



Потенцирование неспецифической иммунологической памяти для индукции противoinфекционной резистентности

Шварц Я.Ш.¹, Донченко А.С.², (✉) Семенова О.В.¹, Салмин А.В.¹

¹Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Новосибирск, Россия

²Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук

Новосибирская область, р.п. Краснообск, Россия

(✉)e-mail: o.semenova@nsk-niit.ru

Инфекционные заболевания сельскохозяйственных животных – одна из наиболее актуальных проблем современного животноводства. Повсеместно используемая специфическая вакцинопрофилактика далеко не всегда эффективна из-за генетической вариабельности и мутационной изменчивости антигенов возбудителя («антигенный дрейф»), широкой распространенности смешанных полиэтиологических инфекций, гетерогенности иммунного ответа и сниженной иммунорезистентности. Современные специфические вакцины направлены на протекцию против определенного патогена (или в случае мультивалентности) – против нескольких конкретных патогенов и основаны на индукции долговременного адаптивного, т.е. антиген-специфического иммунитета, обусловленного формированием Т- и В-клеток памяти. В последнее десятилетие установлено, что вакцины, содержащие микроорганизмы, такие как БЦЖ, обеспечивают устойчивость не только в отношении специфического патогена (например, в случае БЦЖ – против *M. tuberculosis*), но и в отношении широкого круга других возбудителей. Основным механизмом этой широкой гетерологической устойчивости является повышенная реактивность клеток врожденной иммунной системы, в первую очередь моноцитов-макрофагов. В ответ на первичный стимул (тренинг) эти клетки претерпевают ряд эпигенетических и метаболических перестроек, сенсibiliзируются и, сталкиваясь со вторым стимулом (с тем же или другим возбудителем), обеспечивают долговременную протекцию против множества вирусных и бактериальных инфекций. В формировании неспецифической или «тренированной» иммунологической памяти (НИП) важная роль принадлежит метаболитам мевалонатного метаболического пути. В настоящей работе в экспериментах *in vitro* и *in vivo* верифицирована гипотеза о способности ингибитора фарнезилпирофосфатсинтазы – аминокислотобисфосфоната (блокатора мевалонатного пути на уровне фарнезилпирофосфата) – потенцировать БЦЖ-индуцированную НИП. Установлено, что аминокислотобисфосфонат золедронат индуцирует в моноцитах фенотип НИП и вызывает неспецифическую протекцию в отношении стафилококковой инфекции у мышей. Кроме того, золедронат значительно усиливает БЦЖ-индуцированную НИП, вызывая синергичный протективный эффект. Обнаруженный нами феномен потенцированной НИП может лечь в основу создания принципиально новых мощных универсальных вакцин.

Ключевые слова: неспецифическая иммунологическая память, тренированный врожденный иммунитет, БЦЖ, золедронат, *Staphylococcus aureus*

Potential of nonspecific immunologic memory for induction of anti-infection resistance

Schwartz Ya.Sh.¹, Donchenko A.S.², (✉) Semenova O.V.¹, Salmin A.V.¹

¹Novosibirsk Tuberculosis Research Institute of the Ministry of Health of the Russian Federation

Novosibirsk, Russia

²*Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences*
Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia
(✉) e-mail: o.semenova@nsk-niit.ru

Infectious diseases of farm animals are one of the most pressing problems of current livestock sector. The commonly used specific vaccine prophylaxis is not always effective due to the genetic variability and mutational variability of pathogen antigens ("antigenic drift"), the widespread prevalence of mixed polyetiological infections, heterogeneity of the immune response and reduced immune resistance. Existent specific vaccines are aimed at protecting against a specific pathogen or, in the case of multivalency, against several specific pathogens, and are based on the induction of long-term adaptive, i.e. antigen-specific immunity due to the formation of T- and B-memory cells. In the last decade, it has been established that vaccines containing microorganisms, such as BCG, provide resistance not only to a specific pathogen (for example, in the case of BCG – against *M. tuberculosis*), but also to a wide range of other pathogens. The main mechanism of this broad heterologous resistance is the increased reactivity of the innate immune system cells, primarily monocytes-macrophages. In response to the primary stimulus ("training"), these cells undergo a number of epigenetic and metabolic rearrangements, become "sensitized" and, when confronted with a second stimulus, the same or another pathogen, provide long-term protection against many viral and bacterial infections. Metabolites of the mevalonate metabolic pathway play an important role in the formation of non-specific or "trained" immunological memory ("trained immunity", TI). In the present work, the hypothesis of the ability of the farnesyl pyrophosphate synthase inhibitor, aminobisphosphonate (a blocker of the mevalonate pathway at the farnesyl pyrophosphate level), to potentiate BCG-induced TI was verified in *in vitro* and *in vivo* experiments. It has been found that the aminobisphosphonate zoledronate induces the TI phenotype in monocytes and causes nonspecific protection against staphylococcal infection in mice. In addition, zoledronate significantly enhances BCG-induced TI, causing a synergistic protective effect. The phenomenon of potentiated TI that we have discovered can form the basis for the development of fundamentally new powerful universal vaccines.

