

Клітини молока – яка їх функція?

☛ За матеріалами **Д. Л. Фітзпатрік**

Відділ здоров'я продуктивних тварин, факультет клінічної ветеринарії, Університет Глазго, Великобританія

Коли здорова тварина стає хворою? Відповідь потрібно шукати у складній взаємодії між твариною-господарем, навколишнім середовищем і патогеном. Це процес, закономірності якого слід розуміти, щоб контролювати і запобігати виникненню маститів у дійних корів. Фенотиповими характеристиками, властивими для корови (P) є поєднання генотипових характеристик (G) і природних девіацій (E), скажімо, $P = G + E$. Таким чином, метою майбутніх дослідницьких програм є ідентифікація генів, які відповідають за стійкість або сприйнятливість до маститу, а також важливих патогенів і навколишніх факторів, пов'язаних з маститом.

Мастит – це не просто захворювання, а інтегрована внутрішньоцистернальна інфекція, що викликається різноманітними бактеріями. Для спрощення мікроорганізми розподіляють на категорії: "контагіозні" та "патогени середовища" проте, відмінностей між цими двома групами набагато менше, ніж вважають. Патогени середовища, такі як *Escherichia coli*, присутні у молочній залозі навіть у сухостійний період [2], це спростовує догму, що під час сухостійного періоду у молочній залозі не відбувається прогресуючого росту *E. coli*.

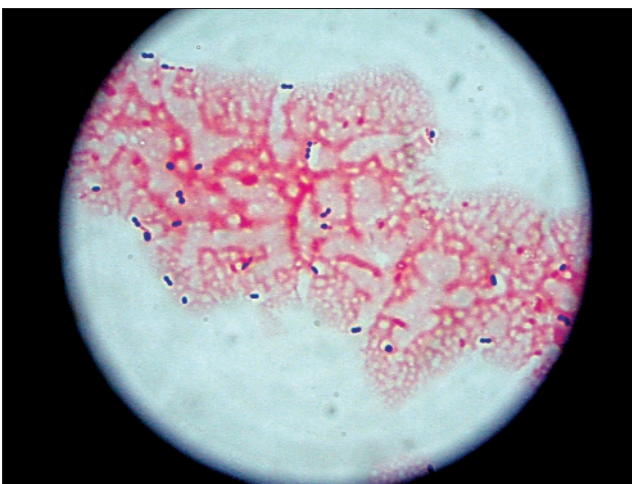
Streptococcus uberis здатний довгий час розмножуватись у вимені та передаватись від корови до корови та з чверті до чверті, що більш характерно для висококонтагіозних організмів. Ймовірно, це пов'язано з, по-

перше, впровадженням нових молекулярних та імунологічних методів досліджень, що дають можливість більш точно ізолювати та ідентифікувати збудників; по-друге, трансформацією мікроорганізмів з підвищенням стійкості та живучості в макроорганізмі або у навколишньому середовищі.

Слизова оболонка молочних протоків є досить значною за площею і унікальною завдяки своїй локалізації і функціональним властивостям – продукування молока та імунологічний захист новонароджених. Серед інших слизових оболонок у корів, які колонізуються бактеріями, слід відзначити ШКТ, дихальну та репродуктивну системи. Відмінність полягає в тому, що травний та дихальний канали постійно контактують зі сторонніми антигенами і патогенами, тому локальна імунна відповідь даних слизових спрямована на захист від інвазії тканин мікроорганізмами і вірусами. Для родових шляхів характерна протидія інфекціям під час спаровування та пологів, при цьому не відторгаючи плід, який містить нативні батьківські антигени, чужорідні для матки. Поверхня слизової оболонки молочної залози піддається впливу патогенів значно рідше, ніж інші, хоча існує небезпека інфікування через канал дійки під час доїння. Внутрішньоцистернальна інфекція також може проникати пасивно, якщо канал дійки відкритий або ушкоджений, особливо під час лактації.

Імунна відповідь слизових оболонок здійснюється за рахунок факторів клітинного і гуморального імунітету.

Імунокомпетентні клітини відіграють важливу роль у захисті проти інших небезпечних інфекційних захворювань ВРХ, в тому числі респіраторних вірусних інфекцій, метритів та туберкульозу. Популяції клітин представлені В-клітинами, Т-хелперами (Th), Т-супресорами (Ts), природними кілерами (NK) тощо. Наочним прикладом важливості всіх підкласів імунних клітин у патологічному процесі є ВІЛ-інфекція у людини, при якій знижується кількість Т-хелперів [3]. Очевидно, ці клітини відіграють значну роль у захисті вимені, хоча екстраполюватись від інших органів при цьому дуже важко. Захист слизових оболонок здійснюється комплексною системою взаємоінтегрованих захисних механізмів, які можуть бути класифіковані як "неспецифічні" (нативні) та "специфічні" (набуті). Нативна імунна відповідь спрямована на структурні елементи мікроорганізмів, наприклад, компоненти клітинної стінки бактерій [1], тоді як специфічні



Мікроскопія препарату молока: у полі зору видно рожевий казеїн та поодинокі *Streptococcus lactis* (фарбування за Грамом; X200)

імунні механізми потребують більше часу для формування відповіді, але вони високоспецифічно фокусується на епітопах патогенів.

