

УДК 593.192.6:616.936

DOI <https://doi.org/10.32846/2306-9716-2019-1-24-1-22>

СУЧАСНІ БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ЗБУДНИКА ТРИДЕННОЇ МАЛЯРІЇ

Павліченко В.І.

Запорізький державний медичний університет
пр. Маяковського 26, 69000, м. Запоріжжя
pavlichenko.victor@gmail.com

У статті наведено дані глобальної захворюваності на *vivax*-малярію, її поширеність та можливу реінтродукцію в країнах, де вона була ліквідована. Аналіз сучасних генетичних, епідеміологічних та екологічних досліджень *Plasmodium vivax* пояснює його унікальні біологічні характеристики та взаємодію з хазяїном і вектором, що можна використати для розробки антималярійних вакцин. *Ключові слова*: *Plasmodium vivax*, *vivax*-малярія, геном, гіпнозоїт, рецидив, реінтродукція.

Современные биологические исследования возбудителя трехдневной малярии. Павличенко В.И. В статье приведены данные глобальной заболеваемости на *vivax*-малярию, ее распространение и возможную реинтродукцию в странах, где она была ликвидирована. Анализ современных генетических, эпидемиологических и экологических исследований *Plasmodium vivax* объясняет его уникальные биологические характеристики и взаимоотношения с хозяином и вектором, что можно использовать при разработке антималярийных вакцин. *Ключевые слова*: *Plasmodium vivax*, *vivax*-малярия, геном, гипнозоит, рецидив, реинтродукция.

Modern biological research of *Plasmodium vivax* malaria pathogen. Pavlichenko V. The article presents the global *vivax*-malaria incidence, its prevalence and possible reintroduction in countries where it was eliminated. The analysis of modern genetic, epidemiological and ecological studies of *Plasmodium vivax* explains its unique biological characteristics and interaction with the host and vector that can be used to develop anti-malaria vaccines. *Key words*: *Plasmodium vivax*, *vivax*-malaria, genome, hypnozoites, recurrence, reintroduction.

Постановка проблеми. Серед шести видів плазмодіїв, що викликають різні клінічні форми малярії людини, збудник триденної малярії (*Plasmodium vivax*), завдяки своїм унікальним біологічним характеристикам, займає найбільший ареал, на якому він безперервно адаптується до регіональних людських популяцій, місцевих видів та популяцій переносників і «тиску» антималярійних препаратів, становлячи загрозу реінтродукції в регіони помірних кліматичних зон [1–3].

Зважаючи на це, важливим є проведення аналізу сучасних молекулярно-генетичних, екологічних та біологічних досліджень взаємодії різних стадій розвитку плазмодії з хазяїном (людиною) та переносником (малярійним комаром).

Актуальність дослідження. В останньому Світовому звіті з малярії, який оприлюднила ВООЗ у листопаді 2018 р., констатовано 219 млн. випадків захворювання у 87 країнах та 435 000 випадків смертності [4]. Найбільший тягар смертності несе Африканський регіон, де захворюваність у 2017 р. становила 92%, а смертність – 93% з усіх випадків. Загалом, за одного рівня смертності у 2016 та

2017 рр. кількість випадків малярії у 2017 р. збільшилась на 2 млн. За даними ВООЗ, у 2017 р. на території Африки, Південно-Східної Азії, Східного Середземномор'я та західної частини Тихого океану домінував збудник тропічної малярії *P. falciparum* (62,8–99,7%), а в Південній та Центральній Америці – *P. vivax* (74,1%).

Проте у 2015 р. *P. vivax* у багатьох районах Азії, Океанії, у Південній та Центральній Америці спричинив близько 16 млн. випадків клінічної малярії, що становить приблизно 50% захворюваності поза межами Африки [4].

Як відомо, на 68-й сесії Всесвітньої Асамблеї охорони здоров'я було ухвалено Проект глобальної технічної стратегії з ліквідації малярії на 2016–2030 рр., де акцентовано розробку шляхів боротьби зі збудником *vivax*-малярії, який вивчений значно менше, ніж збудник *falciparum*-малярії, але здатний до відродження у країнах, звільнених від нього [1].

