

Занятие 4

Классификация, морфология и ультраструктура грибов, простейших и вирусов.

План занятия:

1. Особенности строения эукариотических клеток
2. Морфология, ультраструктура грибов.
3. Мицелиальные, дрожжевые, дрожжеподобные, диморфные грибы.
4. Высшие и низшие грибы.
5. Особенности размножения грибов: половое и бесполое размножение.
6. Совершенные и несовершенные грибы.
7. Классификация грибов, патогенные для человека виды
8. Патогенные грибы *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota* и *Deuteromycota*.
9. Методы изучения морфологии грибов.
10. Ультраструктура и морфология простейших.
11. Классификация простейших: подцарство *Protozoa*.
12. Патогенные для человека типы *Sarcomastigophora*, *Apicomplexa*, *Ciliophora*, *Microspora*.
13. Методы изучения морфологии простейших.
14. Техника окраски по Гимзе и механизм ее дифференциальной окраски.
15. Особенности вирусов, их отличие от других микроорганизмов.
16. Морфология вирусов.
17. Строение вириона: нуклеиновые кислоты, капсид, типы симметрий вирусного капсида, суперкапсид.
18. Современные принципы классификации вирусов.
19. ДНК- и РНК-содержащие вирусы, патогенные для человека вирусы
20. Информация о прионах и вириодах

Строение и классификация грибов

Грибы — многоклеточные или одноклеточные нефотосинтезирующие (бесхлорофильные) эукариотические микроорганизмы с толстой клеточной стенкой. Они относятся к домену Eukarya царству Eumycota. Ранее грибы относили к царству Fungi (Mycota, Mycetes). Грибы имеют ядро с ядерной оболочкой, цитоплазму с органеллами, цитоплазматическую мембрану и многослойную, ригидную клеточную стенку, состоящую из нескольких типов полисахаридов (маннано, глюканов, целлюлозы, хитина), а также белка, липидов и др. Некоторые грибы образуют капсулу. Цитоплазматическая мембрана содержит гликопротеины, фосфолипиды и эргостеролы (в отличие от холестерина — главного стерола тканей млекопитающих).

Грибы широко распространены в природе, особенно в почве. Различают два основных типа грибов: гифальный и дрожжевой.

Гифальные (плесневые) грибы образуют ветвящиеся тонкие нити (гифы), сплетающиеся в грибницу, или мицелий (плесень). Толщина гифов колеблется

от 2 до 100 мкм. Гифы, врастающие в питательный субстрат, называются вегетативными гифами (отвечают за питание гриба), а растущие над поверхностью

субстрата — воздушными или репродуктивными гифами (отвечают за бесполое размножение). Гифы низших грибов не имеют перегородок. Они представлены многоядерными клетками и называются ценоцитными (от греч. *koinos* — единый, общий). Гифы высших грибов разделены перегородками, или септами, с отверстиями.

Дрожжевые грибы (дрожжи) в основном имеют вид отдельных овальных клеток. Дрожжи — одноклеточные грибы. Они имеют половое и бесполое размножение. При бесполом размножении дрожжи образуют почки или делятся, что приводит к одноклеточному росту. Могут образовывать псевдогифы и ложный мицелий (псевдомицелий), состоящие из цепочек удлиненных клеток в виде «сарделек». Грибы, аналогичные дрожжам, но не имеющие полового способа размножения, называют **дрожжеподобными**. Они размножаются только бесполом способом — почкованием или делением.

Многие грибы характеризуются диморфизмом — способностью к гифальному (мицелиальному) или дрожжеподобному росту в зависимости от условий культивирования. Например, в инфицированном организме они растут в виде дрожжеподобных клеток (дрожжевая фаза), а на питательных средах образуют гифы и мицелий. Такая реакция связана с температурным фактором: при комнатной температуре образуется мицелий, а при 37°C (при температуре тела человека) — дрожжеподобные клетки.

Размножение грибов происходит половым и бесполом (вегетативным) способами. Половое размножение грибов происходит с образованием гамет, половых спор и других половых форм. Половые формы называются **телеоморфами**. Бесполое размножение грибов происходит с образованием соответствующих форм, называемых **анаморфами**. Такое размножение происходит почкованием, фрагментацией гифов и бесполом спорами.

Эндогенные споры (спорангиоспоры) созревают внутри округлой структуры — спорангия. Экзогенные споры (конидии) формируются на кончиках плодоносящих гифов, так называемых «конидиеносцах».