Key words: non-specific immunological memory, trained innate immunity, BCG, zoledronate, *Staphylococcus aureus*

Для цитирования: Шварц Я.Ш., Донченко А.С., Семенова О.В., Салмин А.В. Потенцирование неспецифической иммунологической памяти для индукции противинфекционной резистентности // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2025. Т. 55. № 2. С. 91–100. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2025-2-11>

For citation: Schwartz Ya.Sh., Donchenko A.S., Semenova O.V., Salmin A.V. Potentiation of nonspecific immunologic memory for induction of anti-infection resistance. *Sibirskii vestniksel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2025, vol. 55, no. 2, pp. 91–100. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2025-2-11>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях современного ведения животноводства, связанного с интенсификацией производства, необходим поиск новых способов профилактики и лечения инфекционных болезней, являющихся причиной экономических потерь. Распространению возбудителей способствуют особенности технологии выращивания и содержания животных, особенно в крупных промышленных комплексах, где сосредоточено большое число животных на ограниченных территориях, а также по-

лучение большего количества продукции за довольно короткий срок. Как следствие, возникают иммунодефициты [1, 2]. Широкое применение антибиотиков обуславливает появление устойчивой патогенной и условно-патогенной микрофлоры [3].

Заболевания вирусной и бактериальной этиологии протекают чаще в форме смешанных инфекций. При этом структура, видовой состав возбудителей и факторы, способствующие возникновению и течению энзоотических вспышек, различны для каждого хозяй-

ства [1, 4]. Специфическая вакцинопрофилактика не всегда эффективна из-за мутационной изменчивости и появления штаммов, для эпитопов которых существующие вакцины субоптимальны из-за широкой распространенности смешанных полиэтиологических инфекций, а также из-за нарушений иммунного ответа и сниженной иммунорезистентности животных [5].

Однако вакцинация животных является наиболее экономически эффективным и устойчивым методом борьбы с инфекционными заболеваниями. Специфические антиинфекционные вакцины – это иммунобиологические препараты, содержащие аттенуированные или убитые микроорганизмы, их антигены или кодирующие их нуклеиновые кислоты, направленные против конкретных патогенов и индуцирующие долговременный адаптивный (антиген-специфический) иммунитет, обеспечивая при повторной встрече с конкретным возбудителем (его антигеном) повышенный и более быстрый иммунный ответ и тем самым резистентность к данному патогену. Длительная протекция организма за счет действия специфических вакцин обусловлена выработкой соответствующих антител и формированием Т- и В-клеток памяти, способных быстро реактивироваться при повторной встрече с патогеном. Современные специфические вакцины в качестве антигенов могут иметь рекомбинантные белки или ДНК и мРНК, кодирующие нужный антиген, однако главная их особенность – узкая направленность на патоген определенного типа¹.

В последнее десятилетие на основании эпидемиологических, клинических и экспериментальных данных стало очевидно, что вакцины, содержащие микроорганизмы, такие как БЦЖ, обеспечивают устойчивость не только в отношении специфического патогена (например, в случае БЦЖ – против

M. tuberculosis), но и в отношении широкого круга других возбудителей [6, 7]. Стало понятно, что основным механизмом этой широкой гетерологической устойчивости является повышенная реактивность клеток врожденной иммунной системы, в первую очередь моноцитов-макрофагов. В ответ на первичный стимул (тренинг) эти клетки претерпевают ряд эпигенетических и метаболических перестроек, «сенсibiliзируются» и, сталкиваясь со вторым стимулом (тем же или другим возбудителем), обеспечивают долговременную протекцию против множества инфекций. В формирование неспецифической или «тренированной» иммунологической памяти (называемой в зарубежной литературе «trained immunity») включены не только периферические моноциты-макрофаги (Мн-Мф), но и их предшественники в костном мозге. Благодаря длительно существующей перестройке метаболизма и эпигенетическому репрограммированию предшественников миелопоэза в костном мозге, состояние trained immunity может сохраняться многие месяцы – вплоть до года и более² [8, 9].

Основные метаболические перестройки, участвующие в формировании фенотипа неспецифической или «тренированной» иммунологической памяти (НИП) в Мн-Мф – это переключение синтеза АТФ с окислительного фосфорилирования на аэробный гликолиз (так называемый феномен Варбурга), активация глютаминолиза и мевалонатного метаболического пути³ [9]. Причем ключевой метаболит мевалонатного пути – мевалоновая кислота – способен сам по себе индуцировать фенотип НИП в Мн-Мф [10]. Мы предположили, что БЦЖ-индуцированное формирование НИП можно потенцировать, если затормозить метаболизацию мевалоната и блокировать процессы пренилирования путем ингибирования фарнезилпирофосфатсинтазы. Классическими ингибиторами это-

¹Chambers M.A., Graham S.P., La Ragione R.M. Challenges in veterinary vaccine development and immunization // Vaccine Design. 2016. N 1404. P. 3–35. DOI: 10.1007/978-1-4939-3389-1_1.

²Netea M.G., Quintin J., Van Der Meer J.W.M. Trained immunity: a memory for innate host defense // Cell Host & Microbe. 2011. N 9. P. 355–361. DOI: 10.1016/j.chom.2011.04.006.

³Cheng S.C., Quintin J., Cramer R.A. et al. mTOR-and HIF-1 α -mediated aerobic glycolysis as metabolic basis for trained immunity // Science. 2014. N 345 (6204). P. 1250684. DOI: 10.1126/science.1250684.