Так, Греція була гіперендемичною з малярії, але завдяки інтенсивним заходам, проведеним у 1946–1960 рр., ця хвороба була ліквідована і

в 1975 р. країна оголошена вільною від неї [3]. Але у 2006–2012 рр. в Грецію поступово прибували мігранти (близько 200 000) з індійського континенту, серед яких були хворі на малярію. Детальні дослідження 2009–2013 рр. виявили *vivax*-малярію у 139 мігрантів та 76 місцевих мешканців. Це свідчить про реінтродукцію в Греції триденної малярії.

Подібна ситуація склалася і в Південній Кореї, яка була оголошена вільною від малярії у 1979 р, а вже у 2000 р. в країні відбулося її відродження [3].

Наведені факти мають стати застереженням для країн, у яких була ліквідована *vivax*-малярія, зокрема країн зони помірного клімату (і для України), що у 19–20 столітті мала низку ендемічних осередків малярії з високим рівнем захворюваності та смертності.

Грунтовне ретроспективне дослідження захворюваності на малярію населення України у 1900–1945 рр. свідчить про те, що в країні епідемію викликав здебільшого *P. vivax* (95,1%), призводячи до 1 901,7 випадків захворюваності на 10 000 населення (1934 р.) та до 14,3% смертності (1944–1945 рр.) [5].

Наведені дані підкреслюють, що малярія все ще залишається глобальною проблемою людства.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

Вагомим доробком вітчизняних науковців, клініцистів та педагогів О.А. Голубовської, А.В. Шкурби, Л.А. Колос [6] та В.П. Малого [7] стали фундаментальні монографії з малярії, в яких автори всебічно висвітлюють медичні аспекти хвороби.

Заслуговує на увагу також медико-біологічне дослідження А.М. Бондаренко [5] щодо аналізу, розповсюдження і патогенезу в Україні *vivax*-малярії до її ліквідації та загрози її відродження.

Огляд популяційно-генетичних та еколого-фауністичних досліджень малярійних комарів Європи і України, створений В.І. Павліченко, О.Б. Приходько, Т.І. Ємець і Г.Ю. Малєєвою [8], показав, що для зниження ризику реінтродукції триденної малярії необхідно запровадити регіональний моніторинг переносників її збудників.

Наразі без сучасних генетичних, епідеміологічних та екологічних досліджень збудника, хазяїна та переносника, контролювати малярію, особливо малярію-*vivax* (а тим паче ліквідувати її) навряд чи можливо.

Саме на цих питаннях ми зосереджуємо свій аналіз у цій роботі.

Виклад основного матеріалу. Суттєві генетичні дослідження збудників малярії, насамперед *P. falciparum*, було опубліковано у 2003 р. в 4 випуску «PlasmoDB» – інтегрованої бази даних генома *Plasmodium* [9]. У ньому було анотовано гени всіх 14 хромосом *P. falciparum*: 9 хромосом секвенували в Інституті Сенгера (США), 4 – в Інституті геномних досліджень (США) та 1 – в Стенфордському геномному центрі (США). Зауважимо, що в останньому 41 випуску «PlasmoDB» від 13 грудня 2018 р.

анотовано геноми, зокрема *P. falciparum*, із 15 ізолятів. Водночас вивчались геноми інших плазмодіїв, але головна увага та грантова підтримка завжди приділялись збуднику тропічної малярії.

Секвенування та попередні характеристики генома («забутого та нехтуваного» *P. Vivax*) показали, що 77% генів із 5 500 є ортологічними з іншими плазмодіями, але вони мають екстремальні відмінності у розташуванні низки нуклеотидів [10]. Так, уміст G+C у хромосомах *P. vivax* становить близько 42,3%, а у *P. falciparum* – 19,4%. Також встановлено наявність 10-ти поверхневих білків у мерозоїта, які забезпечують інвазування еритроцитів людини, ідентифіковано 346 генів VIR, здатних генерувати безліч антигенних варіацій, змінюючи фенотип збудника та ухиляючись від імунної відповіді хазяїна, підтверджено участь апікопласта у біосинтезі рослинноподібних ліпідів і жирних кислот, вплив на які може бути перспективним у боротьбі з малярією [10; 11].

