток и служит отправной точкой для начала борьбы макроорганизма с возбудителем болезни.

Передача сигналов у внутриклеточных протозойных паразитов в остром периоде болезни

После внедрения в КХ и преодоления сопротивления со стороны зараженной клетки паразит приступает к развитию, которое включает в себя рост и бесполое размножение. Этот этап самый опасный для макроорганизма, так как созревание и развитие внутриклеточных паразитов на данной стадии жизненного цикла вызывают острую фазу заболевания, которая для животного может закончиться летально.

У спорозойных простейших (*Apicomplexa*, *Sporozoa*), для которых характерно наличие в жизненном цикле стадии множественного деления (мерогонии), бесполое размножение проходит либо в эпителиальных клетках кишечника (*Eimeria*), либо в клетках внутренних органов (*Toxoplasma*, *Sarcocystis*), либо в лимфоидных клетках или эритроцитах (*Theileria*, *Babesia*, *Plasmodium*). Заканчивается данный этап бесполого развития у различных представителей *Apicomplexa* образованием зоитов с потенциями половых клеток (*Eimeria*, *Theileria*, *Babesia*, *Plasmodium* и некоторые другие) или же предцистных мерозоитов (*Toxoplasma*, *Sarcocystis*) (Бейер, 1989). У жгутиковых простейших бесполое размножение чаще происходит внеклеточно: в плазме крови (*Trypanosoma*), в межклеточных промежутках соединительной ткани (*Leishmania*) и реже — внутри самих клеток.

Наиболее сложные отношения с КХ возникают у паразитов, способных к длительному персистированию, поскольку требуют от них многовекторной и разносторонней системы взаимодействия с КХ. Со стороны паразитов эти отношения предполагают участие не только защитно-приспособительных механизмов, корректирующих характер транзитного контактного воздействия на зараженную клетку, но и сигнальных механизмов, влияющих на программируемые процессы в КХ. Пока трудно сказать, какие именно сигнальные системы паразитов ответственны за развитие долговременных отношений с КХ, насколько они специализированы и функциональны. Данные по этому вопросу в литературе малочисленны, но уже сейчас можно предположить, что важную роль в развитии таких отношений играют системы, регулируемые факторами роста млекопитающих, которые, как оказалось, функционируют не только у позвоночных животных, но и у простейших.

В конце прошлого века было установлено, что факторы роста млекопитающих — триггеры митогенных путей у млекопитающих — инициируют пролиферативный ответ и в клетках низших эукариот. Сначала было выявлено участие щелочного фактора роста фибробластов (bFGF) в ассоциации *Sarcocystis* sp. (*Protozoa, Apicomplexa*) с КХ и сделано предположение о возможности его участия в регуляции роста мерозоитов в цистах (Kardami, 1990). Спустя 2 года появилось сообщение о том, что проциклические формы жгутиковых простейших *Trypanosoma brucei rhodesiense* и промастиготы *Leishmania donovani*, культивируемые *in vitro*, синтезируют и выделяют в среду белки с мол. массой 15—34 кДа, с высокой аффинностью связывающиеся с гепарин-сефарозой и в иммуноблотах положительно реагирующие с несколькими разновидностями специфических антител к щелочной форме фактора роста фибробластов из мозга быка (Kardami et al., 1992). Иммунофлуоресцентные исследования показали, что bFGF-подобные молекулы присутствуют в цитоплазме обоих видов исследованных простейших, культивируемых в сывороточной среде. У паразитов, растущих в среде с сывороткой, bFGF-подобные молекулы обнаруживались также в ядре и перинуклеарном пространстве. Авторами (Kardami et al., 1992) сделано предположение о том, что ассоциация фактора роста с клетками простейших может играть важную роль в размножении паразитов в организме хозяина и тем самым служить фактором колонизации (см. таблицу). Перечисленные выше данные были подтверждены в экспериментах на примере другого жгутикового паразита — *Trypanosoma musculi* (Gugssa et al., 2000). В сывороточной среде, не содержащей фибробластов, культивируемые *in vitro Trypanosoma musculi* оказывались неспособными к нормальному росту. При этом они утрачивали способность к делению и инфективность. Эти свойства сохранялись лишь у трипаносом, растущих в контакте с фибробластами, продуцирующими FGF. С помощью иммуноцитохимических исследований у паразитов были выявлены цитоскелетные и ассоциированные с мембраной молекулы, зависимые от FGF, которые, по мнению авторов, могут вовлекаться в контроль роста и размножение *T. musculi*.

При изучении действия колониестимулирующего фактора роста (CSF) из гранулоцитов на жгутиковых простейших *Leishmania mexicana amazonensis* было установлено, что CSF у лейшманий стимулирует пролиферативный ответ и ингибирует индуцированную тепловым шоком клеточную смерть (Charlab et al., 1990; Barcinski et al., 1992; Welburn et al., 1996). Приводятся сведения, указывающие на то, что некоторые цитокины млекопитающих (IL-3, IL-6, TNF β и IFN γ) вызывают у протозойных паразитов клеточные реакции, направленные на поддержку их роста или ингибирование апоптоза (Olsson et al., 1992; Barcinski, Moreira 1994; Csaba et al., 1995; Salotra et al., 1995; Bakhiet et al., 1996).

В ряде работ показано действие эпидермального фактора роста (EGF) млекопитающих на клетки низших эукариот. Установлено, что EGF оказывает слабый митогенный эффект на проциклические формы *Trypanosoma brucei in vitro* (Hide et al., 1989) и вызывает значительный пролиферативный ответ у трипомастигот *T. brucei* Tc221 *in vivo* (Sternberg, McGuigan, 1994). Существенное увеличение скорости роста культур отмечалось при использовании как рекомбинантного EGF человека, так и EGF из слюнных желез мыши в концентрациях 20 и 200 нМ. При этом время удвоения клеточной популяции в первые 24 ч

экспоненциального роста для трипаносом, инкубированных с EGF, составило 5.9 ч, а для интактных трипаносом — 6.7. Похожие результаты получены в экспериментах по оценке пролиферативного действия EGF на другой штамм трипаносом — *T. brucei* AnTaT1.1 : время удвоения опытных культур составило 5.6 ч против 7.1 у контрольных клеток. Когда трипаносом культивировали без добавления свежей питательной среды дольше 24 ч, отмечали постепенное прекращение пролиферации как опытных, так и контрольных культур. Полученные данные указывают на важную роль EGF в митогенном действии на трипомастигот *T. brucei* и ставят вопрос о его функциональном значении для клеток этих одноклеточных паразитов. Возможно, пролиферативный эффект EGF на трипаносом связан с активацией фактором роста млекопитающих мембранных рецептороподобных молекул паразита, имеющих структурное сходство с наружным доменом рецептора EGF человека (Hide et al., 1989). Такое сходство было подтверждено результатами работы Калво и соавторов (Calvo et al., 1996). Авторы обнаружили гомологию первичной структуры в последовательностях, локализованных в С-терминальном фрагменте мембранного белка MSP-1 гемоспоридий *Plasmodium yoelii* и двух высококонсервативных фрагментов внеклеточного домена рецептора EGF человека. У малярийного плазмодия эти области кодировались генами, которым соответствовали последовательности нуклеотидов 5164—5316 и 5302—5460, кодирующих высококонсервативные участки наружного домена рецептора EGF человека (Lewis, 1989). Сходные EGF-подобные домены, имеющие 30 % общей структурной гомологии и 60 % гомологии в строении консервативных областей, содержащих цистеиновые мотивы, были обнаружены и у *Plasmodium falciparum* (Lewis, 1989; Egan et al., 1995). К сожалению, в выше-названных работах нет прямых указаний на физиологическое действие EGF человека на гемоспоридий. Однако исходя из представленных авторами доказательств протективного действия иммунных сывороток, полученных на С-терминальный фрагмент PfMSP1, и антипротозойного действия М-АТ против наружного домена рецептора EGF можно предположить, что EGF играет существенную роль в острый период инвазии, когда паразиты интенсивно делятся и внутри клеток формируют шизонты (меронты).

Биологический эффект факторов роста млекопитающих на паразитов, по-видимому, опосредуется специфическими сенсорными мембранными молекулами, имеющими структурную гомологию с рецепторами факторов роста, которые через экспрессию протеин(тирозин)киназы (РТК) способны активировать сигнальный путь проведения пролиферативного сигнала через митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК). Несомненно, что дальнейшее изучение молекулярной организации сенсорных (рецепторных) молекул, сигнальных белков и определение индуцированных генов приведут к более глубокому пониманию механизма действия факторов роста на клетки низших эукариот. Ранее мы уже отмечали, что для паразитов на стадии мерогонии характерен высокий уровень пролиферативной активности, который контролируется с помощью специализированных митогенных сигнальных путей, МАРК и фосфатаз, а также регуляторных сигнальных белков, участвующих в регуляции клеточного цикла (Schemarova, 2006). Белки, подобные по первичной структуре МАРК млекопитающих, обнаружены у *Toxoplasma gondii* (Roisin et al., 2000; Lacey et al.,