го фермента являются аминокислоты, такие как глутаминовая кислота. Это означает, что НИП-опосредованные протективные эффекты БЦЖ могут быть значительно усилены аминокислотами, например глутаматом (ЗД).

Феномен потенцированной НИП в случае его реализуемости мог бы лечь в основу создания принципиально новых препаратов, обладающих противомикробными свойствами в отношении широкого спектра возбудителей. В настоящей работе в экспериментах *in vitro* и *in vivo* верифицирована гипотеза о способности ингибитора фолфолипидсинтазы – аминокислоты – потенцировать БЦЖ-индуцированную НИП. При этом в качестве неспецифического инфекционного агента использовали бактерии *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

Цель исследования – изучить возможность повышения неспецифической противомикробной резистентности организма на основе формирования БЦЖ-индуцированного фенотипа НИП и возможность его потенцирования глутаматом в Мн-Мф и у мышей в отношении экспериментальной инфекции *S. aureus*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали вакцинный штамм БЦЖ («Вакцина туберкулезная, БЦЖ»; АО НПО «Микроген», Россия), штамм *Staphylococcus aureus* из коллекции микроорганизмов Новосибирского научно-исследовательского института туберкулеза Минздрава России, глутамат (Плива Хрватска д.о.о., Хорватия).

Исследования проводили в два этапа. Изучали *in vitro* формирование БЦЖ-индуцированного фенотипа НИП в человеческих клетках моноцитарно-макрофагального звена и возможность его потенцирования глутаматом. Моноциты получали из периферической венозной крови здоровых доноров выделением мононуклеарных клеток по методу Воузм (1968) путем центрифугирования в градиенте плотности 1,077 г/см³ раствора фиколла («ПанЭко») с последующим их фракционированием,

используя способность клеток моноцитарно-макрофагального ряда адгезироваться на подложке. Для этого мононуклеары культивировали 60 мин при 37 °С в атмосфере, содержащей 5% CO₂, в концентрации 2 × 10⁶ кл/мл на стекле чашек Петри в питательной среде RPMI-1640 («ПанЭко», Россия) с добавлением антибиотиков «Пенициллин-стрептомицин» (ООО Биолот, Россия), 2 мМЛ-глутамин (ООО «Биолот», Россия), 10% эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота (Fetal Bovine Serum-12A, Capricorn scientific, Германия). Затем отмывали монослой от неприкрепившихся клеток, снимали охлажденным (4–6 °С) раствором Версена, центрифугировали при 1000 об. в течение 10 мин, ресуспендировали в питательной среде, добавляли эмбриональную сыворотку и переносили в 48-луночные планшеты в концентрации 8 × 10⁵ кл/мл. Чистоту фракции проверяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием антител к CD14⁺.

Для индукции фенотипа НИП в культуральную среду вносили живые микробные клетки вакцинного штамма БЦЖ в дозе 5 мкг/мл, инкубировали в течение 24 ч, затем моноциты отмывали от нефагоцитированных бактерий и в часть культур добавляли глутамат в концентрации 100 мкг/мл. Отрицательным контролем служили интактные клетки. Эксперимент проводили в трех повторениях, каждый раз используя моноциты от разных доноров. Для каждой подгруппы использовали по 8 лунок 48-луночного культурального планшета.

По истечении 3 сут производили смену питательной среды с добавлением глутамата и на 6-е сутки добавляли второй (разрешающий) стимул – ЛПС *Escherichia coli* O111: B4 («Sigma-Aldrich», США) в дозе 10 нг/мл. Спустя 24 ч характерные для НИП метаболические изменения верифицировали по активации аэробного гликолиза с усилением потребления глюкозы и накоплением лактата. Уровень лактата в супернатанте определяли спектрофотометрически с использованием набора Лактат-Ново («Вектор-бест»), глюкозы – с использованием набора Глюкоза-Ново («Вектор-бест»).

Второй этап – исследование *in vivo*. Эксперименты были одобрены локальным этическим комитетом Новосибирского НИИ туберкулеза Минздрава России (протокол № 54 от 11.11.2022) и проведены с соблюдением всех международных и принятых в Российской Федерации этических норм, включая Директиву 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях.

Мыши линии C57Bl/6, самки массой 20–22 г, полученные из питомника ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», случайным образом распределены на 8 групп по 8 животных в каждой:

- 1-я 0,9%-й раствор NaCl
- 2-я 0,9%-й раствор NaCl + *S. aureus*
- 3-я золедронат 0,5 мкг/мышь + *S. aureus*
- 4-я золедронат 1,0 мкг/мышь + *S. aureus*
- 5-я золедронат 2,5 мкг/мышь + *S. aureus*
- 6-я золедронат 10 мкг/мышь + *S. aureus*
- 7-я БЦЖ 10⁶ КОЕ/мышь + *S. aureus*
- 8-я БЦЖ 10⁶ КОЕ/мышь, золедронат 2,5 мкг/мышь + *S. aureus*

Живые микробные клетки БЦЖ вводили животным внутривентрально в дозе 10⁶ КОЕ/мышь. Золедронат вводили в ретроорбитальный синус (р/о) в испытуемых дозах в объеме 100 мкл/мышь. На 8-е сутки животных инфицировали р/о *S. aureus* в дозе 10⁷ КОЕ/мышь. Контролем служили интактные животные, которым вводили 0,9%-й раствор NaCl, и мыши, инфицированные *S. aureus* в той же дозе. В работе применена «почечная модель», позволяющая количественно оценить степень выраженности инфекции *S. aureus* по формированию абсцессов в почках^{4,5}.