Подальші дослідження з'ясували, що для *P. vivax* характерні значні регіональні відмінності фенотипів: тривалість бімодальних стадій розвитку в гепатоцитах, резистентність до лікарських засобів та ступінь тяжкості захворювання, що спонукало до створення високоякісного, на думку авторів, еталонного геному PvPO1 [12]. Проте чи може існувати такий геном у природі, коли збудник на такому великому ареалі має постійно пристосовуватись до різних генотипів/фенотипів людей, різних генотипів/фенотипів переносників, різних кліматичних умов? [13].

Як відомо, для життєвого циклу малярійних плазмодіїв характерні три інвазивні стадії: спорозоїт і тканинний мерозоїт, що проникають у гепатоцити та еритроцити людини, та ооциста – в епітеліальні клітини шлунку малярійного комара. Кожній стадії властивий певний комплекс антигенів та молекулярних механізмів, необхідних для вторгнення у клітини-хазяїна та виходу з них, установлення яких може забезпечити розробку антималярійних вакцин, моніторинг, профілактику та ліквідацію цієї хвороби [1].

Для *P. vivax*, на відміну від *P. falciparum*, розвиток спорозоїтів у гепатоцитах людини можна розділити на тахизоїти, які негайно розвиваються в тканинні шизонти, і брадиспорозоїти, що перетворюються на гіпнозоїти, розвиток яких у південних широтах відбувається протягом тижнів, а в помірних зонах, зокрема в Україні, протягом років, доки активація не призведе до рецидиву. Доведено, що у Південно-Східній Азії та західній частині Тихого океану близько 80–90% випадків захворювання на малярію викликано саме рецидивами [14].

Подібна картина спостерігається і в перуанській Амазонці, де більшість паразитемії є результатом рецидивів, що виникають через кожні 3–10 тижнів [15]. Така безсимптомна паразитемія підтримує передання збудника триденної малярії у значно більших масштабах, ніж це вважається, отож, коли загальний рівень захворюваності на малярію змен-

шується, то частка випадків, пов'язаних із *P. vivax*, зростає [16; 17]. Щоб запобігти цьому, необхідною є розробка вакцин, орієнтованих на різні етапи життєвого циклу, насамперед екзоеритроцитарних видових вакцин, які успішно блокуватимуть інвазію гепатоцитів спорозоїтами. Наразі в стані розробки продукту на вакцини з блокування спорозоїтів тестуються 14 кандидатів, в еритроцитарному проекті – 15 та ще 2 для гальмування гаметоцитогенезу збудника, причому в цих проектах тільки 1 кандидат на вакцину проти збудника *vivax*-малярії, інші – проти *P. falciparum* [18].

Із метою вивчення гіпнозоїтів створено химерну модель миші, яка не мала імунокомпетентних клітин та у печінку якої трансплантували гепатоцити людини [19]. Установлено, що розвиток спорозоїтів до тканинних мерозоїтів відбувається суто в гепатоцитах людини за 9–10 днів, а латентні стадії, гіпнозоїти завжди були менших розмірів та складала на 5–7 день інвазії 40% від загальної кількості паразитів печінки і зберігались у межах експерименту до 21-го дня. Застосування примахіну повністю знищувало всі стадії розвитку збудника, а дія атоваквону впливала лише на спорозоїти та мерозоїти. Таким чином, химерних мишей можна використовувати як модель рецидивувальної малярійної інвазії та платформи для тестування антималярійних препаратів нового покоління [19].

Отримано молекулярно-генетичні дані щодо надшвидкого розвитку гаметоцитів *P. vivax*, які показують, що вже після першого еритроцитарного циклу збудника починається гаметоцитогенез, але мерозоїти інвазують лише ретикулоцити, які складають близько 1% еритроцитів, що призводить до низької паразитемії у периферичному кровообігу та безсимптомному перебігу хвороби [17]. Такі носії збудника не звертаються за медичною допомогою і можуть довго сприяти його передачі до переносника.

Дослідження населення в ендемічних районах Колумбії, де *P. vivax* реєструється від 77,2% до 94,8% випадків, виявило 56% безсимптомних носіїв, що були інвазивними для лабораторних комарів *Anopheles albimanus* [20]. У таких пацієнтів за допомогою світлової мікроскопії збудники не діагностувались. Такі результати підтверджують думку, що стратегію боротьби з *vivax*-малярією також слід спрямувати на безсимптомні інвазії.

