

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ В КЛИНИЧЕСКОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ ПРАКТИКЕ

Желавский Н.Н., д. вет. н., профессор

Боднар А.А., к. биол. н, доцент, Захарова Т.В., к. вет. н., доцент,

Шунин И. Н., аспирант, docgmm@mail.ru

Подольский государственный аграрно-технический университет, г. Каменец-Подольский

Аннотация. В работе представлены литературные данные по классификации и применения иммуномодуляторов в ветеринарной медицине. Сделано принципиальные подходы по совершенствованию клинической классификации современных иммуотропных препаратов и их использования в клинической ветеринарной практике. Приведены конкретные примеры иммунотерапии, особенности использования иммуномодуляторов при заболеваниях животных различной этиологии и генеза.

Ключевые слова: фармакология, клиническая иммунология, иммуномодулирующие препараты, классификация, клиническая иммунотерапия.

MODERN APPROACHES TOWARDS APPLICATION OF IMMUNOMODULATORS IN CLINICAL VETERINARY PRACTICE

Zhelavskiy M.M., Bodnar A.A., Zaharova T.V., Chudin I.M., docgmm@mail.ru

State Agrarian and Engineering University in Podilya, Kamyanets-Podilsky

Summary. The literature data regarding the classification and application of immunomodulators in veterinary medicine are presented in the article. Principal approaches regarding improvement of clinical classification of modern immunotropic medicine, as well as its usage in clinical veterinary practice, was discussed in the article. The specific examples of immunotherapy and peculiarities of immunomodulators' application against animal illnesses of different causation and genesis were also illustrated in the work.

Key words: pharmacology, clinical immunology, immunomodulators, classification, clinical immunotherapy.

УДК 619:612.014.2:618.19–002

ІМУНОБІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ МАСТИТУ КОРІВ (огляд літератури та власні дослідження)

Желавський М.М., д. вет. н., професор

Боднар О.О., к. біол. н., доцент

Захарова Т.В., к. вет. н., доцент

docgmm@mail.ru

Подільський державний аграрно-технічний університет, м. Кам'янець-Подільський

Анотація. В статті наведено сучасні наукові дані про фактори та механізми імунного захисту корів при патології молочної залози. Детально описано зміни імунобіологічної реактивності організму корів в патогенезі маститу. Автором проведено наукові паралелі із результатами власних досліджень, здійснено інтерпретацію змін параметрів імунного статусу при патології молочної залози зроблено аргументовані висновки.

Ключові слова: корови, молочна залоза, імунітет, клітинні та гуморальні фактори захисту, імунокомпетентні клітини, мастит, імунобіологічні аспекти патогенезу.

Актуальність проблеми. Мастит є однією із найрозповсюджених патологій корів, яка наносить вагомі економічні збитки як в Україні, так закордоном. На сьогоднішній день вітчизняними та закордонними вченими детально вивчено етіологію, патогенез, діагностику та профілактику цього захворювання, проте імунобіологічні аспекти патології ще досі не достатньо розриті [1–5].

Сучасні наукові дослідження вітчизняної школи імунологів – репродуктологів заснованою доктором біологічних наук, професором, член-кореспондентом, заслуженим діячем науки і техніки України В. А. Яблонським значно розширили знання про роль імунних механізмів пов'язаних з відтворною здатністю тварин. На сьогоднішній день у лабораторії імунології ссавців проводяться дослідження з питань імунології лактації, імунопатології маститу та вдосконалення методів оцінки імунного статусу тварин [1, 3, 5].

Завдання дослідження. Завданням дослідження було провести огляд сучасних наукових джерел та розкриття імунних механізмів захисту в патогенезі маститу корів.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводились на коровах української чорно-рябої молочної породи у господарствах Хмельницької області (СТЗОВ ВФ «Гуменецьке» с. Гуменці, СТОВ ВАФ «Обрій» с. Гаврилівці, ППФ «Деметра» с. Кам'янка) та у лабораторії імунології відтворення ссавців навчально-наукового інституту ветеринарної медицини Подільського державного аграрно-технічного університету.

Імунний статус корів визначали за допомогою розробленої імунокarti (В. А. Яблонський, О. О. Боднар, М. М. Желавський, 2001), яка включала в себе поетапне визначення показників неспецифічної резистентності та специфічної імунобіологічної реактивності. Біометричний аналіз та біометричну інтерпретацію отриманих результатів проводили за допомогою статистичного софту прикладних програм Statistica v. 5.5 А.