2007), *Plasmodium falciparum* (Doerig et al., 1996; Dorin et al., 1999; Dorin-Semblat et al., 2007), *Trypanosoma brucei* (Müller et al., 2002), *Leishmania mexicana* (Wiese, 1998), *Entamoeba histolytica* (Iwashita et al., 2005; Ray et al., 2005) и некоторых других паразитических простейших. Как оказалось, МАРК-подобные белки простейших имеют не только структурное, но и функциональное сходство с типичными МАРК. На это может указывать, в частности, способность пиридинимидазола и имидазопиримидина — ингибиторов р38-МАРК — подавлять репликацию и рост зоитов *T. gondii* (Wei et al., 2007). Тирозинкиназная активность выявлена у трофозоитов и шизонтов гемоспоридий *P. falciparum*, показано ингибирующее действие на нее пицеатаннола (in vitro), являющегося терапевтическим антималярийным препаратом (Mishra et al., 1999). В ответ на стимуляцию сывороткой человека паразитических амeboфлагеллят *Naegleria fowleri* показаны увеличенные фосфорилирования по тирозину белков с относительно низкими мол. массами (20, 22, 47, 51 и 53 кДа) и снижение фосфорилирования протеинов с более высокой мол. массой (70—250 кДа) (Chu et al., 2000). Повышение тирозинкиназной активности в клеточных лизатах *N. fowleri* отмечено через 5 мин, а максимальное фосфорилирование белков по тирозину наблюдали через 15 мин после добавления сыворотки. Преинкубация клеточных лизатов с генистеином, являющимся ингибитором тирозинкиназ, значительно снижала фосфорилирование по тирозину белков in vitro, а инкубация клеток с генистеином в концентрации 100 мкМ in vivo приводила к ингибированию пролиферации. Показано наличие многочисленных фосфотирозинсодержащих протеинов у паразитических жгутиков *T. brucei* и выявлена их дифференцированная регуляция посредством тирозинкиназ и тирозинфосфатаз в процессе бесполой стадии жизненного цикла, из чего авторы делают заключение о том, что эти ферменты играют важную роль в биологии развития паразитов (Parsons et al., 1990, 1993). Обнаружено наличие многочисленных фосфотирозинсодержащих белков с мол. массами 34, 50, 82 и 121 кДа у *Trypanosoma brucei brucei*, фосфорилирование которых индуцируется IFN- γ (100 ед./мл) (Mustafa et al., 1997). Максимум тирозинкиназной активности отмечали уже через 5 мин после стимуляции клеток IFN- γ , затем наблюдали постепенное понижение киназной активности, и к 120 мин от начала стимуляции она возвращалась к уровню контрольных значений. Ингибитор тирозинкиназы тирфостин А47 в нетоксичной концентрации 10^{-6} М снижал индуцируемое IFN- γ фосфорилирование белков in vitro и вызывал значительное снижение включения [3 H]-тимидина в стимулированные IFN- γ клетки трипаносом in vivo. Тирфостин А47 индуцировал ослабление скорости пролиферации клеток паразитов, что приводило к более легкому течению болезни у инфицированных *T. brucei brucei* мышей (Mustafa et al., 1997).

Представлены данные, свидетельствующие о вовлечении тирозинкиназы *Trypanosoma cruzi* в сигнальный каскад, который инициируется стимуляцией гликопротеина клеточной поверхности паразита gp82 и приводит к мобилизации ионов Ca^{2+} , необходимых одноклеточным паразитам для начала инвазии (Yoshida et al., 2000). Обнаружено также, что тирозинкиназная активность, измеряемая по уровню фосфорилирования протеина с мол. массой 175 кДа (p175), индуцируется в метациклических формах *T. cruzi* экстрактами клеток HeLa, в которых успешно развиваются паразиты, но не клеток K562, устойчивых к ин-

вазии. Обработка паразитов генистеином блокировала фосфорилирование белка p175 и увеличивала концентрацию цитозольного Ca^{2+} .

У промастигот *Leishmania donovani* выявлено фосфорилирование по тирозину белков с мол. массами 105 и 110 кДа на первых этапах инвазии клеток хозяина и замечено, что резкое повышение температуры от 24 до 37 °С (тепловой шок) снижало уровень фосфорилирования по тирозину у вирулентных форм паразита, при этом у авирулентных форм паразита этот показатель не изменялся, что является косвенным указанием на важную роль фосфорилирования по тирозину в проявлении паразитическими простейшими инвазивных свойств (Salotra et al., 2000).

Исследовано фосфорилирование по тирозину, серину и треонину у про- и амастиготных форм жгутиковых простейших *Leishmania mexicana*, индуцированное инсулиноподобным фактором роста I (IGF-I) (Gomes et al., 1998). При фосфоаминокислотном анализе паттернов общего и специфического фосфорилирования по тирозиновым остаткам с использованием [32 P]-меченного ортофосфата и иммуноблотинга с моноклональными фосфотирозинными антителами было обнаружено, что стимуляция IGF-I промастиготных форм паразита приводит к индукции фосфорилирования по тирозину белка с мол. массой 185 кДа, а стимуляция амастигот — к фосфорилированию по тирозину белков 40 и 60 кДа. Анализ общего аминокислотного фосфорилирования обнаружил дополнительные сети фосфопротеинов: белка с мол. массой 110 кДа у промастигот и протеинов с мол. массами 120 и 95 кДа у амастигот. Кроме того, с помощью стимуляции клеток IGF-I были выявлены стадиспецифические изменения в уровнях общего фосфорилирования и фосфорилирования по тирозину у лейшманий на протяжении всего жизненного цикла. При этом было отмечено, что индуцированное IGF-I фосфорилирование белков и у промастигот, и у амастигот *L. mexicana* происходит в равной степени как по тирозиновым, так и по серин-треониновым остаткам. Исходя из полученных авторами данных можно предположить, что у лейшманий в ходе клеточной дифференцировки функционирует универсальный механизм передачи сигнала посредством процессов фосфорилирования белков по остаткам серина, треонина и тирозина.

У паразитической амобы *Entamoeba histolytica* обнаружен мембранный белок с мол. массой 220 кДа, обладающий тирозинкиназной активностью (Hernandez-Ramirez et al., 2000). Ранее этими же авторами был охарактеризован другой β 1-интегриноподобный белок с мол. массой 140 кДа, также обладающий тирозинкиназной активностью (Talamas-Rohana et al., 1998). Присутствие у амоб тирозинкиназ, ассоциированных с (1-интегриноподобной молекулой, было подтверждено в реакции иммунопреципитации при комбинированном использовании тирозинкиназного специфического субстрата — пептида RR-SRC — и тирозинкиназного ингибитора — генистеина и моноклональных антител против фосфотирозина (Hernandez-Ramirez et al., 2000; Sengupta et al., 2000, 2001). Все эти данные свидетельствуют о наличии у паразитических простейших сигнальных белков, регулируемых фосфорилированием по тирозину — ключевым процессом в передаче сигнала по МАР-киназному пути.

Интересно, что как спорозойные, так и жгутиковые простейшие в период своего пролиферативного роста способны не только индуцировать процессы фосфорили-

рования по тирозину и активировать собственные MAPK-подобные белки, но и влиять на активность MAPK клеток хозяина (Denkers et al., 2004; Mukherjee et al., 2004; Lu et al., 2006; Sarapau et al., 2007; Chandra, Naik, 2008; Lucchi et al., 2008; Hallé et al., 2009). В данном случае характер влияния со стороны паразита на КХ носит корректирующий характер. При этом активность одних изоформ MAPK снижается, а других, напротив, повышается или остается неизменной. Например, заражение культивируемых эндотелиальных и гладкомышечных клеток *Trypanosoma cruzi* приводит к увеличению активности ERK1/2 киназ, но не JNK- или p38 стрессактивируемых MAPK. Эти результаты подтверждаются данными субстратно-ингибиторного анализа, показавшими, что преобработка клеток ингибитором MAPK PD98059 полностью блокирует фосфорилирование ERK1/2, но не влияет на фосфорилирование стресс-активируемых MAPK (Mukherjee et al., 2004). В инфицированных нейтрофилах зоиты *Toxoplasma gondii*, напротив, стимулируют фосфорилирование JNK киназы (изоформы JNK2), которая важна для индукции синтеза цитокинов и CCL2/MCP-1 — белков, принимающих участие в адаптивном ответе зараженных клеток (Sukhumavasi et al., 2007). В то же время в макрофагах зоиты *T. gondii* стимулируют фосфорилирование и митоген-, и стрессактивируемых MAPK (Masek et al., 2006). Эти данные могут говорить о важном значении всех изоформ MAPK в обеспечении противопаразитарной защиты КХ, а степень фосфорилирования той или иной изоформы MAPK, возможно, зависит от типа зараженной клетки и генотипических особенностей организации ее внутриклеточных сигнальных систем.

Механизмы, с помощью которых паразит модифицирует передачу сигналов в зараженной клетке, также весьма разнообразны и в значительной степени зависят от видовой принадлежности возбудителя болезни. Так, например, зоиты *T. gondii* в ранний период развития болезни блокируют в зараженных клетках ядерную транслокацию транскрипционного фактора NF-κB, что приводит к нарушению распознавания сигналов, активирующих MAPK-каскад, и соответственно к дефектам его функционирования в КХ (Denkers et al., 2004). Зоиты *Theileria parva* вызывают трансформацию Т-клеток иммунной системы. При этом КХ перестают реагировать на ростовые факторы и антигенную стимуляцию. В то же время паразиты стимулируют в зараженных клетках JNK-сигнальный путь и активируют транскрипционные факторы AP-1 и ATF-2, что приводит к снижению иммунной защиты макроорганизма и облегчает длительное существование паразита в КХ (Dobbelaere et al., 2000). Малярийные паразиты модифицируют клеточную поверхность зараженных эритроцитов. Они секретируют вещества, которые повышают порозность мембраны путем увеличения содержания в ней анионных каналов (Mersckx et al., 2009). Список примеров, иллюстрирующих разнообразие механизмов, с помощью которых протозойные паразиты влияют на сигнальные системы макроорганизма в острый период инвазии, может быть продолжен (Chuenkova, Pereiraperrin, 2006; Lu et al., 2006; Abu-Dayyeh et al., 2008; Akpan et al., 2008; Lucchi et al., 2008, и др.).

В рамках рассматриваемой проблемы большой интерес представляет изучение механизмов передачи сигналов у паразитов, способных к длительному существованию в организме хозяина, при котором заболевание приобретает хроническую форму течения.

Передача сигналов у персистирующих стадий паразитов в хроническом периоде болезни

Этот этап жизненного цикла внутриклеточных паразитов необычайно сложен и с физиологической точки зрения, и с точки зрения коммуникативного взаимодействия с макроорганизмом. С учетом того, что процессы развития паразитов в позвоночном хозяине имеют важное эпидемиологическое значение, представляется важным проанализировать особенности передачи сигналов у паразитов, способных к длительному персистированию внутри КХ. Персистирование выражается в формировании специальных защитных структур — цист, или капсул, которые образуются вокруг бесполой стадии паразита, защищая его от иммунных факторов со стороны макроорганизма (персистирование на этапе мерогонии) (Бейер, 1989). Исходя из поставленных в статье задач, мы ограничимся рассмотрением лишь сигнальных процессов, контролирующих защиту персистирующих стадий цистообразующих кокцидийных паразитов на этапе их внутриклеточного развития в КХ.

