

УДК 612.017:611.69

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2020.4.129

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ЛОКАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА В ТКАНЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Погодаева П.С., аспирант кафедры биохимии и физиологии ФГБОУ ВО «СПбГУВМ», ORCID: 0000-0001-7115-5921, Карпенко Л.Ю., д.б.н., профессор кафедры биохимии и физиологии ФГБОУ ВО «СПбГУВМ», ORCID: 0000-0002-2781-5993, Понамарёв В.С., ассистент кафедры фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО «СПбГУВМ», ORCID: 0000-0002-6852-3110

Ключевые слова: локальный иммунный ответ, молочная железа, тканевые макрофаги, грызуны, маститы. **Key words:** local immune response, mammary glands, tissue macrophages, rodents, mastitis



РЕФЕРАТ

В настоящий момент маститы крупного рогатого скота широко распространены, вследствие чего животноводческим хозяйствам наносится колоссальный экономический ущерб за счет снижения удоев и снижения качества молока, выбраковки коров, повышению заболеваемости телят и затрат на их лечение.

Другая, не менее важная проблема заключается в наличии ингибирующих веществ в молоке в процессе лечения животных при использовании комплексных антимаститных препаратов, содержащих комбинации различных групп антибиотических веществ. В связи с высокой резистентностью возбудителей мастита к действию антибиотиков, все большую актуальность в вопросе борьбы с маститом приобретают методы антигенной стимуляции.

В данной статье рассматриваются вопросы формирования локального иммунного ответа в молочных железах подопытных мышей.

В процессе исследования нами отмечалось увеличение количества антигенпрезентирующих клеток у мышей опытной группы по сравнению контрольной. Подсчет клеток проводился методом световой микроскопии в ста полях зрения. При этом среднее количество тканевых макрофагов в ста полях зрения у опытной группы равняется 70, а у контрольной группы 40, что почти в два раза меньше. Таким образом, можно сделать вывод что количество тканевых макрофагов повышается в результате воздействия вакцины, что свидетельствует об их иммунной активности.

Проведённые нами исследования позволяют раскрыть некоторые аспекты механизма действия изучаемого нами метода лечения маститов, что открывает дальнейшие перспективы рекомендации его к массовому использованию в ветеринарной практике, так как количество макрофагов у иммунизированных мышей опытной группы значительно превышает количество макрофагов у не обработанных мышей контрольной группы.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящий момент маститы крупного рогатого скота широко распространены, вследствие чего животноводческим хозяйствам наносится колоссальный экономический ущерб за счет снижения удоев и снижения качества молока, выбраковки коров, повышению заболеваемости телят и затрат на их лечение. [5]

Другая, не менее важная проблема заключается в наличии ингибирующих веществ в молоке в процессе лечения животных при использовании комплексных антимаститных препаратов, содержащих комбинации различных групп антибиотических веществ.[6,9]

В связи с высокой резистентностью возбудителей мастита к действию антибиотиков, все большую актуальность в вопросе борьбы с маститом приобретают методы антигенной стимуляции.[4] Преимуществом данного метода является отсутствие развития резистентности возбудителей, относительно длительный период защиты и отсутствие негативного воздействия на получаемую молочную продукцию.

В ходе изучения данных методов коррекции патологии были предложены и запатентованы уникальные методы локальной антигенной стимуляции молочной железы и доказана их высокая эффективность и преимущество над общей иммунизацией. [7,8] Однако сам механизм формирования локального иммунного ответа молочной железы до нынешнего момента так и не был изучен.

Главными звеньями формирования локального иммунитета молочной железы являются антигенпрезентирующие клетки – тканевые макрофаги (клетки Лангерганса), именно они предположительно воспринимают действие стафилококковой вакцины и индуцируют дальнейшую реакцию иммунной системы. [1,2]

Основные цели нашей работы:

Обнаружить тканевые макрофаги в молочной железе лактирующих мышей

Подсчитать количество макрофагов у мышей опытной и контрольной группы на разных этапах лактации

Сравнить показатели иммунизированных и не иммунизированных особей

Оценить изменения в количестве макрофагов на разных этапах лактации

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения эксперимента нами были приобретены клинически здоровые декоративные мыши. От них получили потомство, сгруппированное для получения беременных самок содержащихся в одинаковых условиях. Из них в свою очередь сформированы опытная (15 особей) и контрольная (6 особей) группы. Особи опытной группы за 5-7 дней до родов были обработаны фабричной стафилококковой вакциной (производство АО «Биомед» им. И.И.Мечникова), введенной подкожно в область молочных желез в дозировке 0.2 мл.