До клітин неспецифічного захисту відносять нейтрофіли, макрофаги та природні кілери, тоді як Т- і В-клітини – до спеціалізованих. У молоці нормальної, незапаленої молочної залози виявляють епітеліальні клітини, В-клітини, Т-клітини, макрофаги, нейтрофіли. Переважну більшість протягом всього періоду лактації складають макрофаги, окрім періоду колострогенезу або наприкінці лактації, коли переважають нейтрофіли [8].

За розвитку інфекції, клітини мігрують з тканин, що оточують секреторні альвеоли та фізіологічних циркулюючих рідин організму, а більшість їх у тканинах та секретах молочної залози представлена нейтрофілами. Співвідношення клітин з оточуючих тканин та з фізіологічних циркулюючих рідин організму досі чітко не визначено. Слід відзначити, що ключову роль можуть відігравати інші клітини, присутні в значно меншій кількості, і в той же час, більш необхідні, ніж нейтрофіли. Взаємодія між бактеріями та імунними клітинами відбувається у секреті, що накопичується в цистерні залози або протоках та альвеолах; у тканинах, що оточують секреторні альвеоли; або у надвименних лімфатичних вузлах, які збирають лімфу з молочної залози. Очевидно, імунна відповідь формується на всіх трьох рівнях.

Під час Симпозіуму з імунології молочної залози жуйних тварин, який відбувся у Стресі у 2007 році [17] в багатьох презентаціях висвітлювалися результати лабораторних досліджень ролі та функцій імунних клітин. На жаль, епідеміологічних та виробничих досліджень ролі соматичних клітин молока у захисті вимені проведено набагато менше. Багатьма авторами виявлено, що підвищена кількість соматичних клітин (КСК) у окремих корів пов'язана з клінічними маститами, що пояснюється наявністю хронічного інфекційного процесу, спричиненого зокрема *S. aureus* [5]. У деяких дослідженнях вивчалися стада та окремі тварини з низькою або дуже низькою КСК, але очевидним є те, що ризик виникнення клінічних маститів зростає у тварин з низькою КСК порівняно з особинами з високою кількістю цих клітин [18].

Так як реакції локального захисту відбуваються безпосередньо у окремих молочних пакетах, для кращого розуміння місцевого імунітету слід зосередити увагу на ролі КСК у молочної залози. Цілий ряд експериментальних досліджень показав, що висока і навіть помірна кількість соматичних клітин в молоці захищає проти інтервенції патогенних і умовно патогенних мікроорганізмів [3]. Збільшення кількості соматичних клітин відбувається на фоні активації макрофагів, а також конкуренції між бактеріями-коменсалами і патогенними групами. Як відбувається взаємодія імуннокомпетентних клітин і коменсалів, невідомо.

В залежності від виду збудника існує ряд особливостей імунної відповіді. Т-хелпери приймають активну участь у захисті вимені на ранніх стадіях інфікування *S. aureus* [13], тоді як на пізніх стадіях Т-супресори можуть пригнічувати активність Т-хелперів [12]. У мишей було виявлено, що у відповідь на дію внутрішньоклітинних патогенів активуються Т-хелпери 1-го типу, при цьому вивільняються певні розчинні фактори (цитокіни, такі як інтерферон- γ та інтерлейкін-2), в той час як відповідь на дію зовнішньоклітинних факторів, таких як токсини, активуються Т-хелпери 2-го типу, а серед медіаторів домінують цитокіни інтерлейкін-4 та інтерлейкін-10 [9]. Тут можна провести паралелі – *S. aureus* – патоген, що розвивається внутрішньоклітинно у нейтрофілах та макрофагах, і *E. coli*, що продукує зовнішньоклітинний ендотоксин. Інактивація деяких патогенів відбувається специфічними сенсibilізованими клітинами (набутий імунітет), в той час як у боротьбу з іншими патогенами більшою мірою вступають нейтрофіли і природні кілери. Дані клітини можуть безпосередньо брати участь у фагоцитозі або активувати інші компоненти, задіяні у процесі специфічної імунної відповіді.

