

ные изоферменты цитохрома (СYP) человека. Их получают путем клонирования кДНК генов СYP человека и трансфекции с использованием бакуловируса в клетки насекомых в культуре или клонирования в бактерии [7].

Для оценки окисления фазы I метаболизирующим материалом чаще всего являются микросомы печени. Они содержат ферменты, которые связаны с мембраной эндоплазматического ретикулума в клетках. Микросомы печени содержат СYP и другие метаболизирующие ферменты, которые являются главными ферментами фазы I и играют немаловажную роль в клиренсе лекарств.

Для совокупного анализа стабильности веществ в реакциях I и II фаз метаболизма используют фракцию печени S9 – надосадочную жидкость, полученную центрифугированием гомогената печени. Преимущество данного препарата заключается в том, что в своем составе он содержит также микросомальные ферменты, такие как сульфотрансфераза, алкогольдегидрогеназа и N-ацетилтрансфераза. Это особенно полезно для соединений, имеющих группы, которые склонны к метаболическим реакциям, катализируемым данными ферментами [8].

При охвате более широкого диапазона метаболизирующих ферментов для оценки микросомальных и экстрамикросомальных (например, цитозольных, митохондриальных) метаболических реакций используют гепатоциты. Эти клетки печени содержат совокупность всех метаболизирующих ферментов. Однако они значительно дороже вышеперечисленных методов. К тому же гепатоциты следует использовать в течение нескольких часов, после этого их активность уменьшится [9].

Перспективным альтернативным методом подобных исследований, лишенным вышеозначенных недостатков, является представление животной клетки как единой биологической системы посредством стехиометрической модели метаболической сети клетки *in silico*. На сегодня уже созданы для применения модели метаболизма различных клеток, в том числе и гепатоцитов [10, с. 86-94].

Заключение

Исследования механизмов биотрансформации используются для раскрытия токсического действия веществ, совершенствования методов диагностики, профилактики и лечения развивающихся вследствие такого воздействия заболеваний.

Так как в настоящее время известны ферментативные реакции превращения большинства классов органических соединений, то принципы метаболизма ксенобиотиков и ферменты, принимающие участие в этих процессах, с успехом используются для синтеза органических веществ.

Таким образом, особенно актуален систематический анализ процессов метаболизма различных ксенобиотиков в филогенетическом и онтогенетическом аспектах и метаболизма лекарственных веществ в органах и тканях человека и животных.

Список литературы

1. Вергейчик Т.Х. Токсикологическая химия: учеб. / Т.Х. Вергейчик. В 31. М., 2013. 432 с.
2. Граник В.Г. Биотрансформация лекарственных препаратов, принадлежащих к ряду азотсодержащих гетероциклов – Известия Академии наук. Серия химическая. 2010. № 1.
3. Kumar G.N., Surapaneni S. Role of drug metabolism in drug discovery and development. *Med Res Rev.* 2001 Sep;21(5):397-411. DOI: 10.1002/med.1016.
4. Рембовский В.Р., Могиленкова Л.А. Процессы детоксикации при воздействии химических веществ на организм. СПб.: Изд-во Политехнического у-та, 2017. 384 с.
5. Curtis D. Klaassen; John B. Watkins – Casarett & Doull's Essentials of Toxicology, Third Edition – McGraw-Hill Education, 2015.
6. Фармацевтическая биохимия: Учебно-методическое пособие для студентов, обучающихся по специальности «Фармация»/ составители: Ю.Н. Боринский, Д.В. Лещенко. Тверь: ТГМА, 2015. 98 с.
7. Efficiency in drug discovery: liver s9 fraction assay as a screen for metabolic stability / Samantha J. Richardson, April Bai, Ashutosh A. Kulkarni and Mehran F. Moghaddam // *J. Drug Metabolism Letters.* 2016. Vol. 10, iss. 2. DOI: 10.2174/1872312810666160223121836.
8. Metabolic hydrolysis of aromatic amides in selected rat, minipig, and human in vitro systems / Bradshaw PR1, Wilson ID1 [et al.] // *Sci. Rep.* – Feb. 5, 2018. Vol. 8 (1). P. 2405. DOI: 10.1038/s41598-018-20464-4.
9. Xenobiotic-metabolizing enzymes in the skin of rat, mouse, pig, guinea pig, man, and in human skin models / F. Oesch, E. Fabian, K. Guth, R. Landsiedel // *Arch Toxicol.* 2014. Vol. 88 (12). P. 2135–2190. DOI: 10.1007/s00204-014-1382-8.
10. Тутаяев К.Ю., Стрыгин А.В., Букатин М.В., Толкачев Б.Е., Морковин Е.И., Колобродова Н.А., Стрыгина А.О., Кузнецова О.Ю., Срослова Г.А., Доценко А.М., Лисина О.А., Кнышова Л.П. Стехиометрические модели метаболизма животной клетки: понятие и применение в биомедицинских исследованиях // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* 2020. Т. 10. № 2. С. 86-94.