Мышей выводили из эксперимента на 4-й и 9-й день после заражения путем дислокации шейных позвонков. Органы (селезенка и

почка) отбирали в стерильных условиях, гомогенизировали в 0,9%-м растворе хлорида натрия из расчета 1 мл на 0,1 г массы органа, делали посевы на питательный агар для культивирования микроорганизмов (ГРМ-агар, ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии), инкубировали при 37 °C 16–18 ч. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) определяли методом секторных посевов Голда. Результаты выражали в lgКОЕ/орган.

Для морфологических исследований из ткани правой почки готовили гистологические парафиновые срезы, окрашивали гематоксилином и эозином, фотографировали на микроскопе Primo Vert (CarlZeiss, Германия) в программе ZEN 2.3 lite с цифровой системой регистрации при ×400 и морфометрировали очаги образовавшихся абсцессов, подсчитывая по 80 полей зрения в каждой группе животных.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ STATISTICA 10.0 (StatSoftInc., США). Результаты представлены в виде среднего значения и ошибки средней величины ($M \pm m$). Значимость различий между средними показателями оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Визуально морфологические изменения в культуре клеток, обработанной БЦЖ, можно было наблюдать уже на 2-е сутки, к концу эксперимента разница по сравнению с контрольными культурами была значительной (см. рис. 1). Интактные моноциты адгезировались на поверхности подложки культурального матраса равномерно, имели округлую форму и в течение всего периода инкубации практически не меняли своей морфологии. В отличие от них клетки, обработанные микобактериями БЦЖ, в процессе адгезии неравномерно распределялись по поверхности,

⁴Грубер И.М., Асташкина Е.А., Лебединская О.В. и др. Иммуногенная активность секретируемых белоксодержащих соединений *Staphylococcus aureus* № 6 // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2015. № 4 (83). С. 86–93. DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-4-86-93.

⁵Cheng A.G., McAdow M., Kim H.K., Bae T., Missiakas D.M., Schneewind O. Contribution of coagulases towards *Staphylococcus aureus* disease and protective immunity // PLOS Pathogens. 2010. N 6 (8). E 1001036. DOI: 10.1371/journal.ppat.1001036.

увеличивались в размерах, часто приобретали веретенообразную форму, на 4-е сутки начинали формировать конгломераты, переходящие в гранулемоподобные образования.

Активация аэробного гликолиза является характерным признаком формирования фенотипа НИП в клетках моноцитарно-макрофагального ряда и свидетельствует о состоявшемся метаболическом репрограммировании. При этом возрастают потребление глюкозы клетками и продукция в них лакта-

та. Воздействие вторичных стимулов – бактерий или их молекул – приводит к еще большему усилению гликолитической активности и бактерицидности.

На рис. 2 представлены данные по изменению уровня лактата и глюкозы в супернатантах монослоев моноцитов, преинкубированных в качестве первичного стимула с БЦЖ и/или золедронатом, с последующим добавлением бактериального липополисахарида (ЛПС) как вторичного стимула, имити-

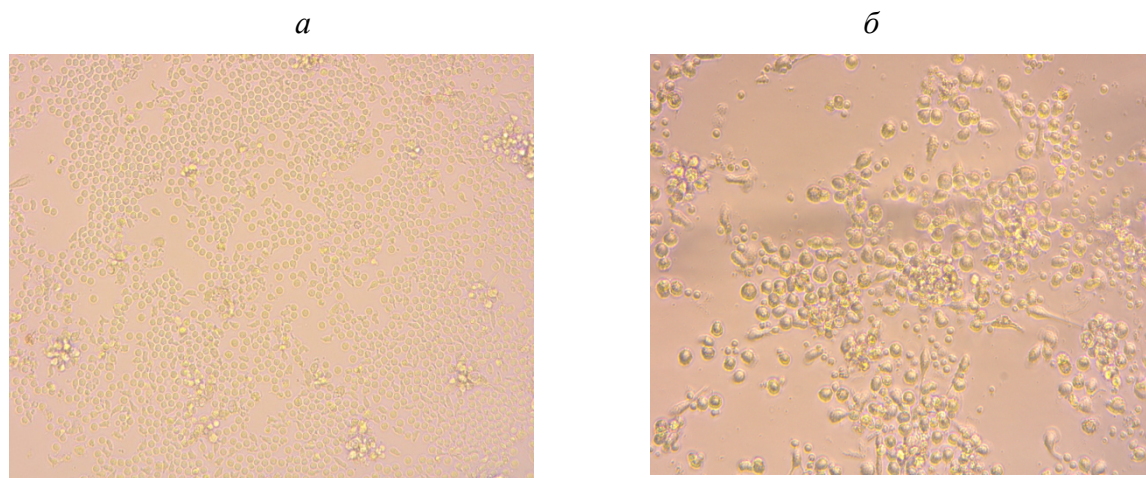


Рис. 1. Моноциты, 96 ч инкубации ($\times 200$); *a* – интактные; *б* – обработанные («тренированные») БЦЖ
Fig. 1. Monocytes, 96 hours of incubation (magnification $\times 200$); *a* – intact, *б* – treated (“trained”) with BCG