Досить цікавою для майбутніх досліджень є роль TLR-рецепторів* і молекулярних структур мікроорганізмів при маститі ВРХ, беручи до уваги, що одні рецептори реагують на ендотоксин, що продукується Грам-негативними бактеріями, в той час як інша форма рецепторів регулює відповідь на дію Грам-позитивних бактерій [4]. Не дивлячись на те, що участь клітинних факторів у захисті вимені вже доведена, немає відповіді на питання, чи необхідно, щоб ці клітини були присутні у секреті молочної залози і чи готові до взаємодії з бактеріальною клітиною одразу після її проникнення до протоки дійки, чи достатньо клітин-ефекторів, які надходять з циркуляторного русла у вже інфіковану залозу. Можливо і тут все залежить від виду збудника, наприклад, відомо, що *E. coli* продукує значну кількість ендотоксину протягом перших 4-6 годин після інтервенції у залозу, а тому системний вплив токсину може бути досить швидким і значним. Встановлено, що мобілізація клітин починається через 4 години і досягає піку через 12 годин після інфікування. Інші патогени можуть продукувати токсини, які впливають на місцеві тканини, і тому патологічний ефект та імунна відповідь виникають значно пізніше. Іншими важливими факторами мобілізації імунних клітин у слизових оболонках є так звані міжклітинні адгезивні молекули кровоносних судин та клітини запалення. Нейтрофіли продукують β_2 інтегрин, який взаємодіє з міжклітинними адгезивними молекулами кровоносних судин і сприяє міграції клітин у товщу тканин. Важливість мобілізації і міграції клітин можна зрозуміти на прикладі синдрому дефіциту адгезивної здатності лейкоцитів у ВРХ, викликаного мутаціями молекули β_2 інтег-

* Відіграють важливу роль як в реакціях системи вродженого імунітету, так і в зв'язку систем вродженого і набутого імунітету. На початку 2007 р. доведено існування по меншій мірі, 11 різновидів таких рецепторів.

рину [16], при якому особини нездатні мобілізувати клітини у віддалених тканинах та органах, на фоні чого розвиваються множинні інфекції [7].

Загальноприйнятим фактом є те, що з огляду на якість молока значна КСК є небажаною з економічної точки зору [19]. Хоча багато досліджень продемонстрували лінійну залежність між величиною КСК та частотою клінічних маститів (тобто при зниженні КСК ймовірність виникнення клінічного маститу теж знижується [10], при цьому часто не брались до уваги особливості окремих збудників маститів. Існує небезпека, селекція ВРХ, направлена лише на виведення корів з низькою КСК, призведе до зниження рівня природної імунної відповіді, специфічної імунної відповіді або низької здатності до мобілізації клітин. Існує ряд генів, які відповідають за стійкість або сприйнятливість до маститів, але основним підґрунтям імунної відповіді організму є головний комплекс гістосумісності, відповідальний за ідентифікацію "свій-чужий", гени, що кодують TLR-рецептори і адгезивні молекули [15].

Втрата генетичного різноманіття пропорційна рівню інбридингу, а основним чинником залишається кількість батьківських особин кожної статі, а також той факт, наскільки популяція була піддана селекції [20]. Кількість компаній, які розводять ВРХ, як і кількість биків-плідників постійно зменшується і тому у всьому світі значно знижується генетичне біорізноманіття ВРХ. Слід дуже уважно вивчити вплив даного факту на сприйнятливості до захворювань в цілому та до маститу зокрема.

Отже слід відзначити, що соматичні клітини відіграють надзвичайно важливу роль у захисних механізмах вимені. Важливою є не загальна кількість цих клітин, а тип, підтип клітин, а також взаємодія та функціонування клітин, які впливають на результат патологічного процесу – одужання, розвиток інфекції чи навіть загибель тварини. Крім того, механізм активації імунних



Підготовка та аналіз проби молока

клітин значно різнитиметься в залежності від виду мікроорганізму. Досі невідомо, чи необхідно, щоб соматичні клітини були присутні у секретах та тканинах залози, чи вони можуть ефективно та успішно мігрувати із циркуляторного русла у відповідь на виникнення внутрішньоцистеральної інфекції. Схоже на те, що відповідь на це питання буде дана в результаті польових та лабораторних досліджень на коровах з природними, так і експериментальними маститами.

Література

1. Bachmann, M.F., and Kopf, M. (1999) The role of B cells in acute and chronic infections. *Curr. Opin. Immunol.* 11: 332-339.
2. Bramley, A.J., and Dodd, F.H. (1984) Reviews of the progress of dairy science: mastitis control-progress and prospects. *J. Dairy Res.* 51: 481-512.
3. Bradley, A.J., and Green, M.J. (2001) Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland. *J. Clin. Microbiol.* 39: 1845-1849.
4. Brightbill, H.D. and Modlin, R.L. (2000) Toll-like receptors: molecular mechanisms of the mammalian immune response. *Immunology*, 101: 1-10.
5. Dohoo, I.R., Meek, A.H., and Martin, S.W. (1984) Somatic cell counts in bovine milk: relationships to production and clinical episodes of mastitis. *Can. J. Comp. Med.* 48: 130-135.
6. Gaines, H., von Sydow, M.A., von Stedingk, L.V., Biberfeld, G., Bottiger, B., Hansson, L.O., Lundbergh, P., Sonnerborg, A.B., Wasserman, J. and Strannegard, O.O. (1990) Immunological changes in primary HIV-1 infection. *Aids* 4: 995-999.
7. Kishimoto, T.K., Larson, R.S., Corbi, A.L., Dustin, M.L., Staunton, D.E. and Springer, T.A. (1989) The leukocyte integrins. *Adv. Immunol.* 46: 149-182.
8. Miller, R.H., Paape, M.J. and Fulton, L.A. (1991) Variation in milk somatic cells of heifers at first calving. *J. Dairy Sci.* 74: 3782-3790.