ЭПИДИМИОЛОГИЯ И ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ВИРУСА ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА

Мельник С.В., Звада Е.А., Салова В.В.

ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России – ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский» университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, направление подготовки «Биология», Волгоград, e-mail: melnik_s1996@mail.ru

Вирус Западного Нила является одной из причин вспышек болезней людей и животных на всех континентах, кроме Антарктиды. Патогенез лихорадки Западного Нила широко исследуется на естественных хозяевах, а также на модельных животных, включая грызунов, зайцеобразных, птиц и рептилий. В то же время, отсутствие специфического противовирусного лечения, эффективных и безопасных вакцин способствует сохранению болезни и регулярно возникновению вспышек как в эндемичных, так и в неэндемичных районах.

Вирус Западного Нила (ВЗН) – это развивающийся нейротропный флавивирус, который

передается человеку через укус инфицированного комара и является наиболее географически распространенным арбовирусом в мире [2; 4].

Основная, наиболее часто встречающаяся схема передачи – «комар-птица-комар», где резервуарами (носителями) являются перелётные, водоплавающие, синантропные птицы, а основными переносчиками – орнитофильные комары. В России ВЗН к настоящему времени выделен из комаров *Culex modestus*, *Cx. pipiens* (неавтогенная форма *Cx. pipiens f. pipiens* и автогенная форма *Cx. pipiens f. molestus*), *Anopheles hyrcanus*, комплекс *Anopheles maculipennis* и *Coquillettidia richardii*. К числу потенциальных переносчиков следует также отнести *Aedes vexans*, вследствие его высокой численности в южных регионах. В период эпизоотической и эпидемической активности ВЗН (июль-август) в циркуляцию вируса включаются все доминирующие виды комаров. Перезимование зараженных ВЗН комаров рода *Culex* в стадии имаго – один из возможных механизмов создания устойчивых природных и антропогенных очагов инфекции. Зараженность комаров в антропогенных биоценозах существенно выше, чем в природных [2].

Схема передачи «клещ-птица-клещ» имеет существенное значение в перезимовании вируса и в создании стабильных очагов. К передаче ВЗН через укус восприимчивым хозяевам способны виды, относящиеся к родам *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Rhiphicephalus*, *Ixodes*, *Haemophysalis*, *Ornithodoros*. Основное значение на юге Европейской части России имеют клещи – *Hyalomma marginatum* и *Ornithodoros coniceps*. Хроническая инфекция у птиц с периодической вирусемией, наряду с сохранением ВЗН в членистоногих переносчиках, является одним из возможных механизмов существования вируса в межэпизоотический период [2].

Жизненный цикл ВЗН начинается с прикрепления к рецептору поверхности, эндоцитоза, слияния с эндосомальной мембраной и доставки инфекционного генома РНК в цитоплазму. После сборки вириона и его транспортировки по секреторному пути хозяина зрелая вирусная частица высвобождается из инфицированной клетки путем экзоцитоза [7; 9].

Животные модели инфекции ВЗН, включая мышей, хомяков и нечеловеческих приматов, дали представление о патогенезе ВЗН у человека. В частности, ВЗН-инфекция мышей позволила идентифицировать вирусные и генетические факторы хозяина, которые контролируют репликацию и исход инфекции. Исследования жизненного цикла и патогенеза вируса Западного Нила с использованием животных моделей инфекции выявили три различные фазы патогенеза ВЗН – начальная инфекция и распространение (ранняя фаза), периферическая вирусная амплификация (фаза диссеминации висцераль-

ных органов) и нейроинвазия (фаза центральной нервной системы (ЦНС)), которые, как полагают, повторяют то, что происходит у человека после заражения комаром [3; 6; 7].