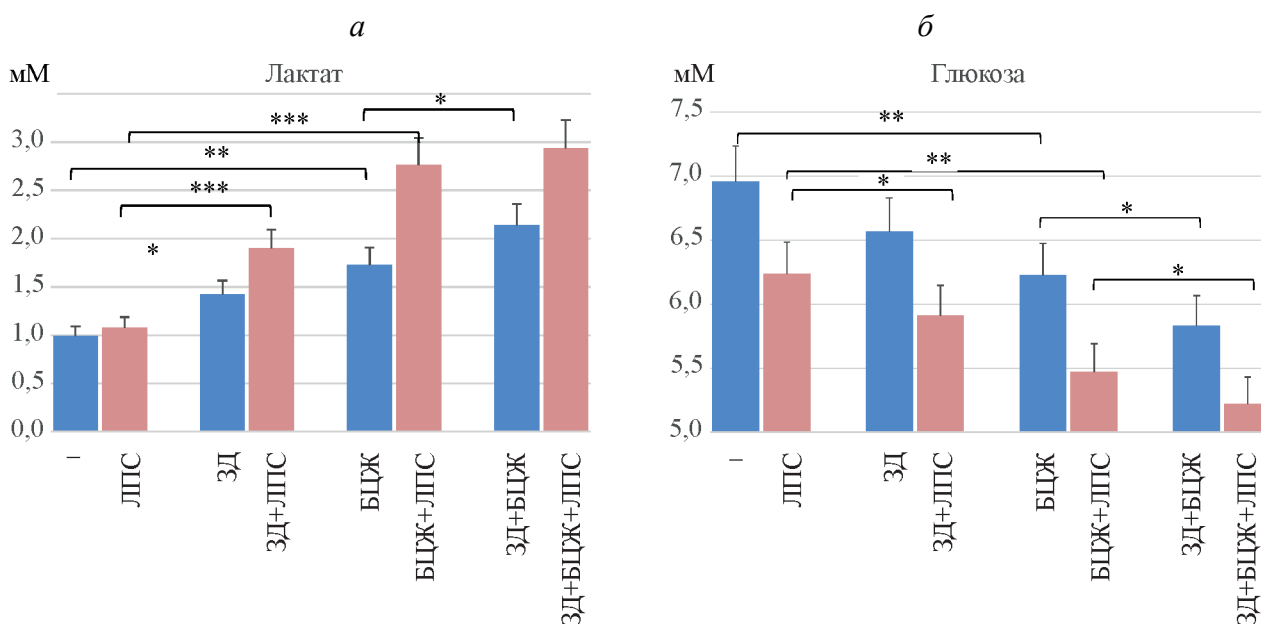


Рис. 2. Продукция лактата (*a*) и потребление глюкозы (*б*) моноцитами человека при индукции НИП; $M \pm m$; $*p \leq 0,05$; $**p \leq 0,01$; $***p \leq 0,001$

Fig. 2. Lactate production (*a*) and glucose consumption (*б*) by human monocytes upon induction of trained immunity, $M \pm m$, $*p \leq 0.05$, $**p \leq 0.01$, $***p \leq 0.001$

рующего повторную встречу клеток с патогеном.

Клетки, стимулированные ЛПС, увеличивали продукцию лактата и потребление глюкозы, под действием БЦЖ эти эффекты были более выражены, добавление ЛПС после предварительной БЦЖ-обработки повышало уровень лактата и потребление глюкозы еще более эффективно. Очевидно, что полученные данные подтверждают способность БЦЖ вызывать формирование НИП. Золедронат провоцировал увеличение продукции лактата и потребления глюкозы клетками, т.е. сам, как и БЦЖ, был способен индуцировать НИП. Следует отметить, что он, добавленный к моноцитам совместно с БЦЖ, потенцирует действие последнего, и эффект ЛПС в этом случае подтверждает способность золедроната усиливать БЦЖ-индуцированную НИП.

Поскольку результаты *in vitro* подтверждают нашу гипотезу о потенцировании БЦЖ-индуцированного фенотипа НИП в клетках моноцитарно-макрофагального ряда золедронатом, следующим этапом исследования стала оценка влияния золедроната на протективное действие БЦЖ *in vivo* в отно-

шении «неспецифической» инфекции, т.е. не туберкулеза, а инфекции, вызванной иным возбудителем. Использован *S. aureus* – возбудитель, который занимает одно из ведущих мест в инфекционной патологии домашних и сельскохозяйственных животных. На фоне вирусных инфекций и/или снижения иммунитета (вследствие нарушения норм содержания и кормления) он может вызывать тяжелые патологические процессы, такие как септицемия, стафилодермия, респираторные заболевания, маститы и др. Кроме того *S. aureus* обладает устойчивостью ко многим лекарственным препаратам, легко формируя антибиотикорезистентность [4].

Первую часть мышей (по 4 из каждой 8 групп) выводили из эксперимента на 4-е сутки, когда в тканях образуются абсцедирующие бактериальные очаги. Вторую часть животных выводили на 9-й день, когда отмечена постепенная элиминация бактерий. В экспериментальной группе «NaCl» *S. aureus* высеивался из почек, но не из селезенки (см. табл. 1).