Наличие бесполой персистирующей стадии, заключенных внутри тканевых цист, характерно для спорозойных паразитов родов *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Besnoitia*, *Cystoisospora*, *Hammondia* и некоторых других. Этап формирования тканевых цист рассмотрим на примере *Toxoplasma gondii*. Он происходит после того, как внедрившийся в КХ спорозоит даст начало новым клеткам — эндозоидам, способным к бесполому размножению и развитию внутри паразитофорных вакуолей (ПВ) в клетках преимущественно лимфатических узлов, печени и легких (Chen et al., 2002). Через 6—9 сут и далее после заражения эндозоидам исчезают из внутренних органов и попадают в нервную или реже мышечную ткань, где образуют тканевые цисты (Бейер, 1989).

Тканевые цисты *T. gondii* имеют собственную оболочку, основу которой составляют мембрана ПВ, а также материал, продуцируемый самим внутриклеточным паразитом. Цисты достигают 40—100 мкм в диаметре, и по мере роста в них увеличивается число цистозоитов — следующей внутриклеточной стадии развития кокцидийных паразитов, способных к заражению окончательного хозяина (Frenkel, 1973; Dubey, 1977; Di Cristina et al., 2008; Ferreira da Silva Mda, 2008). На этом этапе развития внутриклеточная локализация цист в интактных клетках обеспечивает маскировку антигенов паразита, что объясняет отсутствие воспалительной реакции вокруг цист *T. gondii* даже с большим количеством цистозоитов (Frenkel, 1973; Ferguson, Hutchison, 1987). В то же время цитозимологические исследования показали, что ткань мозга мыши, непосредственно окружающая цисту, отличается от более отдаленных участков по уровню ферментов окисления—восстановления, что может свидетельствовать о наличии определенного взаимодействия между паразитом и хозяином в хронический период болезни (Бейер, 1979). На существование обратной связи макроорганизм—паразит указывают и современные иммунохимические исследования, показавшие наличие у тахизоитов *T. gondii* белков, запускающих различные MyD88-зависимые сигнальные каскады, активирующие иммунную систему макроорганизма через увеличение продукции цитокинов (Chen et al., 2002; Del Rio et al., 2004).

Длительность выживания цист спорозойных паразитов в промежуточном хозяине объясняется по крайней мере двумя причинами. Во-первых, особенностями мета-

болизма этих стадий, для которых главным энергетическим субстратом является амилопектин, в избытке находящийся в цитоплазме клеток (Бейер, 1979), а также способностью паразитов извлекать питательные вещества из КХ (Charron, Sibley, 2002; Coppens, Joiner, 2003; Chaudhary et al., 2004; Seabra et al., 2004). Во-вторых, активацией паразитом механизмов, препятствующих развитию в КХ апоптоза — программируемой клеточной смерти — общебиологического процесса, с помощью которого поврежденные, старые или зараженные клетки удаляются из здоровой ткани (Green, 2003a; Danial, Korsmeyer, 2004). Биохимически апоптоз представляет собой медленный демонтаж клеток с помощью цистеиновых протеаз, или каспаз (Green, 2003b; Danial, Korsmeyer, 2004).

Известно несколько путей активации каспаз. Основной из них — через связывание лиганда с соответствующими так называемыми рецепторами смерти, а именно FasL/Fas и TNF- α /TNER (Kischkel et al., 1995; Muzio et al., 1996; Peter, Krammer, 2003). В этом случае активация рецепторов приводит к формированию индуцирующего смерть сигнального комплекса (death-inducing signalling complex; DISC) (Kischkel et al., 1995; Muzio et al., 1996), который рекрутирует и активирует иницирующую каспазу-8 (Muzio et al., 1996; Peter, Krammer, 2003). Активированная каспаза-8 затем расщепляет и в свою очередь активирует исполнительную каспазу-3, которая ответственна за гидролиз множества белков и последующую смерть клетки (Peter, Krammer, 2003).

Другой апоптотический путь инициируется внутриклеточными стрессовыми сигналами и повреждением ДНК, что приводит к освобождению цитохрома *c* из митохондрий, активации инициаторной каспазы-9 и формированию макромолекулярного деградационного комплекса — апоптосомы (Orferman, Korsmeyer, 2003; Green, 2005).

К настоящему времени установлено, что процесс апоптоза — регулируемый. В клетках макроорганизма существует целый ряд белков, которые могут способствовать или, напротив, задерживать развитие апоптоза (Yao, Cooper, 1995; Ghosh, Karin, 2002; Osaki et al., 2004; Perkins, 2007). Удивительно, но оказалось, что модуляция апоптоза — одно из важнейших средств воздействия паразита на КХ. Установлено, что *Cryptosporidium parvum*, *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii* и *Plasmodium* spp. ингибируют апоптоз в зараженных клетках (Carmen, Sinai, 2007). Каким образом достигается этот результат, не совсем понятно. Однако уже сейчас ясно, что способы воздействия паразитов на КХ с целью продлить срок ее жизни весьма разнообразны и зависят от вида паразитического простейшего. По-видимому, наиболее распространенными механизмами регуляции апоптоза являются три. Во-первых, паразиты могут стимулировать сигнальные пути, опосредуемые ядерным фактором транскрипции NF- κ B и фосфоинозитид-3-киназой (Danial, Korsmeyer, 2004). Во-вторых, они могут продуцировать и секретировать антиапоптотические факторы, сходные с таковыми в клетках макроорганизма (Polster, Fiskin, 2004; Andoniou, Degli-Esposti, 2006). В-третьих, паразиты могут непосредственно взаимодействовать с сигнальными эффекторными молекулами КХ, ответственными за регуляцию апоптотического пути (Carmen, Sinai, 2007; Vutova et al., 2007; Hippe et al., 2009).

К настоящему времени лучше других изучен механизм ингибирования апоптотического пути при участии транскрипционного фактора NF- κ B и фермента PI-3K.

Суть механизма, опосредованного NF- κ B, состоит в следующем. Под действием активирующих стимулов происходит фосфорилирование ингибитора κ B (I κ B). Фосфорилированный I κ B деградирует под действием протеасомы (Hayden, Ghosh, 2004), в результате чего неактивный NF- κ B, локализованный в цитоплазме, активируется и транслоцируется в ядро (Perkins, 2007), где вызывает экспрессию генов, продукты которых (Bcl-2, χ -IAP и χ -IAP) являются антиапоптотическими факторами (Chen et al., 2008).

Активация PI-3K также приводит к ингибированию апоптоза (Yao, Cooper, 1995; Osaki et al., 2004). Объяснить это можно следующим образом. Связывание лигандов с рецепторами факторов роста активирует PI-3K, с помощью которой происходит рекрутирование протеинкиназы B (сокращенно PKB или PKB/Akt) и фосфоинозитидзависимой киназы 1 (PDK1) к клеточным мембранам (Engelman et al., 2006). PDK1 активирует PKB/Akt, что приводит к ингибированию проапоптотических белков Bad и транскрипционных факторов «forkhead», репрессирующих транскрипцию генов, кодирующих проапоптотические белки, подобные Bim и FasL (Engelman et al., 2006).

Индукцированное NF- κ B ингибирование апоптоза обнаружено в клетках, инфицированных *Toxoplasma gondii*, *Leishmania donovani*, *Teileria* spp., *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium bergeri*, *Cryptosporidium parvum* и некоторыми другими паразитами. Активация NF- κ B, вызванная этими микроорганизмами, происходит различными способами. Так, например, представители рода *Teileria* рекрутируют киназу IKK, обеспечивающую фосфорилирование I κ B, к поверхности КХ (Heussler et al., 2002). У *T. gondii* механизм регуляции активности NF- κ B более сложный. Он включает в себя участие не только хозяйной киназы IKK, но и IKK-подобной киназы (TgIKK) самого паразита, назначение которой — поддерживать активность NF- κ B на определенном уровне (Molestina, Sinai, 2005a, 2005b). Порог активации NF- κ B зависит от стадии внутриклеточного развития паразита. В клетках, заключающих ранние стадии развития паразитов, этот порог выше, а в клетках, заключающих стадии на этапе созревания и репликации паразитов — ниже, что согласуется с представлением о ступенчатой регуляции апоптоза на всем протяжении развития протозойных паразитов в КХ (Carmen, Sinai, 2007).

Недавно было установлено, что зоиты *T. gondii* также могут влиять на выживаемость зараженных макрофагов через активацию PI-3K и эффекторной протеинкиназы PKB/Akt. Сравнение активностей этих киназ в зараженных и интактных клетках *in vitro* показало, что повышение протеинкиназной активности имеет место только в зараженных макрофагах (Kim, Denkers, 2006). Ингибиторы PI-3K вортманнин и LY294002 блокировали индуцированное паразитом фосфорилирование PKB/Akt. Более того, авторам цитируемого исследования удалось показать, что ингибиторы PI-3K или коклюшный токсин блокировали не только активацию PKB/Akt, но также и активацию ERK1/2. Полученные данные свидетельствуют о том, что зоиты *T. gondii* используют сигнальные пути, зависящие от Gi-белков и PI-3K, для предотвращения апоптоза. Эксплуатируют ли эти сигнальные пути зараженных клеток эндозоиты цистных стадий *T. gondii*, пока неизвестно.

Зоиты *Plasmodium bergeri* активируют PI-3K-зависимые пути через индукцию ростового фактора гепатоцитов

(Carrolo et al., 2003; Heussler et al., 2006). Эти наблюдения подтверждаются экспериментами *in vitro* с использованием ингибитора PI-3K. Гепатоциты, обработанные ингибитором, в ходе дальнейшей инвазии подвергались апоптозу, а необработанные нет (Leiriao et al., 2005). Сходные результаты получены и в отношении многих других типов клеток, инфицированных протозойными паразитами.

Совсем недавно было установлено, что в индукции пролиферации зараженных клеток и антиапоптотических путей может участвовать протеинкиназа А (РКА) (Guergnon et al., 2006). Авторы обнаружили, что *Teileria annulata* при паразитировании в В-лимфоцитах или макрофагах вызывает повышение активности каталитической субъединицы РКА и фосфорилирование Akt/РКВ. Использование в экспериментах фармакологических ингибиторов РКА — Н89 и КТ5720 — приводило к отмене антиапоптотического воздействия тейлерий на зараженные клетки. Возможно, что и другие простейшие используют РКА-зависимые механизмы индукции антиапоптотических сигнальных путей в КХ. Дальнейшие исследования прояснят этот вопрос.