Результати дослідження. Патогенні мікроорганізми після проникнення у молочну залозу починають взаємодіяти із наявними тут гуморальними та клітинними факторами імунного захисту та ініціювати запальний процес. Запальна реакція супроводжується активною міграцією лейкоцитів в зону патологічного процесу та проявом цілої низки імунологічних клітинних і гуморальних реакцій, які направлені на нейтралізацію збудника інфекції та відновлення імунного гомеостазу в організмі [6, 8].

Важливе значення у протимікробному імунитеті відіграє фагоцитарна система захисту. Як відомо, запальна реакція супроводжується розладами місцевого кровообігу з активною міграцією мікро- та макрофагів в зону патологічного процесу [6, 8, 9–12]. На початку запалення в активну протидію мікроорганізмам включаються нейтрофільні гранулоцити, які формують першу лінію захисту. Нейтрофілоцити містять у цитоплазматичних гранулах протимікробні ферменти (еластаза, кателсин, кисла та лужна фосфатаза, колагеназа, лізоцим, мієлопероксидаза) та екскретують у позаклітинний простір цілу низку бактерицидних речовин, що не тільки діють згубно на мікроорганізми, але й спричиняють деструктивні зміни паренхіми молочної залози [5, 7–10]. Особливо агресивну дію спричиняють сполуки Оксигену, радикали протеази, токсини та метаболіти запалення. Останні повідомлення дослідників та наші експерименти доводять, що макрофаги при цьому фагоцитують та елімінують не лише мікроби, що загинули «на полі бою», нейтрофіли та зруйновані інші клітинні елементи, а також метаболіти і медіатори запалення [4, 5, 8–10]. При цьому некроз нейтрофільних гранулоцитів проявляється розпадом загинблих клітин та вивільненням назовні лізосомальних ферментів. Масовий розпад нейтрофілів є також однією з причин переходу субклінічного запального процесу в клінічну форму із вираженими типовими ознаками запалення.

Запуск фагоцитарної реакції ініціюється хемоатрактантами (IL-8), компонентами комплементу C5a, C3b, C3bi [8–12]. Лімфоцити виробляють опсонізуючі антитіла, які посилюють фагоцитарну реакцію. Імунологічне розпізнання антигену в більшості випадків відбувається через IgG2 та IGM взаємодію Fab-локалізованих ділянок бактерій з Fc-рецептарами нейтрофілів [8, 11–16].

Нашими імунологічними дослідженнями було встановлено, що при маститі найбільш істотні зміни виявлені у функціональних показниках клітинного локального імунітету, а саме: субклінічний мастит супроводжувався бурхливим проявом цитохімічних Оксигеннезалежних та Оксигензалежних механізмів фагоцитарних клітин секрету молочної залози хворих корів. Особливо яскраво це проявилось інтенсивним збільшенням відсотка реактивних фагоцитів в реакції на інтралейкоцитарний лізоцим та лізосомальні катіонні білки. У патогенетичні механізми розвитку запалення також залучалась інтрацелюлярна реактивність мієлопероксидази та метаболічна реактивність оксидаз (НСТ-тест) фагоцитарних клітин, що чітко вказувало на активацію протимікробного потенціалу фагоцитів при розвитку субклінічного запалення [4, 5, 15].

В каскаді імунологічних реакцій у молочній залозі важливе значення відіграють медіатори запалення - інтерлейкіни, лейкотрієни, простагландини, Ферум-цитратні комплекси та інші

біологічно активні сполуки. Нещодавніми дослідженнями фізіологічної ролі $\gamma\delta$ Т-лімфоцитів доведено їх протективну дію відносно лактоцитів альвеол [12–15].

Як показали наші клініко-експериментальні дослідження субклінічний мастит корів проявляється пригніченням Т-системи імунітету. Доведено, що патогенезі маститу відбувається гальмування проліферативної активності бластних лімфоїдних клітин в імунологічних реакціях з фітогемаглютиніном. Також встановлено, що патологія молочної залози супроводжується зростанням концентрації циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) із середньою молекулярною масою (CI_{Cm}) та майже потрійним збільшенням вмісту середніх молекул, що є достовірною діагностичною ознакою наростання ендогенної інтоксикації метаболітами запалення, які утворились в зоні патологічного процесу. Встановлено прямий корелятивний зв'язок між вмістом середньомолекулярних імунних комплексів та середніх молекул, що інформативно вказує на участь метаболітів запалення в аутоімунізації хворого організму [5, 15].