Основные типы конидий — **артроконидии** (артроспоры) — образуются путем равномерного септирования и расчленения гифов; **бластоконидии** образуются в результате почкования. Одноклеточные небольшие конидии называются микроконидиями. Многоклеточные большие конидии — макроконидиями. К бесполом формам грибов относят также хламидоконидии, или хламидоспоры (толстостенные крупные покоящиеся клетки или комплекс мелких клеток), и склероции (твердая масса клеток с оболочкой) — покоящиеся органы грибов, способствующие их выживанию в неблагоприятных условиях. Царство настоящих грибов Eumycota включает четыре типа грибов, имеющих медицинское значение:

зигомицеты (Zygomycota), аскомицеты (Ascomycota), базидиомицеты (Basidiomycota), дейтеромицеты (Deiteromycota — формальный условный тип/группа грибов). Различают совершенные и несовершенные грибы. Совершенные грибы имеют половой способ размножения; к ним относят

зигомицеты, аскомицеты и базидиомицеты. Несовершенные грибы имеют только бесполой способ размножения; к ним относят дейтеромицеты.

Зигомицеты относятся к низшим грибам. Они включают виды родов *Mucor*, *Rhizopus* и др. Распространены в почве, воздухе и способны вызывать зигомикоз (мукомикоз) легких, головного мозга и других органов человека и животных. Половое размножение у зигомицетов осуществляется путем образования зигоспор. При бесполом размножении этих грибов на плодоносящей гифе, спорангиеносце, образуется спорангий с многочисленными спорангиоспорами. Недавно к зигомицетам отнесли микроспоридии — условно-патогенные грибы класса *Microsporidia*. Это многочисленные виды маленьких облигатных внутриклеточных паразитов, вызывающих у ослабленных людей диарею и поражения различных органов. Они имеют особые споры с инфекционным материалом — спороплазмой.

Аскомицеты (сумчатые грибы) имеют септированный мицелий (за исключением одноклеточных дрожжей). Свое название они получили от основного органа плодоношения — сумки, или аска, содержащего 4 или 8 гаплоидных половых спор (аскоспор). К аскомицетам относятся отдельные представители (телеоморфы) родов *Aspergillus*, *Penicillium* и др. Большинство грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium* являются анаморфами, т.е. размножаются только бесполом путем, и должны быть отнесены по этому признаку к несовершенным грибам. У грибов рода *Aspergillus* (леечная плесень) на концах плодоносящих гифов, конидиеносцах, имеются утолщения — стеригмы, фиалиды, на которых образуются цепочки спор — конидии. Плодоносящая гифа у грибов рода *Penicillium* (кистевик) напоминает кисточку, так как из нее (на конидиеносце) образуются утолщения, разветвляющиеся на более мелкие структуры — стеригмы, фиалиды, на которых находятся цепочки конидий. Представителями аскомицетов являются также дрожжи — одноклеточные грибы, утратившие способность к образованию истинного мицелия. Дрожжи размножаются почкованием, бинарным делением (делятся на две равные клетки) или половым путем с образованием аскоспор. Многие виды аскомицетов являются

продуцентами антибиотиков, используются в биотехнологии.

Базидиомицеты — шляпочные съедобные и ядовитые грибы с септированным мицелием. Они образуют половые споры — базидиоспоры путем отшнуровывания от базидия — концевой клетки мицелия, гомологичной аску.

Дейтеромицеты (несовершенные грибы, *Fungi imperfecti*, анаморфные грибы) являются формальным типом грибов, который объединяет грибы, не имеющие полового способа размножения. Дейтеромицеты образуют септированный мицелий, размножаются только бесполом путем, а именно в результате формирования неполовых спор (конидий). К дейтеромицетам относятся несовершенные дрожжи (дрожжеподобные грибы), например некоторые грибы рода *Candida*, поражающие кожу, слизистые оболочки и внутренние органы (кандидоз). Они имеют овальную форму, делятся почкованием, образуют псевдогифы (псевдомицелий) в виде цепочек из удлинённых клеток и септированные гифы. Эти грибы называются дрожжеподобными в отличие от истинных дрожжей, которые относятся к аскомицетам, образующим аскоспоры.

Строение и классификация простейших

Простейшие — эукариотические одноклеточные микроорганизмы, составляющие царство Protozoa (от греч. *protos* — первый, *zoon* — животное) в домене Eukarya. Недавно выделено новое царство — Chromista (хромовики), в которое вошли некоторые простейшие и грибы (бластоцисты, оомицеты, *Rhinosporidium seeberi* и др.).

Простейшие имеют ядро с ядерной оболочкой и ядрышком, их цитоплазма состоит из эндоплазматического ретикулума, митохондрий, лизосом, многочисленных рибосом и др.

Размеры простейших колеблются от 2 до 100 мкм. Снаружи они окружены мембраной (пелликулой) — аналогом цитоплазматической мембраны клеток животных.