Отбор патологоанатомического материала проводился в три этапа для наблюдения динамики морфологических изменений молочной железы:

В начале первой недели лактации (5 опытных и 2 контрольных)

В начале второй недели лактации (5 опытных и 2 контрольных)

В начале третьей недели лактации (5 опытных и 2 контрольных)

Мышей усыпляли, согласно принципам биоэтики [3], введением подкожно препарата «Листенон» в дозировке 2 мл, после чего скальпелем рассекали кожу вдоль белой линии живота и отделяли пакеты молочных желез.

Из полученного материала приготовили мазки-отпечатки и окрасили их по Поппенгейму, используя готовые красители Майн-Грюнвальда и Романовского-Гимзе. Фрагменты молочных желез были помещены в пластиковые контейнеры с формалином для дальнейшего проведения гистологического исследования. [7,10]

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В молочной железе лактирующих мышей нами были обнаружены тканевые макрофаги (рис. 1,2)

Тканевые макрофаги также были обнаружены и в гистосрезках (рис. 3,4).

В ходе микроскопии полученных гисто-

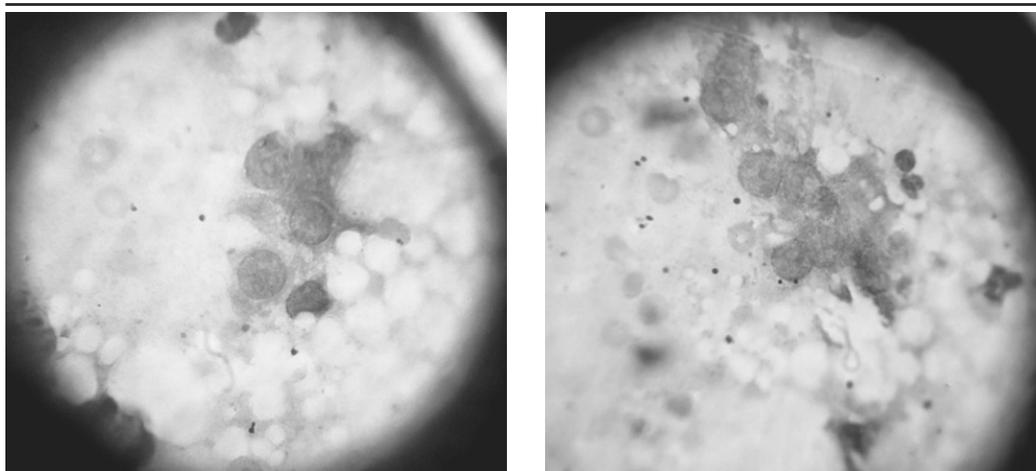


Рис. 1,2. Клетки макрофагальной природы в мазках отпечатках молочной железы мышей, иммунизированных стафилококковой вакциной, Окраска по Поппенгейму, увеличение $\times 100$ под иммерсией.

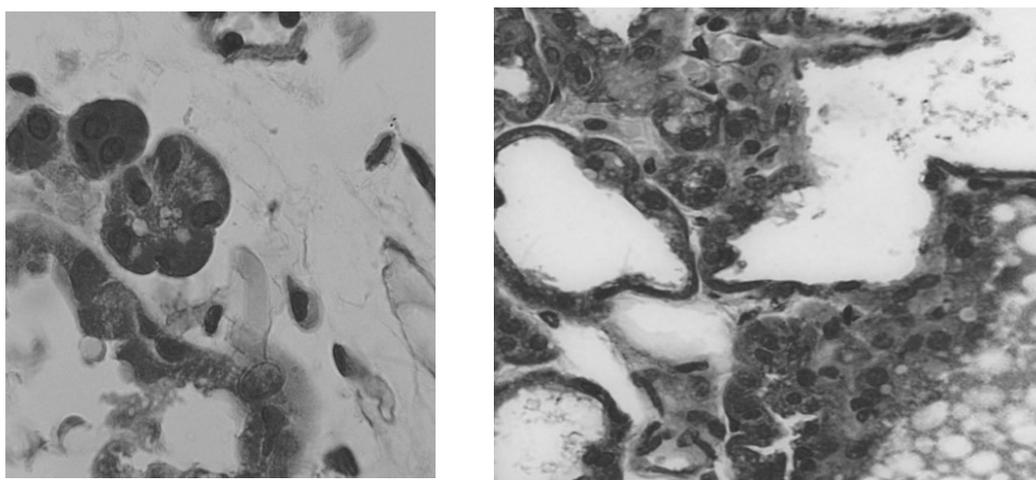


Рис. 3,4. Клетки макрофагальной природы в гистосрезках молочной железы мышей иммунизированных стафилококковой вакциной, Окраска по гематоксилин-эозином, увеличение $\times 80$.