Таким образом, приведенные примеры воздействия внутриклеточных паразитов на зараженные клетки свидетельствуют о том, что паразиты эффективно вмешиваются в сигнальную регуляцию КХ и тем самым обеспечивают себе безопасные условия существования, способствующие их репликации, полному метаморфозу и дальнейшему прохождению по жизненному циклу.

Заключение

Изучение молекулярных основ внутриклеточного паразитизма и паразито-хозяйинных отношений привело к четкому представлению о том, что для обеспечения своей жизнедеятельности в КХ паразитам требуются особые приспособительные механизмы, работа которых координируется с помощью внутриклеточных сигнальных систем. Они позволяют паразитам осуществлять стратегию выживания и развития в КХ и использовать инфицированные клетки в качестве среды обитания.

Паразитические простейшие имеют сложный жизненный цикл, часть которого проходит в позвоночном хозяине. При этом, развиваясь внутри КХ, простейшие претерпевают ряд метаморфозов, в процессе которых меняется спектр структурных и секретируемых ими белков. Лабильность состава белков, очевидно, является одним из важнейших условий длительного, практически симбиотического сосуществования паразитов и зараженных клеток, их приспособлением в стратегии противоиммунной защиты. К настоящему времени появились новые данные о механизмах воздействия паразитов на КХ, объясняющие, каким образом им удается избегать губительного воздействия защитного аппарата КХ. В основе этого феномена лежат такие приспособительные механизмы паразитических простейших, как образование ПВ и тканевых цист, а также синтез белков, нейтрализующих действие иммунной системы организма хозяина (см. таблицу).

В процессе внутриклеточного развития у протозойных паразитов меняются интенсивность метаболических реакций и активность ферментов, участвующих в сигнальной передаче. Если на этапе внедрения в КХ у паразитов приоритетное значение имели адгезивные молекулы и лиганды, узнающие «свои» рецепторы на поверхности КХ, то на этапе репликации и множественного

размножения — процессы фосфорилирования по тирозину и активация MAPK-подобных киназ. В период длительного персистирования, напротив, значение пролиферативных путей снижается, и, по-видимому, индуцируются белки-регуляторы продолжительности жизни и апоптогенные белки, так как на завершающих стадиях своего развития в КХ внутриклеточные паразиты имеют морфологические признаки стареющих клеток либо апоптоза (Ameisen et al., 1995; Moody-Haupt et al., 2000; Lee et al., 2002; Debrabant et al., 2003; Радченко, Бейер, 2004; Nguewa et al., 2004). При этом на каждой стадии своего жизненного цикла паразиты «манипулируют» зараженной клеткой с помощью собственных белков или используя регуляторные белки КХ. Это приводит к изменению фенотипа зараженной клетки и развитию иммунологической толерантности к антигенам клеточной поверхности паразитов.

Полученные к настоящему времени знания о сигнальных системах протозойных паразитов и взаимоотношениях с КХ осмысливаются под углом зрения их эпидемиологического значения. Обнаружение наиболее слабых звеньев в защите паразитов от влияния со стороны иммунной системы макроорганизма может составить основу для разработки профилактики вызываемых ими заболеваний. В последние годы появились работы, в которых подробно рассматриваются такие возможности (Good et al., 2004; Nguewa et al., 2004; Innes, Vermeulen, 2006; Chaudhuri et al., 2008; Frevert et al., 2009; Merckx et al., 2009).

Список литературы

- Бейер Т. В. 1979. Метаболизм *Toxoplasma gondii*. В кн.: Токсоплазмиды. Л.: Наука. 49—62.
- Бейер Т. В. 1989. Клеточная биология споровиков. Л.: Наука. 184 с.
- Бейер Т. В., Свежова Н. В., Радченко А. И., Сидоренко Н. В. 2003. Пути формирования паразитофорных вакуолей и их разнообразие у паразитических простейших. Кокцидии (Sporozoa, Apicomplexa). Цитология. 45 (4) : 339—357.
- Радченко А. И., Бейер Т. В. 2004. Структурная и функциональная характеристика цистозитов в *Sarcocystis* sp. (Sporozoa, Apicomplexa). Цитология. 46 (7): 592—600.
- Сопрунов Ф. Ф. 1987. Молекулярные основы паразитизма. М.: Наука. 224 с.
- Abu-Dayyeh I., Shio M. T., Sato S., Akira S., Cousineau B., Olivier M. 2008. *Leishmania*-induced IRAK-1 inactivation is mediated by SHP-1 interacting with an evolutionarily conserved KTIM motif. PLoS Negl. Trop. Dis. 2 : e305.
- Ahmed J. S., Glass E. J., Salih D. A., Seitzer U. 2008. Innate immunity to tropical theileriosis. Innate Immun. 14 : 5—12.
- Aikawa M., Miller L. H., Johnson J., Rabbege J. 1978. Erythrocyte entry by malarial parasites. A moving junction between erythrocyte and parasite. J. Cell Biol. 77 : 72—82.
- Aikawa M., Sprinz H. 1971. Erythrophagocytosis in the bone marrow of canary infected with malaria. Electron microscope observations. Lab. Invest. 24 : 45 — 54.
- Aji T., Flanigan T., Marshall R., Kaetzel C., Aikawa M. 1991. Ultrastructural study of asexual development of *Cryptosporidium parvum* in a human intestinal cell line. J. Protozool. 38 : 82S—84S.
- Akarid K., Arnoult D., Micic-Polianski J., Sif J., Estaquier J., Ameisen J. C. 2004. *Leishmania major*-mediated prevention of programmed cell death induction in infected macrophages is associated with the repression of mitochondrial release of cytochrome c. J. Leukoc. Biol. 76 : 95—103.
- Akpan N., Caradonna K., Chuenkova M. V., Pereira-Perrin M. 2008. Chagas' disease parasite-derived neurotrophic factor activates cholinergic gene expression in neuronal PC12 cells. Brain Res. 1217 : 195—202.