Важливу роль у патогенезі маститу відіграють *натуральні кілери (НК)*, що містять Fc-рецептор і виконують активну цитостатичну дію навіть за недостатності головного комплексу гістосумісності [285, 542–548]. В процесі інактивації клітин-мішеней НК стимулюють дегрануляцію фагоцитів та виділення цілої низки біохімічних сполук, в тому числі й *фактора некрозу пухлин – α (TNF- α)*. Вже достатньо вивчено роль В-лімфоцитів секрету молочної залози. Встановлено, що при запальному процесі активовані Т-хелпери виступають ефекторною ланкою в системі Головного комплексу гістосумісності II. Вони також активізують утворення IL-2, який стимулює проліферацію В-клітин [8, 14–17].

Сприйнятливість молочної залози до інфікування залежить від періоду її функціонування. Найбільші ризики виникнення маститу проявляють себе в ранній період лактації та впродовж післяродового періоду. Доведено також, що під час сухостою відбувається зниження функціональної активності лімфоцитів, синтезу антитіл та цитокінів. Встановлено істотне зменшення вмісту *IFN- γ* та рівня *IL-2* на тлі зменшення регулюючого впливу *Th1*. В цей час проходять суттєві зміни в популяційному складі Т-лімфоцитів як у периферичному руслі, так і в паренхімі органу. Зменшення кількості *CD4⁺-клітин* супроводжується зменшенням рівня *IFN- γ* . *CD8⁺-лімфоцити* при цьому проявляють імуносупресивну дію, що підтверджено імунологічним виявленням в цей період головного регулюючого цитокіну *IL-4 mRNA* [7, 8, 16].

Нині переглядається функція епітеліальних клітин молочної залози, їх роль в процесі запалення та імунній відповіді. За останніми даними [6, 11], епітеліальні клітини молочної залози активно беруть участь в запальному процесі, вони можуть також виділяти IL-8 та арахідонову кислоту, цитокіни, хемокіни і протимікробні пептиди [2, 6, 8].

В процесі фагоцитарної реакції в паренхімі вим'я та його секреті зростає чисельність фагоцитів, які проте недостатньо секретують IL-1, що є також однією із передумов ризику розвитку маститу. Ініціація запального процесу за впливу *E. coli* проходить із вивільненням мікробного ендотоксину ліпополісахаридного комплексу (*LPS-binding protein, LBP*), який вільно зв'язується із специфічним мембранним рецептором CD14 (mCD14) макрофагів та нейтрофілів. В подальшому відбувається активізація фактора некрозу пухлин (TNF α). Синтезовані цитокіни, інтерлейкіни та хемоатрактанти включаються в імунну реакцію [6, 8, 12–18].

Важливу роль у формуванні гуморального захисту відіграють також *імуноглобуліни*, які потрапляють у молочну залозу із крові, а також ті, що синтезуються у паренхімі залози. Достатньо ґрунтовно вивчено участь у патогенезі маститу IgG1, IgG2 та IgM, які здійснюють опсонізацію антигену та стимулюють фагоцитоз. Задіяні антитіла знищують мікроби як за допомогою цитотоксинів, так за впливу C_{3b} ; активну участь в аглютинації та нейтралізації токсинів беруть IGA, нейтрофіли та макрофаги, які зв'язуючись із Fc-рецепторами, формують імунні комплекси (антитіла-антиген- C_{3b} -бактерії) [16, 18–20]. Бактерицидними властивостями також володіє *оксид азоту (iNOS)*, що виробляється макрофагами на початкових етапах запальної реакції. Вагомим чинником у продукції NO є також стафілококовий ендотоксин та цитокіни (IFN- γ , TNF- α , NF- κ B, IL-1 β та ін.). Вважають, що окис Нітрогену, як медіатор активації арахідонової кислоти та утворення активних форм Оксигену також бере активну участь у каталізації *5-ліпоксигенази* і утворення *лейкотрієнів* [8, 9]. Регуляція запальної реакції молочної залози корів також здійснюється за участю *лактоферину*, *лізоциму*, та *сироваткового амیلіоїду A (serum amyloid A, SAA)* [7, 12, 17–20].