логических препаратов молочной железы мышей наблюдается следующая картина:

В препаратах молочной железы первой и второй недель лактации ткань состоит из долек, состоящих из скопления жировых клеток, которые разделены прослойками рыхлой соединительной ткани, альвеолы заполнены секретом. Стенка молочной альвеолы состоит из лактоцитов и звёздчатых миоэпителиоцитов. Сна-

ружи альвеола покрыта базальной мембраной. Лактоциты во время лактации приобретают низко кубическую форму, ядро лактоцитов круглое, соединяются лактоциты друг с другом с помощью плотных контактов и десмосом. На апикальной поверхности лактоцитов присутствуют микроворсинки, а в цитоплазме накапливаются включения – сферические капельки различных размеров, содержа-

щие преимущественно триглицериды. Миоэпителиоциты (звёздчатые клетки) находятся между базальной мембраной и основанием лактоцитов, охватывая секреторные клетки пальцевидными выростами. Ядра миоэпителиоцитов тёмные палочковидные, в цитоплазме содержатся актиномиозиновые комплексы.

Клетки, образующие млечный альвеолярный ход, лежат в один слой, содержат меньшее количество цитоплазмы.

Млечные альвеолярные ходы переходят в разветвлённые внутридольковые протоки, затем в междольковые протоки. Протоки выстланы кубическим и призматическим эпителием.

В некоторых полях зрения обнаруживаются искомые тканевые макрофаги (клетки Лангерганса). Они представляют собой крупные клетки диаметром 15-80 мкм, неравномерно распределённые в ткани, неправильной формы, зачастую имеющие множественные отростки.

Ядра овальные или продолговатые, часто наблюдаются клетки, имеющие несколько ядер; хроматин неплотный, локализован под ядерной оболочкой. Цитоплазма обильная, без четких границ с большим количеством эндоплазматических включений: эндоцитозных микровезикул, вакуолей и лизосом, придающих клетке пенный вид. В некоторых клетках можно наблюдать характерные для клеток Лангерганса включения – гранулы Бирбека, напоминающие по форме теннисные ракетки.

В препаратах третьей недели лактации кубический эпителий становится более высоким, увеличивается количество рыхлой соединительной ткани, уменьшается количество секрета. Начинается процесс постепенного замещения секреторного эпителия жировой тканью. Клетки макрофагальной природы встречаются реже, чем в препаратах, полученных в первые две недели лактации.

В контрольных образцах общая гистологическая структура молочной железы сходна со структурой опытных образцов, однако клетки Лангерганса встречаются реже и сложнее поддаются дифференцировке.

В процессе исследования нами отмечалось увеличение количества данных клеток у мышей опытной группы по сравнению с контрольной. Подсчет клеток проводился методом световой микроскопии в ста полях зрения. При этом среднее количество макрофагов в ста полях зрения у опытной группы равняется 70, а у контрольной группы 40, что почти в два раза меньше. Таким образом, можно сделать вывод, что количество тканевых макрофагов повышается в результате воздействия вакцины, что свидетельствует об их иммунной активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённые нами исследования позволяют раскрыть некоторые аспекты механизма действия изучаемого нами метода лечения маститов, что открывает дальнейшие перспективы рекомендации его к массовому использованию в ветеринарной практике, так как количество макрофагов у иммунизированных мышей опытной группы значительно превышает количество макрофагов у не обработанных мышей контрольной группы.

SOME ASPECTS OF THE LOCAL IMMUNE RESPONSE IN BREAST TISSUE
POGODAEVA P.S., PHD STUDENT,
KARPENKO L. YU., DR. HABIL. (VET. SCI.), PROFESSOR, , PONAMAREV V.S., ASSISTANT, ST. PETERSBURG STATE UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE
ABSTRACT

Currently, mastitis in cattle is widespread, as a result of which cattle farms are inflicted colossal economic damage due to a decrease in milk yield and in milk quality, culling of cows, an increase in the incidence of calves and the cost of their treatment.