- Ameisen J. C., Idziorek T., Billaut-Mulot O., Loyens M., Tissier J. P., Potentier A., Ouaiissi A. 1995. Apoptosis in a unicellular eukaryote (*Trypanosoma cruzi*): implications for the evolutionary origin and role of programmed cell death in the control of cell proliferation, differentiation and survival. *Cell Death Differ.* 2 : 285—300.
- Andoniou C. E., Degli-Esposti M. A. 2006. Insights into the mechanisms of CMV-mediated interference with cellular apoptosis. *Immunol. Cell Biol.* 84 : 99—106.
- Aoki M. P., Guinazu N. L., Pellegrini A. V., Gotoh T., Masih D. T., Gea S. 2004. Cruzipain, a major *Trypanosoma cruzi* antigen, promotes arginase-2 expression and survival of neonatal mouse cardiomyocytes. *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* 286 : C206—C212.
- Bakhiet M., Olsson T., Mhlanga J., Buscher P., Lycke N., van der Meide P. H., Kristensson K. 1996. Human and rodent interferon-gamma as a growth factor for *Trypanosoma brucei*. *Eur. J. Immunol.* 26 : 1359—1364.
- Barcinski M. A., Moreira M. E. C. 1994. Cellular responses of protozoan parasites to host-derived cytokines. *Parasitol. Today* 10 : 352—355.
- Barcinski M. A., Shehtman D., Quintao L. G., Costa D. A., Soares L. R. B., Moreira M. E. C., Charlab R. 1992. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor increases the infectivity of *Leishmania amazonensis* by protecting promastigotes from heat-induced death. *Infect. Immun.* 60 : 3523—3527.
- Baum J., Chen L., Healer J., Lopatnicki S., Boyle M., Triglia T., Ehlgren F., Ralph S. A., Beeson J. G., Cowman A. F. 2009. Reticulocyte-binding protein homologue 5 — an essential adhesin involved in invasion of human erythrocytes by *Plasmodium falciparum*. *Int. J. Parasitol.* 39 : 371—380.
- Baumgartner M., Chaussepied M., Moreau M. F., Werling D., Davis W. C., Garcia A., Langsley G. 2000. Constitutive PI3-K activity is essential for proliferation, but not survival, of *Theileria parva*-transformed B cells. *Cell Microbiol.* 2 : 329—339.
- Biermann R., Schnittger L., Beyrer D., Ahmed J. S. 2003. Initiation of translation and cellular localization of *Theileria annulata* casein kinase IIalpha: implication for its role in host cell transformation. *J. Cell. Physiol.* 196 : 444—453.
- Bradley P. J., Sibley L. D. 2007. Rhoptries: an arsenal of secreted virulence factors. *Curr. Opin. Microbiol.* 10 : 582—587.
- Brown D. J., Campbell J. D., Glass E., Waddington D., Hopkins J., Spooner R. L. 1998. Cytokine production/T-cell-stimulatory ability of *Theileria annulata*-infected cells and post-vaccinal reactions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 849 : 412—415.
- Buzoni-Gatel D., Dubremetz J. F., Werts C. 2008. Molecular cross talk between *Toxoplasma gondii* and the host immune system. *Med. Sci.* 24 : 191—196.
- Calvo P. A., Daly T. M., Long C. A. 1996. *Plasmodium yoelii*: the role of the individual epidermal growth factor-like domains of the merozoite surface protein-1 in protection from malaria. *Exp. Parasitol.* 82 : 54—64.
- Caparrós E., Serrano D., Puig-Kröger A., Riol L., Lasala F., Martínez I., Vidal-Vanaclocha F., Delgado R., Rodríguez-Fernández J. L., Rivas L., Corbi A. L., Colmenares M. 2005. Role of the C-type lectins DC-SIGN and L-SIGN in *Leishmania* interaction with host phagocytes. *Immunobiology.* 210 : 185—193.
- Carapau D., Kruhofer M., Chatalbash A., Orenge J. M., Mota M. M., Rodriguez A. 2007. Transcriptome profile of dendritic cells during malaria: cAMP regulation of IL-6. *Cell Microbiol.* 9 : 1738—1752.
- Carmen J. C., Hardi L., Sinai A. P. 2006. *Toxoplasma gondii* inhibits ultraviolet light-induced apoptosis through multiple interactions with the mitochondrion-dependent programmed cell death pathway. *Cell Microbiol.* 8 : 301—315.
- Carmen J. C., Sinai A. P. 2007. Suicide prevention: disruption of apoptotic pathways by protozoan parasites. *Mol. Microbiol.* 64 : 904—916.
- Carrolo M., Giordano S., Cabrita-Santos L., Corso S., Vigário A. M., Silva S., Leirião P., Carapau D., Armas-Portela R., Comoglio P. M., Rodriguez A., Mota M. M. 2003. Hepatocyte growth factor and its receptor are required for malaria infection. *Nat. Med.* 9 : 1363—1369.
- Cevallos A. M., Zhang X., Waldor M. K., Jaison S., Zhou X., Tzipori S., Neutra M. R., Ward H. D. 2000. Molecular cloning and expression of a gene encoding *Cryptosporidium parvum* glycoproteins gp40 and gp15. *Infect. Immun.* 68 : 4108—4116.
- Chandra D., Naik S. 2008. *Leishmania donovani* infection down-regulates TLR2-stimulated IL-12p40 and activates IL-10 in cells of macrophage/monocytic lineage by modulating MAPK pathways through a contact-dependent mechanism. *Clin. Exp. Immunol.* 154 : 224—234.
- Charlab R., Blaineau C., Schechtman D., Barcinski M. A. 1990. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a growth-factor for promastigotes of *Leishmania mexicana amazonensis*. *J. Protozool.* 37 : 352—357.
- Charron A. J., Sibley L. D. 2002. Host cells: mobilizable lipid resources for the intracellular parasite *Toxoplasma gondii*. *J. Cell Sci.* 115 : 3049—3059.
- Chaudhary K., Darling J. A., Fohl L. M., Sullivan W. J., Donald R. G., Pfefferkorn E. R., Ullman B., Roos D. S. 2004. Purine salvage pathways in the apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii*. *J. Biol. Chem.* 279 : 31 221—31 227.
- Chaudhuri R., Ahmed S., Ansari F. A., Singh H. V., Ramachandran S. 2008. MalVac: database of malarial vaccine candidates. *Malar. J.* 7 : 184.
- Chen I. L., Hedrick S. M., Hoffmann A. 2008. NF-kappaB as a determinant of distinct cell death pathways. *Methods Enzymol.* 446 : 175—187.
- Chen M., Aosai F., Norose K., Mun H. S., Takeuchi O., Akira S., Yano A. 2002. Involvement of MyD88 in host defense and the down-regulation of anti-heat shock protein 70 autoantibody formation by MyD88 in *Toxoplasma gondii*-infected mice. *J. Parasitol.* 88 : 1017—1019.
- Chitnis C. E., Sharma A. 2008. Targeting the *Plasmodium vivax* Duffy-binding protein. *Trends Parasitol.* 24 : 29—34.
- Chu D. M., Ferguson T. J., Marciano-Cabral F. 2000. Protein kinase activation and protein phosphorylation in *Naegleria fowleri* amoebae in response to normal human serum. *J. Eukaryot. Microbiol.* 47 : 40—47.
- Chuenkova M. V., Pereiraperrin M. 2006. Enhancement of tyrosine hydroxylase expression and activity by *Trypanosoma cruzi* parasite-derived neurotrophic factor. *Brain Res.* 1099 : 167—175.
- Coppens I., Joiner K. A. 2003. Host but not parasite cholesterol controls *Toxoplasma* cell entry by modulating organelle discharge. *Mol. Biol. Cell.* 14 : 3804—3820.
- Cordeiro-Da-Silva A., Borges M. C., Guilvard E., Ouaiissi A. 2001. Dual role of the *Leishmania major* ribosomal protein S3a homologue in regulation of T- and B-cell activation. *Infect. Immun.* 69 : 6588—6596.
- Courtin D., Jamonneau V., Mathieu J. F., Koffi M., Milet J., Yeminanga C. S., Kumeso V. K., Cuny G., Bilengue C. M., Garcia A. 2006. Comparison of cytokine plasma levels in human African trypanosomiasis. *Trop. Med. Int. Health.* 11 : 647—653.
- Crabb B. S., Cooke B. M., Reeder J. C., Waller R. F., Caruana S. R., Davern K. M., Wickham M. E., Brown G. V., Coppel R. L., Cowman A. F. 1997. Targeted gene disruption shows that knobs enable malaria-infected red cells to cytoadhere under physiological shear stress. *Cell.* 89 : 287—296.
- Crawford J., Grujic O., Bruic E., Czejek M., Grigg M. E., Boulanger M. J. 2009. Structural characterization of the bradyzoite surface antigen (BSR4) from *Toxoplasma gondii*: a unique addition to the SAG1 related superfamily. *J. Biol. Chem.* 284 : 9192—9198.
- Csaba G., Kovacs P., Falus A. 1995. Human cytokines interleukin (IL)-3 and IL-6 affect the growth and insulin binding of the unicellular organism *Tetrahymena*. *Cytokine.* 7 : 771—774.
- Daniel N. N., Korsmeyer S. J. 2004. Cell death: critical control points. *Cell.* 116 : 205—219.
- Debrabant A., Lee N., Bertholet S., Duncan R., Nakhasi H. L. 2003. Programmed cell death in trypanosomatids and other unicellular organisms. *Int. J. Parasitol.* 33 : 257—267.
- Del Rio L., Butcher B. A., Bennouna S., Hieny S., Shera A., Denkers E. Y. 2004. *Toxoplasma gondii* triggers myeloid differentiation factor 88-dependent IL-12 and chemokine ligand 2 (monocyte che-

moattractant protein 1) responses using distinct parasite molecules and host receptors. *J. Immunol.* 172 : 6954—6960.

Denkers E. Y., Butcher B. A., Del Rio L., Kim L. 2004. Manipulation of mitogen-activated protein kinase/nuclear factor-kappaB-signaling cascades during intracellular *Toxoplasma gondii* infection. *Immunol. Rev.* 201 : 191—205.

Dey I., Chadee K. 2008. Prostaglandin E2 produced by *Entamoeba histolytica* binds to EP4 receptors and stimulates interleukin-8 production in human colonic cells. *Infect. Immun.* 76 : 5158—5163.

Di Cristina M., Marocco D., Galizi R., Proietti C., Spaccapelo R., Crisanti A. 2008. Temporal and spatial distribution of *Toxoplasma gondii* differentiation into Bradyzoites and tissue cyst formation *in vivo*. *Infect. Immun.* 76 : 3491—3501.

Dlugonska H. 2008. *Toxoplasma* rhoptries: unique secretory organelles and source of promising vaccine proteins for immunoprevention of toxoplasmosis. *J. Biomed. Biotechnol.* 2008 : 1—7.

Dobbelaere D. A., Fernandez P. C., Heussler V. T. 2000. *Theileria parva*: taking control of host cell proliferation and survival mechanisms. *Cell Microbiol.* 2 : 91—99.

Dobbelaere D., Huessler V. 1999. Transformation of leukocytes by *Theileria parva* and *T. annulata*. *Annu. Rev. Microbiol.* 53 : 1—42.

Doerig C. M., Parzy D., Langsley G., Horrocks P., Carter R., Doerig C. D. 1996. A MAP kinase homologue from the human malaria parasite, related eukaryotic mitogen-activated protein kinases. *Gene.* 177 : 1—6.

Donskow-Schmelter K., Doligalska M. 2005. Apoptosis, a protective mechanism for pathogens and their hosts. *Wiad Parazytol.* 51 : 271—280.

Dorin-Semblat D., Quashie N., Halbert J., Sicard A., Doerig C., Peat E., Ranford-Cartwright L., Doerig C. 2007. Functional characterization of both MAP kinases of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* by reverse genetics. *Mol. Microbiol.* 65 : 1170—1180.

Drössigk V. U., Tietz H. J., Pötzsch F., Scholz D., Gantenberg R., Hiepe T. 1996. Effect of *Sarcocystis gigantea* extract (SGE) on the replication of human immunodeficiency virus (HIV). *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 109 : 41—45.

Dubey J. B. 1977. *Toxoplasma*, *Hammondia*, *Besnoitia*, *Sarcocystis*, and other tissue cystforming coccidian of man and animals. In: *Parasitic protozoa*. New York. 3 : 101—237.

Dumas M., Bouteille B. 1996. Human African trypanosomiasis. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.* 190 : 395—408.

Egan A. F., Chappel J. A., Burghaus P. A., Morris J. S., McBride J. S., Holder A. A., Kaslow D. C., Riley E. M. 1995. Serum antibodies from malaria-exposed people recognize conserved epitopes formed by the two epidermal growth factor motifs of MSP1(19), the carboxy-terminal fragment of the major merozoite surface protein of *Plasmodium falciparum*. *Infect. Immun.* 63 : 456—466.

Egan S. F., Weinberg R. A. 1993. The pathway to signal achievement. *Nature.* 365 : 781—783.

El Hajj H., Lebrun M., Arold S. T., Vial H., Labesse G., Dubremer J. F. 2007. ROP18 is a rhoptry kinase controlling the intracellular proliferation of *Toxoplasma gondii*. *PLoS Pathog.* 3 : e14.

Engelman J. A., Mukohara T., Zejnullahu K., Lifshits E., Borrás A. M., Gale C. M., Naumov G. N., Yeap B. Y., Jarrell E., Sun J., Tracy S., Zhao X., Heymach J. V., Johnson B. E., Cantley L. C., Janne P. A. 2006. Allelic dilution obscures detection of a biologically significant resistance mutation in EGFR-amplified lung cancer. *J. Clin. Invest.* 116 : 2695—2706.

Facer C. A. 1983. Erythrocyte sialoglycoproteins and *Plasmodium falciparum* invasion. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 77 : 524—530.

Ferguson D. J., Hutchison W. M. 1987. The host-parasite relationship of *Toxoplasma gondii* in the brains of chronically infected mice. *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol.* 411 : 39—43.

Fernandez-Gomez R., Esteban S., Gomez-Corvera R., Zoulika K., Ouassi A. 1998. *Trypanosoma cruzi*: Tc52 released protein-induced increased expression of nitric oxide synthase and nitric oxide production by macrophages. *J. Immunol.* 160 : 3471—3479.

Ferreira da Silva Mda F., Barbosa H. S., Gross U., Luder C. G. 2008. Stress-related and spontaneous stage differentiation of *Toxoplasma gondii*. *Mol. Biosyst.* 4 : 824—834.