Складовою гуморального захисту молочної залози від патогенних чинників є також цитокіни. Доведено, що дефіцит *IL-2*, *IFN- γ* , *IFN- β* , *IFN- ν* та зрушення взаємодії *RBG-CSF* є частою

причиною недостатнього захисту молочної залози на ґрунті недостатньої функціональної активності Т-клітин [7, 8, 17, 21].

Висновки

1. Система імунітету корів представлена цілою низкою факторів та механізмів захисту. В патогенезі маститу корів відбувається каскад запальних та імунологічних реакцій, які відбуваються як на системному, так і локальному рівні.

2. Субклінічний мастит корів супроводжується зрушення в системі клітинного та гуморального імунітету. Зокрема, нашими дослідженнями доведено, що субклінічна патологія молочної залози проявляється активізацією Оксигензалежного механізму протимікробного потенціалу фагоцитів молочної залози.

3. При субклінічному та гнійно-катаральному маститі корів відбувається істотні зміни в системному імунітеті. В патогенезі запалення молочної залози відзначено порушення функціонального стану Т-ланки імунітету, пригнічення фагоцитозу, що відбувалось на тлі активації цитохімічної реактивності фагоцитарних клітин периферичної крові та зростання рівня циркулюючих імунних комплексів і середніх молекул.

4. На основі імунологічного тестування тварин нами розроблена тест-карта (імуограма), яка дозволяє визначити імунний статус тварин та прогнозувати перебіг патології молочної залози.

Література

1. Яблонський В. А. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології ; Підручник / В. А. Яблонський, С. П. Хомин, Г. М. Калиновський [та ін.] / За редакцією Яблонського В. А. — Вінниця : Нова книга. — 2011. — 608, [1] с.
2. Vaccination of dairy cows with recombinant *Streptococcus uberis* adhesion molecule induces antibodies that block adherence to and internalization of *S. uberis* into bovine mammary epithelial cells / [M. E. Prado, R. A. Almeida, C. Ozen, D. A. Luther, M. J. Lewis et al.] // Vet. Immunol. and Immunopathol. — 2011. — Vol. 141. — P. 201—208.
3. Біотехнологічні і молекулярно-генетичні основи відтворення тварин / [В. А. Яблонський, С. П. Хомин, В. І. Завірюха, М. В. Демчук, Р. С. Стойка]. — Львів: Афіша, 2009. — 218, [1] с.
4. Яблонський В. А. Зміни протимікробної реактивності фагоцитів секрету молочної залози корів при субклінічному маститі / В. А. Яблонський, М. М. Желавський // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва» — 2009. — Вип. 136. — С. 184—185.
5. Яблонский В. А. Локальный иммунитет и апоптоз иммунокомпетентных клеток при субклиническом мастите коров / В. А. Яблонский, Н. Н. Желавский : материалы Международной научно-практической конференции «Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных», посвященной 100-летию со дня рождения профессора В. А. Акатова, Воронеж, 27-29 мая, 2009 г. — Воронеж: Изд-во Истоки, 2009. — С. 393—397.
6. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* cause deviating expression profiles of cytokines and lactoferrin messenger ribonucleic acid in mammary epithelial cells / [B. Griesbeck-Zilch, H. D. Meyer, C. Kühn, M. Schwerin et al.] // J. Dairy Sci. — 2008. — Vol. 91. — P. 2215—2224.
7. Local and systemic response to intra-mammary lipopolysaccharide challenge during long-term manipulated plasma glucose and insulin concentrations in dairy cows / [M. C. Vernay, M. B. Wellnitz, L. Kreipe, van H. A. Dorland et al.] // J. Dairy Sci. — 2012. — Vol. 95. — P. 2540—2549.
8. Immunology: With STUDENT CONSULT Online Access, 8e (Immunology (Roitt)) / David Male, Jonathan Brostoff, David Roth, Ivan Roitt (Oct 1, 2012) — http://www.amazon.com/Immunology—STUDENT—CONSULT—Online: Access/dp/0323080588#reader_0323080588
9. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases / [P. A. Ospina, D. V. Nydam, T. Stokol, T. R. Overton] // J. Dairy Sci. — 2010. — Vol. 93. — P. 546—554.
10. Induced hyperketonemia affects the mammary immune response during lipopolysaccharide challenge in dairy cows / [M. Zarrin, O. Wellnitz, H. A. van Dorland, R. M. Bruckmaier] // Journal of Dairy Science. — 2014. — Vol. 97, N. 1. — P. 330—339.
11. Presence of ISS1-like insertion sequence in wild type *Streptococcus uberis* strains isolated from cases of bovine mastitis / [K. D. Oudessa, R. A. Almeida, A. L. Stephen et al.] // Vet. Microbiol. — 2011. — Vol. 151. — P. 315—320.
12. Bannerman D. D. Characterization of the bovine innate immune response to intramammary infection with *Klebsiella pneumoniae* / D. D. Bannerman, M. J. Paape, W. R. Hare [et al.] // J.