У Перу та інших регіонах Амазонії *P. vivax* відповідає за 80% малярійних інвазій [20]. Тут

домінуючим вектором передачі збудника є *Anopheles darlingi*, який може інвазуватися від 9% до 42% його носіїв.

У цьому ж регіоні інша група дослідників [21] вивчала продукцію спорозоїтів колонізованими комарами *A. darlingi*, яких годували кров'ю пацієнтів хворих на *vivax*-малярію. Розчленування більше 52 000 особин дозволило встановити наявність великої кількості спорозоїтів на одного комара у діапазоні від 57 до 98 6000.

Велика спільнота науковців проводить також протеомні дослідження, але дотепер експериментально відомими є близько 50 структур (1%) *P. vivax*, які можуть бути використані для розробки нових лікарських засобів, тому дослідники з Оксфорда створили комплексне структурне сховище «PvaxDB», де пропонується збирати та аналізувати протеом збудника триденної малярії, що дозволить вивчити безліч його біологічних функцій [22] і зрозуміти його іноді важкі клінічні наслідки. Про це відомо було ще 30 років тому, коли було затверджено Міжнародну класифікація хвороб 10-го перегляду, де окремо виділено нозоформу B51.0 – «Малярію, спричинену *Plasmodium vivax*, ускладнену розривом селезінки». Варто зазначити, що високий ризик цього ушкодження мають пацієнти з низьким імунітетом до малярії, а в населення України такий імунітет відсутній.

Важкі наслідки *vivax*-малярії детально описують у своєму огляді дослідники з Бразилії [23].

Головні висновки. Унікальні біологічні особливості збудника триденної малярії забезпечують його домінуюче поширення на території Південної та Центральної Америки і в Азійсько-Тихоокеанському регіоні, пристосованість до широкого спектра векторних видів, здатність генерувати безліч антигенних варіацій та ухилятися від імунної відповіді хазяїна, тривалість біомодальних стадій розвитку в гепатоцитах та резистентність до лікарських засобів.

Незважаючи на слабку грантову підтримку, дослідницька спільнота з вивчення геномів *Plasmodium* створила інтегровану базу даних «PlasmoDB» та комплексне структурне сховище з вивчення протеомів «PvaxDB», які можуть бути використані для розроблення нових лікарських засобів.

Значні міграції населення призводять до реінтродукції триденної малярії в країнах, звільнених від неї, а для того, щоб запобігти цьому, необхідно запровадити регіональний ентомологічний моніторинг, виявлення та лікування хворих.