Fichorova R. N., Trifonova R. T., Gilbert R. O., Costello C. E., Hayes G. R., Lucas J. J., Singh B. N. 2006. *Trichomonas vaginalis* lipophosphoglycan triggers a selective upregulation of cytokines by human female reproductive tract epithelial cells. *Infect. Immun.* 74 : 5773 — 5779.

Frenkel J. K. 1973. Toxoplasmosis. Parasite life cycle, pathology and immunology. In: *The coccidia: Eimeria, Isospora, Toxoplasma*, and related genera. Baltimore: Univ. Park Press. 343—410.

Freveret U., Moreno A., Calvo-Calle J. M., Klotz C., Nardin E. 2009. Imaging effector functions of human cytotoxic CD4+ T cells specific for *Plasmodium falciparum* circum sporozoite protein. *Int. J. Parasitol.* 39 : 119—132.

Gaechter V., Hehl A. B. 2005. Assembly and export of a *Toxoplasma* microneme complex in *Giardia lamblia*. *Int. J. Parasitol.* 35 : 1359—1368.

Galley Y., Hagens G., Glaser I., Davis W., Eichhorn M., Dobbelaere D. 1997. Jun NH2-terminal kinase is constitutively activated in T cells transformed by the intracellular parasite *Theileria parva*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 94 : 5119—5124.

Ghosh A., Bandyopadhyay K., Kole L., Das P. K. 1999. Isolation of a laminin-binding protein from the protozoan parasite *Leishmania donovani* that may mediate cell adhesion. *Biochem. J.* 337 : 551—558.

Ghosh S., Karin M. 2002. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. *Cell.* 109 : S81—S96.

Gomes C. M., Monteiro H. P., Gidlund M., Corbett C. E. 1998. Insulin-like growth factor-I induces phosphorylation in *Leishmania (Leishmania) mexicana* promastigotes and amastigotes. *J. Eukaryot. Microbiol.* 45 : 352—355.

Good M. F., Stanicic D., Xu H., Elliott S., Wykes M. 2004. The immunological challenge to developing a vaccine to the blood stages of malaria parasites. *Immunol. Rev.* 201 : 254—267.

Graham S. P., Brown D. J., Vatanserver Z., Waddington D., Taylor L. H., Nichani A. K., Campbell J. D., Adamson R. E., Glass E. J., Spooner R. L. 2001. Proinflammatory cytokine expression by *Theileria annulata* infected cell lines correlates with the pathology they cause *in vivo*. *Vaccine.* 19 : 2932—2944.

Green D. R. 2003a. Introduction: apoptosis in the development and function of the immune system. *Semin. Immunol.* 15 : 121—123.

Green D. R. 2003b. Overview: apoptotic signaling pathways in the immune system. *Immunol. Rev.* 193 : 5—9.

Green D. R. 2005. Apoptotic pathways: ten minutes to dead. *Cell.* 121 : 671—674.

Guergon J., Dessauge F., Traincard F., Cayla X., Rebollo A., Bost P. E., Langsley G., Garcia A. 2006. A PKA survival pathway inhibited by DPT-PKI, a new specific cell permeable PKA inhibitor, is induced by *T. annulata* in parasitized B-lymphocytes. *Apoptosis.* 11 : 1263—1273.

Gugssa A., Balan K. V., Macias C., Ashhraf M., Lee C. M., Hollis V. W., Wyche J., Anderson W. A. 2000. Fibronectin/fibroblast growth factor/cell matrix signaling pathways and reciprocal membrane interaction may be the regulators of cell growth and apoptosis in *Trypanosoma muscili* in co-cultures with fibroblasts. *Cytol. Pathol.* 32 : 281—296.

Hallé M., Gomez M. A., Stuble M., Shimizu H., McMaster W. R., Olivier M., Tremblay M. L. 2009. The *Leishmania* surface protease GP63 cleaves multiple intracellular proteins and actively participates in p38 mitogen activated protein kinase inactivation. *J. Biol. Chem.* 284 : 6893—6908.

Hayden M. S., Ghosh S. 2004. Signaling to NF-kappaB. *Genes Develop.* 18 : 2195—2224.

Hehl A. B., Hemphill A. 2006. The use of light- and electron microscopy for studies on the cell- and molecular biology of parasites and parasitic diseases. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 148 : 473—481.

Hernandez-Ramirez V., Anaya-Ruiz M., Rios A., Talamas-Rohana P. 2000. *Entamoeba histolytica*: tyrosine kinase activity indu-

ced by fibronectin through the $\beta 1$ -Integrin-like molecule. *Exp. Parasitol.* 95 : 85—95.

Heussler V. T., Küenzi P., Rottenberg S. 2001. Inhibition of apoptosis by intracellular protozoan parasites. *Int. J. Parasitol.* 31 : 1166—1176.

Heussler V. T., Rottenberg S., Schwab R., Küenzi P., Fernandez P. C., McKellar S., Shiels B., Chen Z. J., Orth K., Wallach D., Dobbelaere D. A. 2002. Hijacking of host cell IKK signalosomes by the transforming parasite *Theileria*. *Science*. 298 : 1033—1036.

Heussler V., Sturm A., Langsley G. 2006. Regulation of host cell survival by intracellular *Plasmodium* and *Theileria* parasites. *Parasitology*. 132 : S49—S60.

Hide G., Gray A., Harrison C. M., Tait A. 1989. Identification of an epidermal growth factor receptor homologue in *Trypanosomes*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 36 : 51—60.

Hippe D., Gais A., Gross U., Luder C. G. 2009. Modulation of caspase activation by *Toxoplasma gondii*. *Methods Mol. Biol.* 470 : 275—288.

Huynh M. H., Carruthers V. B. 2006. *Toxoplasma* MIC2 is a major determinant of invasion and virulence. *PLoS Pathog.* 2 : e84.

Innes E. A., Vermeulen A. N. 2006. Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites *Eimeria*, *Toxoplasma* and *Neospora*. *Parasitology*. 133 : S145—S168.

Iwashita J., Sato Y., Kobayashi S., Takeuchi T., Abe T. 2005. Isolation and functional analysis of a chk2 homologue from *Entamoeba histolytica*. *Parasitol. Int.* 54 : 21—27.

Jaskiewicz E. 2007. Glycophorins of human erythrocytes as receptors for the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 61 : 718—724.

Kardami E. 1990. A potential new role for bFGF in host-parasite interactions. *Growth Factors*. 4 : 61—68.

Kardami E., Pearson T. W., Beecroft R. P., Fandrich R. R. 1992. Identification of basic fibroblast growth factor-like proteins in African trypanosomes and *Leishmania*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 51 : 171—181.

Khan A. A., Slifer T. R., Araujo F. G., Remington J. S. 2001. Activity of gatifloxacin alone or in combination with pyrimethamine or gamma interferon against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45 : 48—51.

Kim L., Denkers E. Y. 2006. *Toxoplasma gondii* triggers Gi-dependent PI 3-kinase signaling required for inhibition of host cell apoptosis. *J. Cell Sci.* 119 : 2119—2126.

Kischkel F. C., Hellbardt S., Behrmann I., Germer M., Pawlita M., Kramer P. H., Peter M. E. 1995. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *EMBO J.* 14 : 5579—5588.

Küenzi P., Schneider P., Dobbelaere D. A. 2003. *Theileria parva*-transformed T cells show enhanced resistance to Fas/Fas ligand-induced apoptosis. *J. Immunol.* 171 : 1224—1231.

Kun J. F., Hibbs A. R., Saul A., McColl D. J., Coppel R. L., Anders R. F. 1997. A putative *Plasmodium falciparum* exported serine/threonine protein kinase. *Mol. Biochem. Parasitol.* 85 : 41—51.

Lacey M. R., Brumlik M. J., Yenni R. E., Burow M. E., Curiel T. J. 2007. *Toxoplasma gondii* expresses two mitogen-activated protein kinase genes that represent distinct protozoan subfamilies. *J. Mol. Evol.* 64 : 4—14.

Laliberté J., Carruthers V. B. 2008. Host cell manipulation by the human pathogen *Toxoplasma gondii*. *Cell Mol. Life Sci.* 65 : 1900—1915.

Lee N., Bertholet S., Debrabant A., Muller J., Duncan R., Nakhshi H. L. 2002. Programmed cell death in the unicellular protozoan parasite *Leishmania*. *Cell Death Differ.* 9 : 53—64.

Leiriao P., Mota M. M., Rodriguez A. 2005. Apoptotic *Plasmodium*-infected hepatocytes provide antigens to liver dendritic cells. *J. Infect. Dis.* 191 : 1576—1581.

Lejeune M., Rybicka J. M., Chadee K. 2009. Recent discoveries in the pathogenesis and immune response toward *Entamoeba histolytica*. *Future Microbiol.* 4 : 105—118.

Lewis A. P. 1989. Cloning and analysis of the gene encoding the 230-kilodalton merozoite surface antigen of *Plasmodium yoelii*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 36 : 271—282.

Lizundia R., Sengmanivong L., Guernon J., Müller T., Schnell T., Langsley G., Shorte S. L. 2005. Use of micro-rotation imaging to study JNK-mediated cell survival in *Theileria parva*-infected B-lymphocytes. *Parasitology*. 130 : 629—635.

López L. B., Braga M. B., López J. O., Arroyo R., Costa F. 2000. Strategies by which some pathogenic trichomonads integrate diverse signals in the decision-making process. *Acad. Bras. Cienc.* 72 : 173—186.

Low H., Lye Y. M., Sim T. S. 2007. Pfk3 functions as an atypical MAPKK in *Plasmodium falciparum*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 361 : 439—444.

Lu B., Petrola Z., Luquetti A. O., PereiraPerrin M. 2008. Auto-antibodies to receptor tyrosine kinases TrkA, TrkB and TrkC in patients with chronic Chagas' disease. *Scand. J. Immunol.* 67 : 603—609.

Lu Z., Serghides L., Patel S. N., Degousee N., Rubin B. B., Krishnegowda G., Gowda D. C., Karin M., Kain K. C. 2006. Disruption of JNK2 decreases the cytokine response to *Plasmodium falciparum* glycosylphosphatidylinositol *in vitro* and confers protection in a cerebral malaria model. *J. Immunol.* 177 : 6344—6352.