- Dairy Sci. — 2004. — Vol. 87. — P. 2420—2432.
13. Vivier E. Innate and adaptive immunity : specificities and signaling hierarchies revisited / E. Vivier, B. Malissen // Nat. Immunol.—2005.—Vol. 6.—P.17—21.
14. Едмодсон П. Літній мастит – актуальна проблема молочного стада / П. Едмодсона // Ветеринарна практика. — 2013. — № 6. — С. 38—39.
15. Желавский Н. Н. Состояние клеточного и гуморального иммунитета коров при мастите / Н. Н. Желавский // Инновационные технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции : материалы Международной научно-практической конференции. – Владикавказ : Горский государственный аграрный университет, 2012. – С. 150–151.
16. Baumgarth N. Inherent specificities in natural antibodies : a key to immune defense against pathogen invasion / N. Baumgarth, J. W. Tung, L. A. Herzenberg // Spr. Semin. Immunopathol.— 2005.—Vol. 26.—P. 347—362.
17. Van Wetering S. Interactions between neutrophil-derived antimicrobial peptides and airway epithelial cells / S. Van Wetering, G. S. Tjabringa, P. S. Hiemstra // J. Leukoc. Biol. — 2005. — Vol. 77. — P. 444—450.
18. Sarikaya H. C. Distribution of leucocyte populations, and milk composition in milk fractions of healthy quarters in dairy cows / H. C. Sarikaya, M. Werner-Misof, R. M. Bruckmaier // J. Dairy Res. — 2005. — Vol. 72. — P. 489—492.
19. Burton J. L. Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease / J. L. Burton, R. J. Erskine // Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. — 2003. — Vol. 19. — P. 1—45.
20. Van Wetering S. Interactions between neutrophil-derived antimicrobial peptides and airway epithelial cells / S. Van Wetering, G. S. Tjabringa, P. S. Hiemstra // J. Leukoc. Biol. — 2005. — Vol. 77. — P. 444—450.
21. Желавський М. М. Зміни протимікробного потенціалу фагоцитів за маститу корів / М. М. Желавський // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини : зб. наук. праць Харківської державної зооветеринарної академії. Серія «Ветеринарні науки». — 2011. — Вип. 23, Т. 2, Ч. 2. — С. 438—440.

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА МАСТИТА КОРОВ

(обзор литературы и собственные исследования)

Желавский Н.Н., д. вет. н., профессор,

Боднар А.А., к. биол. н., доцент, Захарова Т.В., к. вет. н., доцент, docgmm@mail.ru

Подольский государственный аграрно-технический университет, г. Каменец-Подольский

Аннотация. В статье приведены современные научные данные о факторах и механизмы иммунной защиты коров при патологии молочной железы. Подробно описаны изменения иммунобиологической реактивности организма коров в патогенезе мастита. Автором проведены научные параллели с результатами собственных исследований, осуществлено интерпретацию изменений параметров иммунного статуса при патологии молочной железы, сделано аргументированные выводы.

Ключевые слова: коровы, молочная железа, иммунитет, клеточные и гуморальные факторы защиты, иммунокомпетентные клетки, мастит, иммунобиологические аспекты патогенеза.

IMMUNOBIOLOGICAL ASPECTS OF PATHOGENESIS OF COWS' MASTITIS

(literature review and own researches)

Zhelavskiy M.M., Bodnar A.A., Zaharova T.V., docgmm@mail.ru

State Agrarian and Engineering University in Podilya, Kamyanets-Podilsky

Summary. The modern scientific data about the factors and mechanisms of immune protection of cows with pathology of mammary gland were presented. The changes of cows' immunobiological organism reactivity in pathogenesis of mastitis were described in a detailed manner. The author has made scientific parallels with the results of his own research and also interpreted the parameter changes of immune status of pathology of udder as well as made reasonable conclusions.

Key words: cows, mammary gland, immunity, cellular and humoral facts of protection, immunocompetent cells, mastitis, immunobiological aspects of pathogenesis.