Комары заражаются ВЗН во время кровососания на зараженных птицах. ВЗН размножается в эпителиальных клетках средней кишки комара и распространяется через гемолимфу к слюнным железам и другим органам. Ключевым этапом в передаче ВЗН и конкуренции векторов является кишечный барьер, который действует как физический и иммунный барьер за счет производства антимикробных пептидов и перитрофического матрикса (состоящего из хитина, белков, гликопротеинов и протеогликанов), которые вместе ограничивают репликацию вируса и распространение внутри инсекта. Лектины С-типа способствуют распространению ВЗН у комаров. Секретируемый лектиновый белок с-типа, mosGCTL – 1, связывается с ВЗН и усиливает вирусную привязанность и инфекцию путем взаимодействия с mosPTP-1, поверхностным белком комаров, который является гомологом человеческого CD45. ВЗН связывается с секретируемым mosGCTL-1 в гемолимфе, тем самым облегчая проникновение вируса и инвазию в различные ткани комаров [1; 4; 10].

Инфекция ВЗН запускает врожденные иммунные программы беспозвоночных, которые могут ограничить инфекцию. Они включают РНК-интерференция; врожденного иммунитета сигнальных путей, иммунодефицит и Як-стат (Janus kinase-signal transducer and activator of transcription) белки [2; 4].

Во время кровососания комары питаются непосредственно из сосудов или экстравазированной крови. В рамках этого процесса комар впрыскивает слюну и содержащиеся в ней вирусные частицы. В дополнение к вирусным факторам, блокирующим иммунный ответ хозяина, слюна комара содержит молекулы, которые противодействуют гемостазу, уменьшают воспалению и изменяют иммунитет хозяина [4; 5; 8].

Примерно 80% инфицированных вирусом Западного Нила являются бессимптомными носителями. У 20% зараженных людей развивают симптомы различной степени тяжести, которые начинают проявляться в течении 14 дней после укуса. Симптомы могут варьироваться от лихорадки, до развития паралича и менингита. Тяжелое течение может длиться несколько недель и в редких случаях вызывает необратимые повреждения головного мозга. Возраст старше 60 лет и заболевания, такие как рак и диабет увеличивают риск развития тяжелых клинических проявлений [4].

Список литературы

1. D.S McVey, West Nile virus / D.S McVey, W.C. Wilson & C.G. Gay. 2015. Т. 34. № 2. С. 31-36.
2. МУ 3.1.3.2600-10 Мероприятия по борьбе с лихорадкой Западного Нила на территории Российской Федерации МУ 3.1.3.2600-10. С. 4-7.

3. Прилепский А.Ю. Методы работы с клеточными культурами и определение токсичности наноматериалов: Учебно-методическое пособие / А.Ю. Прилепский, А.С. Дроздов, В.А. Богатырев, С.А. Староверов. Санкт-Петербург, 2019. С. 3-21.

4. Surveillance and Diagnosis of West Nile Virus in the Face of Flavivirus Cross-Reactivity Front. / Yaniv Lustig, Danit Sofer, Efrat Dahan Bucris and Ella Mendelson Microbiol., 2018 T. 11. № 9. P. 24-27.

5. МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК IN VITRO Нижний Новгород, 2020. С. 4-6.

6. Лелевич С.В. Клиническая микробиология Издательство «Лань» / Лелевич С.В., Волчкевич О.М., Сидорович Е.А. 2021. С. 243-256.

7. МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСОВ С КЛЕТКОЙ Учебное пособие Н.А. Новикова Нижний Новгород 2015 С. 43-64.

8. Li Yu Characterization of virus-specific vesicles assembled by West Nile virus non-structural proteins / Li Yu, Kazuyo Takeda, Yamei Gao. 2017. T. 34. № 2. P. 130-140.

9. Gervais Habarugira West Nile Virus: An Update on Pathobiology, Epidemiology, Diagnostics, Control and «One Health» Implications / Gervais Habarugira, Willy W Suen, Jody Hobson-Peters, Roy A Hall, Helle Bielefeldt-Ohmann. Pathogens. 2020. T. 9. № 7. P. 48-59.