Lucchi N. W., Peterson D. S., Moore J. M. 2008. Immunologic activation of human syncytiotrophoblast by *Plasmodium falciparum*. *Malar. J.* 7 : 42.

Luft B. J., Remington J. S. 1992. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. *Clin. Infect. Dis.* 15 : 211—222.

Maier A. G., Rug M., O'Neill M. T., Brown M., Chakravorty S., Szeszak T., Chesson J., Wu Y., Hughes K., Coppel R. L., Newbold C., Beeson J. G., Craig A., Crabb B. S., Cowman A. F. 2008. Exported proteins required for virulence and rigidity of *Plasmodium falciparum*-infected human erythrocytes. *Cell*. 134 : 48—61.

Malaquias A. T., Oliveira M. M. 1999. Phospholipid signalling pathways in *Trypanosoma cruzi* growth control. *Acta Trop.* 73 : 93—108.

Masek K. S., Fiore J., Leitges M., Yan S. F., Freedman B.D., Hunter C. A. 2006. Host cell Ca^{2+} and protein kinase C regulate innate recognition of *Toxoplasma gondii*. *J. Cell Sci.* 119 : 4565—4573.

Mauel J. 1982. Effector and escape mechanisms in host-parasite relationships. *Prog. Allergy*. 31 : 1—75.

Mele R., Gomez Morales M. A., Tosini F., Pozio E. 2004. *Cryptosporidium parvum* at different developmental stages modulates host cell apoptosis *in vitro*. *Infect. Immun.* 72 : 6061—6067.

Merckx A., Bouyer G., Thomas S. L., Langsley G., Egee S. 2009. Anion channels in *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes and protein kinase A. *Trends Parasitol.* 25 : 139—144.

Mirelman D., Anbar M., Bracha R. 2008. Trophozoites of *Entamoeba histolytica* epigenetically silenced in several genes are virulence-attenuated. *Parasite*. 15 : 266—274.

Mishra N. C., Sharma M., Sharma A. 1999. Inhibitory effect of piceatannol, a protein tyrosine kinase inhibitor on asexual maturation of *Plasmodium falciparum*. *Indian J. Exp. Biol.* 37 : 418—420.

Mitchell G. H., Hadley T. J., McGinniss M. H., Klotz F. W., Miller L. H. 1986. Invasion of erythrocytes by *Plasmodium falciparum* malaria parasites: evidence for receptor heterogeneity and two receptors. *Blood*. 67 : 1519—1521.

Mittal K., Welter B.H., Temesvari L. A. 2008. *Entamoeba histolytica*: lipid rafts are involved in adhesion of trophozoites to host extracellular matrix components. *Exp. Parasitol.* 120 : 127—134.

Molestina R. E., Payne T. M., Coppens I., Sinai A. P. 2003. Activation of NF-kappaB by *Toxoplasma gondii* correlates with increased expression of antiapoptotic genes and localization of phosphorylated IkkappaB to the parasitophorous vacuole membrane. *J. Cell Sci.* 116 : 4359—4371.

Molestina R. E., Sinai A. P. 2005a. Host and parasite-derived IKK activities direct distinct temporal phases of NF-kappaB activation and target gene expression following *Toxoplasma gondii* infection. *J. Cell Sci.* 118 : 5785—5796.

Molestina R. E., Sinai A. P. 2005b. Detection of a novel parasite kinase activity at the *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuole membrane capable of phosphorylating host IkkappaBalpha. *Cell Microbiol.* 7 : 351—362.

- Moody-Haupt S., Patterson J. H., Mirelman D., McConville M. J. 2000. The major surface antigens of *Entamoeba histolytica* trophozoites are GPI-anchored proteophosphoglycans. *J. Mol. Biol.* 297 : 409—420.
- Moulder J. W. 1962. The biochemistry of intracellular parasitism. Chicago: Univ. Chicago Press. 172 p.
- Moutiez M., Aumercier M., Schöneck R., Meziane-Cherif D., Lucas V., Aumercier P., Ouaiissi A., Sergheraert C., Tartar A. 1995. Purification and characterization of a trypanothione-glutathione thioltransferase from *Trypanosoma cruzi*. *Biochem J.* 310 : 433—437.
- Moutiez M., Quemeneur E., Sergheraert C., Lucas V., Tartar A., Davioud-Charvet E. 1997. Glutathione-dependent activities of *Trypanosoma cruzi* p52 makes it a new member of the thiol: disulphide oxidoreductase family. *Biochem J.* 322 : 43—48.
- Mukherjee S., Huang H., Petkova S. B., Albanese C., Pestell R. G., Braunstein V. L., Christ G. J., Wittner M., Lisanti M. P., Berman J. W., Weiss L. M., Tanowitz H. B. 2004. *Trypanosoma cruzi* infection activates extracellular signal-regulated kinase in cultured endothelial and smooth muscle cells. *Infect. Immun.* 72 : 5274—5282.
- Muller I. B., Domenicali-Pfister D., Roditi I., Vassella E. 2002. Stage-specific requirement of a mitogen-activated protein kinase by *Trypanosoma brucei*. *Mol. Biol. Cell.* 13 : 3787—3799.
- Mustafa E., Bakhiet M., Jaster R., Bittorf T., Mix E., Olsson T. 1997. Tyrosine kinases are required for interferon-gamma-stimulated proliferation of *Trypanosoma brucei*. *J. Infect. Dis.* 175 : 669—673.
- Muzio M., Chinnaiyan A. M., Kischkel F. C., O'Rourke K., Shevchenko A., Ni J., Scaffidi C., Bretz J. D., Zhang M., Gentz R., Mann M., Krammer P. H., Peter M. E., Dixit V. M. 1996. FLICE, a novel FADD-homologous ICE/CED-3-like protease, is recruited to the CD95 (Fas/APO-1) death-inducing signaling complex. *Cell.* 85 : 817—827.
- Nagamune K., Moreno S. N., Chini E. N., Sibley L. D. 2008. Calcium regulation and signaling in apicomplexan parasites. *Subcell. Biochem.* 47 : 70—81.
- Nagase H., Jones K. M., Anderson C. F., Noben-Trauth N. 2007. Despite increased CD4⁺Foxp3⁺ cells within the infection site, BALB/c IL-4 receptor-deficient mice reveal CD4⁺Foxp3⁻ negative T cells as a source of IL-10 in *Leishmania major* susceptibility. *J. Immunol.* 179 : 2435—2444.
- Nguewa P. A., Fuertes M. A., Valladares B., Alonso C., Pérez J. M. 2004. Programmed cell death in trypanosomatids: a way to maximize their biological fitness? *Trends Parasitol.* 20 : 375—380.
- Ocaña-Morgner C., Wong K. A., Lega F., Dotor J., Borrás-Cuesta F., Rodríguez A. 2007. Role of TGF- β and PGE2 in T cell responses during *Plasmodium yoelii* infection. *Eur. J. Immunol.* 37 : 1562—1574.
- Okumura C. Y., Baum L. G., Johnson P. J. 2008. Galectin-1 on cervical epithelial cells is a receptor for the sexually transmitted human parasite *Trichomonas vaginalis*. *Cell Microbiol.* 10 : 2078—2090.
- Olsson T., Bakheit M., Kristensson K. 1992. Interactions between *Trypanosoma brucei* and CD8⁺ T cells. *Parasitol. Today.* 79 : 202—205.
- Opferman J. T., Korsmeyer S. J. 2003. Apoptosis in the development and maintenance of the immune system. *Nat. Immunol.* 4 : 410—415.
- Orengo J. M., Wong K. A., Ocaña-Morgner C., Rodríguez A. 2008. A *Plasmodium yoelii* soluble factor inhibits the phenotypic maturation of dendritic cells. *Malar. J.* 7 : 254.
- Osaki M., Oshimura M., Ito H. 2004. PI3K-Akt pathway: its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis.* 9 : 667—676.
- Ouaiissi A., Cordeiro-Da-Silva A., Guevara A. G., Borges M., Guilvard E. 2001. *Trypanosoma cruzi*-induced host immune system dysfunction: a rationale for parasite immunosuppressive factor(s) encoding gene targeting. *J. Biomed. Biotechnol.* 1 : 11—17.
- Ouaiissi A., Guevara-Espinoza A., Chabe F., Gomez-Corvera R., Taibi A. 1995. A novel and basic mechanism of immunosuppression in Chagas' disease: *Trypanosoma cruzi* releases *in vitro* and *in vivo* a protein which induces T cell unresponsiveness through specific interaction with cysteine and glutathione. *Immunol. Lett.* 48 : 221—224.
- Ouaiissi A., Guilvard E., Delneste Y., Caron G., Magistrelli G., Herbault N., Thieblemont N., Jeannin P. 2002a. The *Trypanosoma cruzi* Tc52-released protein induces human dendritic cell maturation, signals via Toll-like receptor 2, and confers protection against lethal infection. *J. Immunol.* 168 : 6366—6374.
- Ouaiissi A., Ouaiissi M., Sereno D. 2002b. Glutathione S-transferases and related proteins from pathogenic human parasites behave as immunomodulatory factors. *Immunol. Lett.* 81 : 159—164.
- Ouaiissi A., Ouaiissi M., Tavares J., Cordeiro-Da-Silva A. 2004. Host Cell phenotypic variability induced by trypanosomatid-parasite-released immunomodulatory factors: physiopathological implications. *J. Biomed. Biotechnol.* 2004 : 167—174.
- Parsons M., Valentine M., Carter V. 1993. Protein kinases in divergent eukaryotes: identification of protein kinase activities regulated during *Trypanosoma* development. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90 : 2656—2660.
- Parsons M., Valentine M., Deans J., Schieven G. L., Ledbetter J. A. 1990. Distinct patterns of tyrosine phosphorylation during the life cycle of *Trypanosoma brucei*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 45 : 241—248.
- Peng B. W., Lin J. Y., Zhang T. 2008. *Toxoplasma gondii* induces prostaglandin E2 synthesis in macrophages via signal pathways for calcium-dependent arachidonic acid production and PKC-dependent induction of cyclooxygenase-2. *Parasitol. Res.* 102 : 1043—1050.
- Perkins M. E. 1984. Binding of glycoporphins to *Plasmodium falciparum* merozoites. *Mol. Biochem. Parasitol.* 10 : 67—78.
- Perkins N. D. 2007. Integrating cell-signalling pathways with NF- κ B and IKK function. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 8 : 49—62.
- Peter M. E., Krammer P. H. 2003. The CD95(APO-1/Fas) DISC and beyond. *Cell. Death Differ.* 10 : 26—35.
- Petersen C. A., Krumholz K. A., Carmen J., Sinai A. P., Burleigh B. A. 2006. *Trypanosoma cruzi* infection and nuclear factor kappa B activation prevent apoptosis in cardiac cells. *Infect. Immun.* 74 : 1580—1587.
- Pinheiro R. O., Pinto E. F., Benedito A. B., Lopes U. G., Rossi-Bergmann B. 2004. The T-cell anergy induced by *Leishmania amazonensis* antigens is related with defective antigen presentation and apoptosis. *Ann. Acad. Bras. Cienc.* 76 : 519—527.
- Polster B. M., Fiskum G. 2004. Mitochondrial mechanisms of neural cell apoptosis. *J. Neurochem.* 90 : 1281—1289.
- Qiu W., Wernimont A., Tang K., Taylor S., Lunin V., Schapira M., Fentress S., Hui R., Sibley L. D. 2009. Novel structural and regulatory features of rho-trypanin secretory kinases in *Toxoplasma gondii*. *EMBO J.* 28 : 969—979.
- Ray D., Dutta S., Banerjee S., Banerjee R., Raha S. 2005. Identification, structure, and phylogenetic relationships of a mitogen-activated protein kinase homologue from the parasitic protist *Entamoeba histolytica*. *Gene.* 346 : 41—50.
- Rodrigues C. O., Dutra P. M., Barros F. S., Souto-Pradon T., Meyer-Fernandes J. R., Lopes A. H. 1999. Platelet-activating factor induction of secreted phosphatase activity in *Trypanosoma cruzi*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266 : 36—42.
- Roisin M. P., Robert-Gangneux F., Creuzet C., Dupouy-Camet J. 2000. Biochemical characterization of mitogen-activated protein (MAP) kinase activity in *Toxoplasma gondii*. *Parasitol. Res.* 86 : 588—598.
- Saeij J. P., Boyle J. P., Collier S., Taylor S., Sibley L. D., Brooke-Powell E. T., Ajioka J. W., Boothroyd J. C. 2006. Polymorphic secreted kinases are key virulence factors in toxoplasmosis. *Science.* 314 : 1780—1783.
- Sager H., Davis W. C., Dobbelaere D. A., Jungi T. W. 1997. Macrophage-parasite relationship in theileriosis. Reversible phenotypic and functional dedifferentiation of macrophages infected with *Theileria annulata*. *J. Leukoc. Biol.* 6 : 459—468.
- Salotra P., Chauhan D., Ralhan R., Bhatnagar R. 1995. Tumor necrosis factor- α induces preferential expression of stress proteins in virulent promastigotes of *Leishmania donovani*. *Immunol. Lett.* 44 : 1—5.