Another, no less important problem is the presence of inhibitory substances in milk during the treatment of animals when using complex anti-mastitis preparations containing combinations of various groups of antibiotic substances. In connection with the high resistance of mastitis pathogens to the action of antibiotics, antigenic stimulation methods are becoming increasingly important in the fight against mastitis.

This article discusses the formation of a local immune response in the mammary glands of experimental rats.

During the study, we noted an increase in the number of antigen presenting cells in mice of the experimental group compared to the control. Cells were counted by light microscopy in a hundred fields of view. At the same time, the average number of macrophages in one hundred fields of vision in the experimental group is 70, and in the control group 40, which is almost two times less. Thus, it can be concluded that the number of tissue macrophages increases as a result of exposure to the vaccine, which indicates their immune activity.

Our researches allow us to reveal some aspects of the mechanism of action of the studied method of treating mastitis, which opens further prospects for recommending it for mass use in veterinary practice, since the number of tissue macrophages in immunized mice of the experimental group significantly exceeds the number of macrophages in untreated mice of the control group.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев Н.П., Боголюбова И.О., Карпенко Л.Ю. Физиология и этология животных. Учебник и практикум для среднего профессионального образования в 3 частях. 2-е издание, исправленное и дополненное. - Том. Часть 1. Регуляция функций, ткани, кровеносная и иммунная системы, пищеварение. / Н.П. Алексеев, И.О. Боголюбова, Л.Ю. Карпенко // Москва: ООО «Издательство ЮРАЙТ». – 2020. – 281 с.;
2. Боголюбова И.О. и др. Физиология и этология животных в 3 ч. Часть 1. Регуляция функций, ткани, кровеносная и иммунная системы, пищеварение. Учебник и практикум / И.О. Боголюбова, Н.П. Алексеев, Л.Ю. Карпенко, В.Г. Скопичев // Москва: ООО «Издательство ЮРАЙТ». – 2018. – 284 с.;
3. Герасимов С.В. и др. Анализ нормативных документов, регламентирующих требования к проведению доклинических исследований ветеринарных препаратов / С.В. Герасимов, В.С. Понамарёв, Н.Л. Андреева, А.М. Лунегов, О.С. Попова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - СПб, 2020. - №3. – С.27-29;
4. Гусева В.А. и др. Применение тромбоцитарной аутоплазмы для лечения маститов у молочных коров / В.А. Гусева, Б.С. Семенов, Е.В. Рыбин, Т.Ш. Кузнецова // Известия международной академии аграрного образования. – СПб, 2018. - № 42-2. – С. 91-98;
5. Ладанова М.А. Распространение мастита у коров / М.А. Ладанова // Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых: Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны. – СПб, 2018. – С. 131-132;
6. Маркосян К.Р., Гаврилов Б.В. Меры профилактики мастита у коров / К.Р. Маркосян, Б.В. Гаврилов // Вестник научно-технического творчества молодежи кубанского ГАУ. – Краснодар, 2017. – С. 49-52;
7. Понамарёв В.С. и др. Изучение реакции иммунных комплексов, развивающейся в ответ на введение препарата «Гепатон» лабораторным животным / В.С. Понамарёв, Е.С. Королёва, А.В. Кострова, К.Д. Русакова // Сборник материалов Международной научно-практической конференции: Перспективы развития отрасли и предприятий АПК: отечественный и международный опыт. – Омск, 2020. – С. 218-220;
8. Скопичев В.Г., Лаптев Г.Ю., Племяшов К.В., Щепеткина С.В. и др. Мастит: физиология, этиология, профилактика, диагностика, лечение / В.Г. Скопичев, Г.Ю. Лаптев, К.В. Племяшов, С.В. Щепеткина // Санкт-Петербург: Издательство ФБГОУ ВО СПбГАВМ, 2017 – С. 168-173
9. Бахта А.А., Карпенко Л.Ю., Взаимосвязь белкового обмена и состояния печени у коз зааненской породы в зависимости от месяца сукозности/Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2015. - №3, с.112-114.
10. Андреева А.Б. Карпенко Л.Ю., Бахта А.А., Особенности состояния иммунной системы жеребых кобыл//Российский иммунологический журнал, 2013 Т.7 №2-3, с. 182