Простейшие имеют органы движения (жгутики, реснички, псевдоподии), питания (пищеварительные вакуоли) и выделения (сократительные вакуоли). Жгутики отходят от блефаропласта состоят из 9 пар периферических, 2 пар центральных микротрубочек и оболочки. У некоторых простейших есть опорные фибриллы. Питание простейших происходит путем фагоцитоза или образования особых структур, а размножение — бесполым путем (двойное деление или множественное деление — шизогония) или половым путем (спорогония). При неблагоприятных условиях многие из них образуют цисты — покоящиеся стадии, устойчивые к изменению температуры, влажности и др. При окраске по Романовскому–Гимзе ядро простейших имеет красный, а цитоплазма — синий цвет.

Царство *Protozoa* включает амёбы, жгутиконосцы, споровики и реснитчатые.

Амёбы представлены *Entamoeba histolytica* — возбудителем амёбиаза человека (амёбной дизентерии), а также свободно живущими и непатогенными амёбами (кишечной амёбой и др.). Они размножаются бесполым путем (бинарно). Жизненный цикл амёб состоит из двух стадий: трофозои́та (растущая, подвижная клетка, малоустойчивая) и цисты. Трофозоиты передвигаются путем образования псевдоподий, с помощью которых происходят захват и погружение в цитоплазму клеток питательных веществ. Из трофозои́та образуется циста, устойчивая к внешним факторам. Циста, попадая в кишечник, превращается в трофозоит.

Жгутиконосцы включают жгутиконосцев крови и других тканей: — жгутиконосцы крови и тканей (лейшмании, трипаномы, жгутиконосцы кишечника (лямблия); жгутиконосцы мочеполового тракта (трихомонада влагалищная). Эти простейшие характеризуются наличием жгутиков, например у лейшманий — один жгутик, у трихомонад — четыре свободных жгутика и один жгутик, соединенный с короткой ундулирующей мембраной.

Споровики представлены кровяными, кишечными и тканевыми паразитами: — к кровяным паразитам относятся плазмодии малярии и бабезии — возбудители пироплазмоза;

— к кишечным и тканевым паразитам относятся токсоплазма, криптоспоридии, саркоцисты, изоспоры, циклоспоры. Паразиты имеют апикальный комплекс, который позволяет им проникнуть в клетку хозяина для последующего паразитизма.

Каждый из этих простейших имеет сложное строение и свои особенности жизненного цикла. Так, например, жизненный цикл возбудителя малярии характеризуется чередованием полового размножения (в организме комаров *Anopheles*) и бесполого (в клетках печени и эритроцитах человека, где они размножаются множественным делением).

Реснитчатые представлены балантидиями, которые поражают толстую кишку человека (балантидиазная дизентерия). Балантидии имеют стадию трофозои́та и цисты. Трофозоит подвижен, обладает многочисленными ресничками, более тонкими и короткими, чем жгутики.

Особенности, строение и классификация вирусов
Вирусы относятся к царству Vira (от лат. *virus* — яд). Это мельчайшие микробы («фильтрующиеся агенты»), не имеющие клеточного строения, белоксинтезирующей системы, содержащие один тип нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК).

Вирусы как облигатные внутриклеточные паразиты размножаются в цитоплазме или ядре клетки. Они являются автономными генетическими структурами и отличаются особым, разобщенным (дизъюнктивным) способом размножения (репродукции): в клетке отдельно синтезируются нуклеиновые кислоты вирусов и их белки, затем происходит их сборка в вирусные частицы. Сформированная вирусная частица называется вирионом. Морфологию и структуру вирусов изучают с помощью электронной микроскопии, так как их размеры малы и сравнимы с толщиной оболочки бактерий. Форма вирионов может быть палочковидной (вирус табачной мозаики), пулевидной (вирус бешенства), сферической (вирусы полиомиелита, ВИЧ), нитевидной (филовирусы), в виде сперматозоида (многие бактериофаги). Размеры вирусов определяют с помощью электронной микроскопии, методом ультрафильтрации через фильтры с известным диаметром пор, методом ультрацентрифугирования. Наиболее мелкие — парвовирусы (18 нм) и вирус полиомиелита (около 20 нм), наиболее крупный — вирус натуральной оспы (около 350 нм).

Различают ДНК- и РНК-содержащие вирусы. Они обычно гаплоидны, т.е. имеют один набор генов. Исключением являются ретровирусы, имеющие диплоидный геном. Геном вирусов содержит от шести до нескольких сотен генов и представлен различными видами нуклеиновых кислот: двунитевыми, одонитевыми, линейными, кольцевыми, фрагментированными. Среди одонитевых РНК-содержащих вирусов различают вирусы с (+) нитью РНК и (-) нитью РНК (полярность РНК). (+) нить РНК (позитивная нить) выполняет наследственную (геномную) функцию и функцию матричной, или информационной РНК (иРНК), являясь матрицей для белкового синтеза на рибосомах инфицированной клетки. (+) нить РНК является инфекционной: при введении в чувствительные клетки она способна вызвать инфекционный процесс. (-)-нить (негативная нить) выполняет только наследственную функцию; для синтеза белка на минус-нити РНК синтезируется комплементарная ей нить. У некоторых вирусов РНК-геном является амбиполярным, т.е. содержит плюс- и минус-сегменты РНК. Геном вирусов способен включаться в геном клетки в виде провируса, проявляя себя

генетическим паразитом клетки. Нуклеиновые кислоты некоторых вирусов, например герпеса, могут находиться в цитоплазме инфицированных клеток, напоминая плазмиды.