На 4-е сутки после инфицирования золедронат в дозах 2,5 и 10 мкг и на 9-е сутки в до-

Табл. 1. Результаты посевов из гомогенатов почек и селезенки мышей через 4 и 9 сут после инфицирования *S. aureus* в дозе 10^7 КОЕ/мышь.

Table 1. Results of the cultures from mouse kidney and spleen homogenates 4 and 9 days after infection with *S. aureus* at a dose of 10^7 CFU/mouse.

Экспериментальная группа	Количество мышей с (+) высевами в органах /к числу зараженных, %		Почки, lg КОЕ/орган		Селезенка, lg КОЕ/орган	
	Сутки					
	4-е	9-е	4-е	9-е	4-е	9-е
0,9%-й раствор NaCl	100	100	5,5 ± 0,25	3,5 0 ± 1,75	0	0
Золедронат, мкг: 0,5	100 [#]	0	6 ± 0,03* ^{o#}	0	3,25 ± 1,38* ^{o#}	0
1,0	100 [#]	50 ± ,5* ^o	6 ± 0,03* ^{o#}	6,75 ± 0,22* ^{o#}	0	0
2,5	50 ± 12,5* ^o	50 ± 12,5* ^o	6 ± 0,03* ^{o#}	3,75 ± 0,22	0,87 ± 0,11* ^{o#}	0
10,0	50 ± 12,5* ^o	100 [#]	7,02 ± 0,02* ^{o#}	5,0 ± 0,5* ^{o#}	7,02 ± 0,02* ^{o#}	0
БЦЖ 10 ⁶ КОЕ)	100	100	5,5 ± 0,35	3,5 ± 0,18	5,63 ± 0,11* [#]	0
БЦЖ 10 ⁶ КОЕ, золедронат 2,5 мкг	50 ± 12,5* ^o	50 ± 12,5* ^o	4,38 ± 0,37* ^o	3,5 ± 0,18	0 ^o	0

Примечание. Здесь и в табл. 2 обозначены статистически значимые ($p \leq 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: *0,9%-й раствор NaCl; ^oБЦЖ 10^6 КОЕ; [#]БЦЖ 10^6 КОЕ, золедронат 2,5 мкг.

зах 0,5, 1,0 и 2,5 мкг резко снижал количество мышей с положительными посевами. Однако на 4-е сутки золедронат статистически значимо увеличивал (за отдельным исключением) бактериальную нагрузку в органах, особенно при максимальной дозе (10 мкг), вероятно, из-за своего апоптогенного действия на иммунокомпетентные клетки. БЦЖ не влияла на число животных с положительными посевами и на бактериальную нагрузку в почках, но в селезенке на 4-е сутки провоцировала бактериальный рост. Таким образом, в условиях нашего эксперимента золедронат оказывал определенное протективное действие, а положительный эффект БЦЖ не отмечен. В то же время сочетанное воздействие БЦЖ + ЗД приводило к значительному снижению содержания *S. aureus* в почках в сравнении с вариантом «0,9%-й раствор NaCl» и вариантами «золедронат 2,5 мкг», «золедронат 0,5 мкг», «золедронат 1 мкг», «золедронат 10 мкг», «БЦЖ 10⁶ КОЕ».

При морфометрическом анализе установлено, что на 4-е сутки после инфицирования золедронат дозозависимо тормозит образование абсцессов (см. табл. 2). К 9-м суткам при низких дозах золедроната (0,5–1,0 мкг) торможение продолжалось, при средних (2,5 мкг) – приостанавливалось, при высоких (10 мкг) – сменялось усилением их образования (вероятно, из-за апоптогенного действия высоких доз). БЦЖ практически не

влияла на формирование абсцессов. Вместе с тем сочетанное действие БЦЖ с золедронатом было наиболее эффективно, мощно подавляя абсцессообразование. Эти данные хорошо согласуются с результатами посеваемости *S. aureus* из органов.

Таким образом, золедронат способен самостоятельно индуцировать в моноцитах человека фенотип НИП и вызывать неспецифическую протекцию в отношении стафилококковой инфекции у мышей: в дозе 2,5 мкг/мышь он формирует у 50% животных защиту в отношении *S. aureus*, в дозе 0,5 мкг/мышь – ускоряет выздоровление 100% животных. Кроме того, что крайне важно, золедронат способен потенцировать БЦЖ-индуцированную НИП, вызывая синергичный протективный эффект.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время в мире фенотипом НИП занимается множество исследовательских групп, так как его изучение открывает широкие перспективы разработки новых путей вакцинопрофилактики и лечения инфекционных заболеваний [11, 12]. Полученные нами данные показывают возможность формирования усиленной, потенцированной НИП и тем самым путь к созданию наиболее мощных неспецифических вакцин. Конкретный результат наших исследований показывает, что одним из способов получения

Табл. 2. Формирование абсцессов в почках мышей, инфицированных *S. aureus* в дозе 10⁷ КОЕ/мышь.
Table 2. Formation of abscesses in the kidneys of mice infected with *S. aureus* at a dose of 10⁷CFU/mouse.