- Salotra P., Ralhan R., Sreenivas G. 2000. Stress induced modulation of protein phosphorylation in promastigotes of *Leishmania donovani*. Int. J. Biochem. Cell Biol. 32 : 309—316.
- Schemarova I. V. 2006. The role of tyrosine phosphorylation in regulation of signal transduction pathways in unicellular eukaryotes. Curr. Issues Mol. Biol. 8 : 27—49.
- Seabra S. H., DaMatta R. A., de Mello F. G., de Souza W. 2004. Endogenous polyamine levels in macrophages is sufficient to support growth of *Toxoplasma gondii*. J. Parasitol. 90 : 455—460.
- Sengupta K., Hernandez-Ramirez V. I., Rios A., Mondragon R., Talamas-Rohana P. 2001. *Entamoeba histolytica*: monoclonal antibody against the beta1 integrin-like molecule (140 kDa) inhibits cell adhesion to extracellular matrix components. Exp. Parasitol. 98 : 83—89.
- Sengupta K., Hernandez-Ramirez V. I., Talamas-Rohana P. 2000. Monoclonal antibody specific to the beta1 integrin-like molecule (140 kDa) immunoprecipitates a protein complex of *Entamoeba histolytica*. Arch. Med. Res. (Suppl. 4) : S147—S148.
- Shiels B. R., McKellar S., Katzer F., Lyons K., Kinnaird J., Ward C., Wastling J. M., Swan D. 2004. A *Theileria annulata* DNA binding protein localized to the host cell nucleus alters the phenotype of a bovine macrophage cell line. Eukaryot. Cell. 3 : 495—505.
- Sinai A. P. 2008. Biogenesis of and activities at the *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuole membrane. Subcell. Biochem. 47 : 155—164.
- Spencer J. A., Deinnocentes P., Moyana E. M., Guarino A. J., Ellison S. E., Bird R. C., Blagburn B. L. 2005. Cytokine gene expression in response to SnSAG1 in horses with equine protozoal myeloencephalitis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 12 : 644—646.
- Sternberg J. M., McGuigan F. 1994. *Trypanosoma brucei*: mammalian epidermal growth factor promotes the growth of the african trypanosome bloodstream form. Exp. Parasitol. 78 : 422—424.
- Sukhumavasi W., Egan C. E., Denkers E. Y. 2007. Mouse neutrophils require JNK2 MAPK for *Toxoplasma gondii*-induced IL-12p40 and CCL2/MCP-1 release. J. Immunol. 179 : 3570—3577.
- Suzuki Y., Orellana M. A., Schreiber R. D., Remington J. S. 1988. Interferon-gamma: the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. Science. 240 : 516—518.
- Talamas-Rohana P., Hernandez-Ramirez V. I., Perez-Garcia J. N., Ventura-Juarez J. 1998. *Entamoeba histolytica* contains a beta 1 integrin-like molecule similar to fibronectin receptors from eukaryotic cells. J. Eukaryot. Microbiol. 45 : 356—360.
- Taylor S., Barragan A., Su C., Fux B., Fentress S. J., Tang K., Beatty W. L., Hajj H. E., Jerome M., Behnke M. S., White M., Wootton J. C., Sibley L. D. 2006. A secreted serine-threonine kinase determines virulence in the eukaryotic pathogen *Toxoplasma gondii*. Science. 314 : 1776—1780.
- Tietz H. J., Montag T., Brose E., Widera P., Sokolowska-Kohler W., Mann W., Hiepe T. 1989. Interactions between *Sarcocystis gigantea* lectin and toxin-containing fractions in human lymphocyte cultures. Parasitol. Res. 76 : 32—35.
- Trager W. 1986. Living together: the biology of animal parasitism. New York: Plenum Press. 467 p.
- Van de Sand C., Horstmann S., Schmidt A., Sturm A., Bolte S., Krueger A., Lutgehetmann M., Pollok J. M., Libert C., Heussler V. T. 2005. The liver stage of *Plasmodium berghei* inhibits host cell apoptosis. Mol. Microbiol. 58 : 731—742.
- Vutova P., Wirth M., Hippe D., Gross U., Schulze-Osthoff K., Schmitz I., Luder C. G. 2007. *Toxoplasma gondii* inhibits Fas/CD95-triggered cell death by inducing aberrant processing and degradation of caspase 8. Cell Microbiol. 9 : 1556—1570.
- Wei S., Daniel B. J., Brumlik M. J., Burow M. E., Zou W., Khan I. A., Wadsworth S., Siekierka J., Curiel T. J. 2007. Drugs designed to inhibit human p38 mitogen-activated protein kinase activation treat *Toxoplasma gondii* and *Encephalitozoon cuniculi* infection. Antimicrob. Agents Chemother. 51 : 4324—4328.
- Welburn S. C., Dale C., Ellis D., Beecroft R., Pearson T. W. 1996. Apoptosis in procyclic *Trypanosoma brucei* in vitro. Cell Death Differ. 3 : 77—82.
- Wetzel D. M., Chen L. A., Ruiz F. A., Moreno S. N., Sibley L. D. 2004. Calcium-mediated protein secretion potentiates motility in *Toxoplasma gondii*. J. Cell Sci. 117 : 5739—5748.
- Wiese M. 1998. A mitogen-activated protein (MAP) kinase homologue of *Leishmania mexicana* is essential for parasite survival in the infected host. EMBO J. 17 : 2619—2628.
- Williams R. O., Dobbelaere D. A. 1993. The molecular basis of transformation of lymphocytes by *Theileria parva* infection. Semin. Cell Biol. 4 : 363—371.
- Witonsky S. G., Ellison S., Yang J., Gogal R. M., Lawler H., Suzuki Y., Sriranganathan N., Andrews F., Ward D., Lindsay D., S. 2008. Horses experimentally infected with *Sarcocystis neurona* develop altered immune responses in vitro. J. Parasitol. 94 : 1047—1054.
- Yang J., Ellison S., Gogal R., Norton H., Lindsay D. S., Andrews F., Ward D., Witonsky S. 2006. Immune response to *Sarcocystis neurona* infection in naturally infected horses with equine protozoal myeloencephalitis. Vet. Parasitol. 138 : 200—210.
- Yao R., Cooper G. M. 1995. Requirement for phosphatidylinositol-3 kinase in the prevention of apoptosis by nerve growth factor. Science. 267 : 2003—2006.
- Yoshida N., Favoreto S., Ferreira A. T., Mangué P. M. 2000. Signal transduction induced in *Trypanosoma cruzi* metacyclic trypomastigotes during the invasion of mammalian cells. Braz. J. Med. Biol. Res. 33 : 269—278.
- Zhang D., Howe D. K. 2008. Investigation of SnSPR1, a novel and abundant surface protein of *Sarcocystis neurona* merozoites. Vet. Parasitol. 152 : 210—219.

Поступила 24 II 2009

CHARACTERISTICS OF THE SIGNAL TRANSDUCTION IN PARASITIC LOWER EUKARYOTES

I. V. Shemarova

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, St. Petersburg;
e-mail: irina@lis.mail.iephb.ru

The review summarizes current data about pathways of the signal transduction in parasitic unicellular eukaryotes at the initial stage of the invasion and during their intracellular adaptation, growth and replication. The role of the factors that influence virulence of the unicellular parasites is reviewed. A special attention is paid to aspects of intracellular communications of the parasites and host cells.

Key words: parasitic protozoa, signaling, immunosuppression, intracellular parasitism.