Различают **простые** (например, вирусы полиомиелита, гепатита А) и **сложные** вирусы (например, вирусы кори, гриппа, герпеса, коронавирусы). Простые, или безоболочечные, вирусы имеют только нуклеиновую кислоту, связанную с белковой структурой, называемой капсидом (от лат. capsula — футляр). Протеины, связанные с нуклеиновой кислотой, известны как нуклеопротеины, а ассоциация вирусных протеинов капсида вируса с вирусной нуклеиновой кислотой названа нуклеокапсидом. Капсид включает повторяющиеся морфологические субъединицы — капсомеры, скомпонованные из нескольких полипептидов. Капсид защищает нуклеиновую кислоту от деградации. У простых вирусов капсид участвует в прикреплении (адсорбции) к клетке хозяина. Простые вирусы выходят из клетки в результате ее разрушения (лизиса). Сложные, или оболочечные, вирусы кроме капсида имеют мембранную двойную липопротеиновую оболочку (суперкапсид, или пеплос), которая приобретается путем почкования вириона через мембрану клетки, например через плазматическую мембрану, мембрану ядра или эндоплазматического ретикула. На оболочке вируса расположены гликопротеиновые «шипы», или пепломеры. Разрушение оболочки эфиром и другими

растворителями инактивирует сложные вирусы. Под оболочкой некоторых вирусов находится матриксный белок (М-белок).

Таким образом, простые вирусы состоят из нуклеиновой кислоты и капсида, а сложные — из нуклеиновой кислоты, капсида и липопротеиновой оболочки. Вирионы имеют *спиральный*, *икосаэдрический (кубический)* или *сложный* тип симметрии капсида (нуклеокапсида). Спиральный тип симметрии обусловлен винтообразной структурой нуклеокапсида (например, у вирусов гриппа, коронавирусов). Икосаэдрический тип симметрии обусловлен образованием изометрически полого тела из капсида, содержащего вирусную нуклеиновую кислоту (например, у вируса герпеса).

Капсид и оболочка (суперкапсид) защищают вирионы от воздействия окружающей среды, обуславливают избирательное взаимодействие (адсорбцию) с определенными клетками, а также антигенные и иммуногенные свойства вирионов.

Внутренние структуры вирусов называют сердцевиной. У аденовирусов сердцевина состоит из гистоноподобных белков, связанных с ДНК, у реовирусов — из белков внутреннего капсида.

Вирусы имеют структурные и неструктурные белки. Неструктурные белки участвуют в репродукции вирусов, а структурные белки обуславливают строение вирусов. Кроме вирусоспецифических белков, вирусы, репродуцируясь в клетке хозяина, захватывают клеточные белки. Липиды и полисахариды имеют в своем составе сложные вирусы.

Классификация вирусов. Вирусы классифицируют по типу нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК), количеству и свойствам ее нитей: двунитевые или однонитевые нуклеиновые кислоты; позитивная (+), негативная (–) полярность

нуклеиновой кислоты или смешанная полярность нуклеиновой кислоты — амбиполярная; линейная или циркулярная нуклеиновая кислота; фрагментированная или нефрагментированная нуклеиновая кислота. Учитывают также размер и морфологию вирионов, количество капсомеров и тип симметрии нуклеокапсида, наличие оболочки (суперкапсида), чувствительность к эфиру и дезоксихолату, место размножения в клетке, антигенные свойства и др.

Лауреат Нобелевской премии Д. Балтимор предложил систему Балтиморской классификации из семи групп вирусов (табл. 2.5), основанную на механизме синтеза иРНК. В классификации вирусов используют такие таксономические категории, как семейство (название оканчивается на *-viridae*), подсемейство (название оканчивается на *-virinae*), род (название оканчивается на *-virus*). Вид вируса не получил биномиального названия, как у бактерий.

Вирусы поражают позвоночных и беспозвоночных животных, а также бактерии и растения. Являясь основными возбудителями инфекционных заболеваний человека, они также участвуют в процессах канцерогенеза, могут передаваться различными путями, в том числе через плаценту (вирусы краснухи, цитомегалии и др.), поражая плод человека. Они могут приводить и к постинфекционным осложнениям — развитию миокардитов, панкреатитов, иммунодефицитов и др.