Экспериментальная группа	Общее количество абсцессов	Поля зрения с абсцессами, %	Общее количество абсцессов	Поля зрения с абсцессами, %
	4-е сутки		9-е сутки	
0,9%-й раствор NaCl	34,0 ± 0,57	81,25 ± 0,85	24,0 ± 0,41	60,00 ± 0,58
Золедронат, мкг:				
0,5	33,25 ± 0,63	83,75 ± 0,47*°	0	0
1,0	30,0 ± 0,41*	81,25 ± 0,85	19,0 ± 0,41*°	35,00 ± 0,58*°#
2,5	13,0 ± 0,41*°#	40,00 ± 0,58*°	13,25 ± 0,85*°	23,75 ± 0,25*°#
10,0	16,0 ± 0,82*°#	42,50 ± 0,29*°	27,0 ± 0,41*°	63,75 ± 0,75*#
БЦЖ 10 ⁶ КОЕ	32,0 ± 1,22	80,00 ± 0,58	23,0 ± 1,08	61,25 ± 0,48
БЦЖ 10 ⁶ КОЕ, золедронат 2,5 мкг	10,75 ± 0,48*°	32,50 ± 1,04*°	7,75 ± 0,25*°	20,00 ± 0,58*°

потенцированной НИП может быть использование аминобисфосфонатов, усиливающих БЦЖ-индуцированную протекцию в отношении неспецифической инфекции, вызванной *S. aureus*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Karmacharya D., Herrero-García G., Luitel B., Rajbhandari R., Balseiro A. Shared infections at the wildlife–livestock interface and their impact on public health, economy, and biodiversity // *Animal Frontiers*. 2024. N 14. P. 20–29. DOI: org/10.1093/af/vfad067.
2. Глотов А.Г., Глотова Т.И., Родин И.А., Косцаев А.Г. Вирусные и бактериальные болезни крупного рогатого скота при интенсивном ведении молочного животноводства: монография. Краснодар: Кубанский ГАУ, 2019. 487 с.
3. Мурленков Н.В. Проблемы и факторы развития антибиотикорезистентности в сельском хозяйстве // *Биология в сельском хозяйстве*. 2019. № 4 (25). С. 11–14.
4. Gaudino M., Nagamine B., Ducatez M.F., Meyer G. Understanding the mechanisms of viral and bacterial coinfections in bovine respiratory disease: a comprehensive literature review of experimental evidence // *Veterinary Research*. 2022. N 53. P. 70. DOI: 10.1186/s13567-022-01086-1.
5. Augustyniak A., Pomorska-Mól M. Vaccination Failures in Pigs – The Impact of Chosen Factors on the Immunisation Efficacy // *Vaccines*. 2023. N 11 (2). P. 2–22. DOI: 10.3390/vaccines11020230.
6. Chen J., Gao L., Wu X., Fan Y., Liu M., Peng L., Song J., Li B., Liu A., Bao F. BCG-induced trained immunity: history, mechanisms and potential applications // *Journal of Translational Medicine*. 2023. N 21 (1). P. 106. DOI: 10.1186/s12967-023-03944-8.
7. Covián C., Fernández-Fierro A., Díaz F.E., Vasquez A.E., Lay M.K., Riedel C.A., González P.A., Bueno S.M., Kalergis A.M. BCG-Induced Cross-Protection and Development of Trained Immunity: Implication for Vaccine Design // *Frontiers in Immunology*. 2019. N 10. P. 2806. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02806.
8. Bekkering S., Domínguez-Andrés J., Joosten L.A.B., Riksen N.P., Netea M.G. Trained Immunity: Reprogramming Innate Immunity in Health and Disease // *Annual Review of Immunology*. 2021. N 39. P. 667–693. DOI: 10.1146/annurev-immunol-102119-073855.
9. Bekkering S., Arts R.J.W., Novakovic B., Kourtzelis I., C. van der Heijden C.D.C., Li Y., Popa C.D., Horst R.T., J. van Tuijl, Netea-Maier R.T., L. van de Veerdonk F., Chavakis T., Joosten L.A.B., M. van der Meer J.W., Stunnenberg H., Riksen N.I.P., Netea M.G. Metabolic induction of trained immunity through the mevalonate pathway // *Cell*. 2018. N 172 (1-2). P. 135–146. DOI: 10.1016/j.cell.2017.11.025.
10. Лыков А.П., Белогородцев С.Н., Немкова Е.К., Ветлугина А., Терехова Т.М., Шварц Я.Ш. Влияние мевалоната, золедроната и БЦЖ-индукции на фенотип моноцитов/макрофагов // *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023. № 43 (3). С. 57–63.
11. Mulder W.J.M., Ochando J., Joosten L.A.B., Fayad Z.A., Netea M.G. Therapeutic targeting of trained immunity // *Nature Reviews Drug Discovery*. 2019. N 18 (7). P. 553–566. DOI: 10.1038/s41573-019-0025-4.
12. Palgen J.L., Feraoun Y., Dzangué-Tchoupou G., Joly C., Martinon F., le Grand R., Beignon A.S. Optimize prime/boost vaccine strategies: trained immunity as a new player in the game // *Frontiers in Immunology*. 2021. N 12. P. 612747. DOI: 10.3389/fimmu.2021.612747.