10. Marie-France Martin West Nile Virus Restriction in Mosquito and Human Cells: A Virus under Confinement / Marie-France Martin, Sébastien Nisole. 2020. T. 8. № 2. P. 256-270.

МИКРООРГАНИЗМЫ НА СЛУЖБЕ ЧЕЛОВЕКА

Миннигалиева Л.Р., Князева О.А.

ФГБОУ ВО «Башкирский Государственный
Университет», Уфа,
e-mail: cool.lyaisanka23@yandex.ru

В данной статье рассматривается то, как микроорганизмы влияют на организм человека, так же использование микроорганизмов человеком. К примеру в виноделии, пивоварении, выпечки хлеба, а так же в приготовлении молочных продуктов, которые мы употребляем ежедневно. Микроорганизмы, незаменимы при «облагораживании» необычных видов сырья для биотехнологических процессов. Нельзя не отметить то, что генетические манипуляции позволяют вносить небольшие отрезки носителей генетической информации высших организмов, например человека, в бактерию и заставлять ее синтезировать соответствующие белки.-49 Бактерии могут расти в любых условиях: как аэробно, так и анаэробно. Огромное участие принимают так же в формировании структуры и плодородия почв, поддерживают запасы углекислого газа и кислорода

Человек привыкает с детства, что в возникновении многих болезней виноваты микробы.

И вдруг – микроб на службе здоровья. Такая ли уж это сенсация? А разве человек не заставил бактерии и вирусы работать в охране его здоровья? Вспомните прививки против оспы, холеры, кори, полиомиелита и других инфекций. Ведь

при этом также используются возбудители болезни, только в ослабленном варианте. Почему бы не заставить «работать» на человека и других микробов. Американским ученым Гатри был предложен новый метод диагностики некоторых наследственных нарушений обмена веществ. Им были использованы живые микроорганизмы – микробы, которые принесли столько бед человечеству в виде тяжелых инфекционных болезней. Микробы были поставлены на службу по охране здоровья людей. Их основная задача сводилась к роли детективов, когда среди тысячи здоровых людей им нужно было найти одного больного. Научная задача была решена Гатри изящно и тонко. Этот метод поначалу был предложен для выявления больных с фенилкетонурией, а затем адаптирован и для выявления других наследственных нарушений обмена. Полоски фильтровальной бумаги пропитываются несколькими каплями крови, и после специальной обработки кровяные диски помещают на специальную среду, содержащую штаммы бактерий. Этот микробиологический скрининг стал использоваться не только в Америке, но и в Англии, Франции, ГДР, Польше и СССР.

В настоящее время метод Гатри используется 50 крупными лабораториями зарубежных стран для массового обследования новорожденных. Так, например, этим методом уже обследовано на фенилкетонурию более 13 млн. новорожденных и выявлено 1186 детей с этим заболеванием, что составляет 1:11500 [1].

Работы и успехи генетических исследований

Методы, с помощью которых можно выращивать в лаборатории микроорганизмы, такие как, *Tenericutes*, *Firmicute*, *Gracilicutes* разработали О. Брефельд, Р. Кох и его школа в прошлом веке. Введение в практику прозрачных питательных сред, уплотненных желатиной или агаром, позволило изолировать отдельные клетки, следить за их ростом в колонии и получать чистые культуры. Разработка стандартных методов стерилизации и приготовления питательных сред привела к быстрому развитию медицинской микробиологии. Хотя еще Кох описал количественные методы, их преимущества при работе с микроорганизмами были поняты только в последние 50 лет. Малые размеры микроорганизмов позволяют получать в одной пробирке или чашке Петри и исследовать популяции, состоящие из 10⁸-10¹⁰ отдельных клеток, и, благодаря этому, выявлять такие редкие события, как мутация или передача приобретенного признака, не вдаваясь в сложных вспомогательных средствах и довольствуясь малым пространством. Огромные успехи биохимических и генетических исследований не в последнюю очередь достигнуты благодаря легкости обращения с бактериями [2].

Классические микробиологические производства. На примере пивоварения и виноделия