Література

1. World Health Organization: World malaria report. 2015.
2. Howes R.E. et al. Global Epidemiology of *Plasmodium vivax*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2016. Dec 28.95(6 Suppl):15–34. DOI: 10.4269/ajtmh.16–0141. Epub 2016 Jul 11.
3. Spanakos G., Snounou G., Pervanidou D., Alifrangis M., Rosanas-Urgell A., Baka A., et al. Genetic spatiotemporal anatomy of *Plasmodium vivax* malaria episodes in Greece, 2009–2013. *Emerging Infectious Diseases*. 2018. Mar. 24. (3): 541–548. DOI: 10.3201/eid2403.170605
4. World Health Organization: World malaria report. 2018.
5. Бондаренко А.М. Можливість формування ендемічних зон тропічних хвороб – реальна загроза екобезпеці України. *Інфекційні хвороби*. 2010. № 2. С. 88–100.
6. Голубовская О.А., Шкурба А.В., Колос Л.А. Малярия: монография. Киев, 2015. 288 с.
7. Малый В.П. Малярия – диагностика, лечение, профилактика: монография. Харьков, 2015. 324 с.
8. Павліченко В.І., Приходько О.Б., Ємець Т.І., Малеева Г.Ю. Біологічні аспекти малярії: переносники. *Питання біоіндикації та екології*. 2017. Вип. 22. № 2. С. 130–143.
9. Bahl A., Brunk B., Crabtree J. et al. PlasmoDB: the *Plasmodium* genome resource. A database integrating experimental and computational data. *Nucleic Acids Research*. 2003 Jan 1; 31(1): 212–215. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC165528/citedby/>.
10. Carlton J.M., Adams J.H., Silva J.C., Bidwell S.L., Lorenzi H., Caler E. et al. Comparative genomics of the neglected human malaria parasite *Plasmodium vivax*. *Nature*. 2008. 455. 757–763. doi: 10.1038/nature07327.
11. Carlton J.M., Sina B.J., Adams J.H. Why Is *Plasmodium vivax* a Neglected Tropical Disease? *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2011. 5(6): e1160. doi:10.1371/journal.pntd.0001160.
12. Auburn S., Böhme U., Steinbiss S. et al. A new *Plasmodium vivax* reference sequence with improved assembly of the subtelomeres reveals an abundance of *pir* genes [version 1; referees: 2 approved]. *Wellcome Open Research*. 2016. 1:4 Last updated: 11 JAN 2017. 12 p. doi: 10.12688/wellcomeopenres.9876.1/.
13. Carlton J.M., Sullivan S.A. A Feast of Malaria Parasite Genomes. *Cell Host & Microbe*. 2017. 21. March 8. 310–312. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2017.02.019>.
14. White M., Amino R., Mueller I. Theoretical Implications of a Pre-Erythrocytic *Plasmodium vivax* Vaccine for Preventing Relapses. *Trends in Parasitology*. 2017. Volume 33, Issue 4. Pages 260–263. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.12.011>.
15. Carrasco-Escobar G., Gamboa D., Castro M.C., et al. Micro-epidemiology and spatial heterogeneity of *P. vivax* parasitaemia in riverine communities of the Peruvian Amazon: A multilevel analysis. *Scientific Reports*. 2017. 7: 80–82. doi: 10.1038/s41598-017-07818-0.
16. Adapa S.R., Taylor R. A., Wang C. et al., *Plasmodium vivax* readiness to transmit: implication for malaria eradication. *BMC Systems Biology*. 2019. 13:5. 12 p. <https://doi.org/10.1186/s12918-018-0669-4>.
17. Birkett A.J. Status of vaccine research and development of vaccines for malaria. *Vaccine*. 2016. 34 (26): 2915–2920. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.12.074>.
18. Mikolajczak S.A., Vaughan A.M., Kangwanrangsan N., Roobsoong W., Fishbaugher M., Yimamnuaychok N., et al. *Plasmodium vivax* liver stage development and hypnozoite persistence in human liver-chimeric mice. *Cell Host Microbe*. 2015. 17(4): 526–535. doi:10.1016/j.chom.2015.02.011.
19. Vallejo A.F. et al. *Plasmodium vivax* gametocyte infectivity in sub-microscopic infections. *Malaria Journal*. 2016.15:48. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1104-1>.
20. Rovira-Vallbona E, Contreras-Mancilla JJ, Ramirez R, Guzmán-Guzmán M, Carrasco-Escobar G, Llanos-Cuentas A, et al. Predominance of asymptomatic and sub-microscopic infections characterizes the *Plasmodium* gametocyte reservoir in the Peruvian Amazon. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2017. 11(7):18p. e0005674. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005674>.
21. Moreno M., Tong-Rios C., Orjuela-Sanchez P., Carrasco-Escobar G. et al. Continuous Supply of *Plasmodium vivax* Sporozoites from Colonized *Anopheles darlingi* in the Peruvian Amazon. *ACS Infectious Diseases*. 2018. Apr 13;4(4):541–548. doi: 10.1021/acinfeddis.7b00195.
22. Singh A., Kaushik R., Kuntal H., Jayaram B. PvaxDB: a comprehensive structural repository of *Plasmodium vivax* proteome. Database. Volume 2018. 1 January 2018. bay021, <https://doi.org/10.1093/database/bay021>.
23. Elizalde-Torrent A., Val F., Azevedo I.C.C., et al. Sudden spleen rupture in a *Plasmodium vivax*-infected patient undergoing malaria treatment. *Malaria Journal*. 2018. 17: 79. Published online 2018 Feb 13. doi:10.1186/s12936-018-2228-2.