REFERENCES

1. Karmacharya D., Herrero-García G., Luitel B., Rajbhandari R., Balseiro A. Shared infections at the wildlife–livestock interface and their impact on public health, economy, and biodiversity. *Animal Frontiers*, 2024, no. 14, pp. 20–29. DOI: org/10.1093/af/vfad067.
2. Glotov A.G., Glotova T.I., Rodin I.A., Koschaev A.G. *Viral and bacterial diseases of cattle under intensive dairy farming*. Krasnodar: Kuban SAU, 2019, 487 p. (In Russian).
3. Murlenkov N.V. Problems and factors of development of antibiotic resistance in agriculture. *Biologiya v sel'skomkhozyaistve = Biology in Agriculture*, 2019, no. 4 (25), pp. 11–14. (In Russian).
4. Gaudino M., Nagamine B., Ducatez M.F., Meyer G. Understanding the mechanisms of viral and bacterial coinfections in bovine respiratory disease: a comprehensive literature review of experimental evidence. *Veterinary Research*, 2022, no. 53, p. 70. DOI: 10.1186/s13567-022-01086-1.

5. Augustyniak A., Pomorska-Mól M. Vaccination Failures in Pigs – The Impact of Chosen Factors on the Immunisation Efficacy. *Vaccines*, 2023, no. 11 (2), pp. 2–22. DOI: 10.3390/vaccines11020230.
6. Chen J., Gao L., Wu X., Fan Y., Liu M., Peng L., Song J., Li B., Liu A., Bao F. BCG-induced trained immunity: history, mechanisms and potential applications. *Journal of Translational Medicine*, 2023, no. 21 (1), p. 106. DOI: 10.1186/s12967-023-03944-8.
7. Covián C., Fernández-Fierro A., Díaz F.E., Vasquez A.E., Lay M.K., Riedel C.A., González P.A., Bueno S.M., Kalergis A.M. BCG-Induced Cross-Protection and Development of Trained Immunity: Implication for Vaccine Design. *Frontiers in Immunology*, 2019, no. 10, p. 2806. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02806.
8. Bekkering S., Domínguez-Andrés J., Joosten L.A.B., Riksen N.P., Netea M.G. Trained Immunity: Reprogramming Innate Immunity in Health and Disease. *Annual Review of Immunology*, 2021, no. 39, pp. 667–693. DOI: 10.1146/annurev-immunol-102119-073855.
9. Bekkering S., Arts R.J.W., Novakovic B., Kourtzelis I., C. van der Heijden C.D.C., Li Y., Popa C.D., Horst R.T., J. van Tuijl, Netea-Maier R.T., L. van de Veerdonk F., Chavakis T., Joosten L.A.B., M. van der Meer J.W., Stunnenberg H., Riksen N.I.P., Netea M.G. Metabolic induction of trained immunity through the mevalonate pathway. *Cell*, 2018, no. 172 (1-2), pp. 135–146. DOI: 10.1016/j.cell.2017.11.025.
10. Lykov A.P., Belogorodtsev S.N., Nemkova E.K., Vetlugina A., Terekhova T.M., Shvarts Ya.Sh. Effect of mevalonate, zoledronate and BCG on monocyte/macrophage phenotype. *Sibirskii nauchnyi meditsinskii zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*, 2023, no. 43 (3), pp. 57–63. (In Russian).
11. Mulder W.J.M., Ochando J., Joosten L.A.B., Fayad Z.A., Netea M.G. Therapeutic targeting of trained immunity. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2019, no. 18 (7), pp. 553–566. DOI: 10.1038/s41573-019-0025-4.
12. Palgen J.L., Feraoun Y., Dzangué-Tchoupou G., Joly C., Martinon F., le Grand R., Beignon A.S. Optimize prime/boost vaccine strategies: trained immunity as a new player in the game. *Frontiers in Immunology*, 2021, no. 12, p. 612747. DOI: 10.3389/fimmu.2021.612747.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Шварц Я.Ш., заместитель директора, доктор медицинских наук; ORCID 0000-0002-3036-9795, SPIN-код 4312-8550

Донченко А.С., руководитель ИЭВСиДВ СФНЦА РАН, доктор ветеринарных наук, академик РАН, профессор; ORCID 0000-0001-9284-3782, SPIN-код 3918-5688

✉ **Семенова О.В.**, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук; ORCID 0000-0002-1165-5243, SPIN-код 2979-7829; **адрес для переписки:** Россия, 630040, Новосибирск, ул. Охотская, 81А; e-mail: o.semenova@nsk-niit.ru

Салмин А.В., младший научный сотрудник; ORCID 0009-0009-8323-6513, SPIN-код 7353-4000

AUTHOR INFORMATION

Yakov Sh. Shvartz, Deputy Director, Doctor of Science in Medicine; ORCID 0000-0002-3036-9795, SPIN-code 4312-8550

Alexandr S. Donchenko, Head of IEVSS-FE SFSCA RAS, Doctor of Science in Veterinary Medicine, Academician RAS, Professor; ORCID 0000-0001-9284-3782, SPIN-code 3918-5688

✉ **Olga V. Semenova**, Senior Researcher, Candidate of Science in Biology; ORCID 0000-0002-1165-5243, SPIN-code 2979-7829; **address:** 81A, Okhotskaya St., Novosibirsk, 630040, Russia; e-mail: o.semenova@nsk-niit.ru

Alexei V. Salmin, Junior Researcher; ORCID 0009-0009-8323-6513, SPIN-code 7353-4000

Дата поступления статьи / Received by the editors 30.10.2024
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 24.11.2024
Дата публикации / Published 14.03.2025