

УДК 612.62:612.017.11

СОСТОЯНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ПОТЕНЦИАЛА ФАГОЦИТОВ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ У КОШЕК

Н. Н. Желавский, И. Н. Шунин

Подольский государственный аграрно-технический университет
г. Каменец-Подольский, Хмельницкая область, Украина
(32300, Украина, Хмельницкая область, г. Каменец-Подольский
ул. Шевченка, 13; e-mail: docgmm@mail.ru)

Ключевые слова: кошки, половая система, локальный иммунитет, клеточный гомеостаз, нейтрофильные гранулоциты, цитохимическая реактивность, НСТ-тест.

Аннотация. В статье приведены результаты экспериментальных исследований изучения состояния клеточного звена локальной иммунной защиты репродуктивных органов у кошек. Определено, что противомикробный потенциал фагоцитарных клеток активно реализуется через кислородзависимые механизмы защиты. Цитохимическая реактивность праймированных фагоцитарных клеток проявлялась на I и II уровне. Исследованиями определена корреляционная связь между цитологическим индексом и количеством микрофагов с активированным цитохимическим (противомикробным) потенциалом, что указывает на частичную праймеризацию клеточного звена неспецифической иммунной защиты. Активированные фагоциты проявляли активную адгезию и фагоцитирование эпителиоцитов и апоптотных микрофагов. По результатам исследований проведена интерпретация и сделаны выводы о перспективах применения цитохимических исследований в комплексной оценке противомикробного потенциала фагоцитарных клеток для клинической оценки и прогнозирования развития репродуктивной патологии у мелких домашних животных.

THE STATUS OF ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF PHAGOCYTES GENITALS OF CATS

M. M. Zhelavskiy, I. M. Shunin

State Agrarian and Engineering in Podilya, Kamianets-Podilskiy
Khmelnyskiy province, Ukraine
(Ukraine, Khmelnyskiy province, Kamianets-Podilskiy, 32300
13 Shevchenko st.; e-mail: docgmm@mail.ru)

Key words: cat, reproductive system, local immunity, cellular homeostasis, neutrophilic granulocytes, cytochemical reactivity, NBT-test.

Summary. The results of experimental studies examine the state of the cellular component of the local immune defense of the reproductive organs in cats. It has been determined that the antimicrobial potential of phagocytic cells actively imple-

mented through Oxygen-dependent mechanisms of protection. Cytochemical reactivity priming phagocytic cells was shown on the I and II level.

The study identified a correlation between the cytological index and the number of macrophages activated cytochemical (antimicrobial) potential, indicating a partial reactive cell component of innate immune defense.

The activated phagocytes are also active adhesion and phagocytosis of epithelial cells and macrophages apoptosis. According to the results of research done by the interpretation, and the conclusions and recommendations on the application of cytochemical studies in a comprehensive assessment of the antimicrobial potential of phagocytic cells and for predicting clinical evaluation of reproductive diseases in small animal

(Поступила в редакцию 02.06.2017 г.)

Введение. Система иммунной защиты животных сформировалась в процессе длительного эволюционного развития [1, 2]. Со дня открытия феномена фагоцитоза И. И. Мечниковым уже прошло более века. Невзирая на это ученые разных стран мира продолжают проводить всестороннее исследование клеточных факторов защиты иммунной защиты, а также изучение взаимодействия иммунокомпетентных клеток при реализации иммунного ответа [3-5].

Система локальной иммунной защиты органов размножения животных имеет сложное онтогенетическое развитие, которое четко подчинено генетической детерминации и нейрогуморальным механизмам регуляции [6-9]. В современных научных изданиях появляется все больше данных о роли фагоцитов в индукции цитокинов, синтеза пептидов и различных медиаторов, а также их роль как при формировании иммунного гомеостаза, так и в запуске каскада воспалительной реакции [3, 5, 8, 10]. На сегодняшний день центральным объектом исследований является изучение механизмов реализации противомикробной защиты фагоцитарных клеток (экскреция противомикробных соединений, формирование защитных ловушек и др.) [5, 8, 11, 12].

По данным многих исследователей, возникновение и развитие репродуктивной патологии у животных (вагинит, эндометрит, пиометра) часто возникает на фоне иммунологических нарушений [3, 7, 12, 15].

Цель работы: исследовать функциональное состояние фагоцитарных клеток, а также изучить их роль в формировании иммунного гомеостаза в системе локальной защиты органов размножения у кошек.

Материал и методика исследований. Клинико-экспериментальные исследования проводили на кошках в возрасте от 2 до 8 лет разных пород. Лабораторные опыты проводили в специализированной лаборатории репродукции животных Подольского государственного аграрно-технического университета, основанной доктором биологических наук,

профессором, член-корреспондентом НААН Украины В. А. Яблонским. При иммунологическом исследовании определяли клеточный состав и функциональное состояние фагоцитарных клеток. Цитохимическими исследованиями определяли состояние противомикробной реактивности кислородзависимого механизма защиты нейтрофильных гранулоцитов в реакции с нитросиним тетразолием (НСТ +) (Н. Н. Желавский, И. Н. Шунин, 2016) [11, 12]. При этом определяли общий процент реактивных фагоцитов (НСТ +), индекс активации фагоцитарной реактивности нейтрофилов (ИАН), цитологический индекс реактивности противомикробного потенциала клеток (ЦЛИ). При биометрической обработке массива данных использовали статистический софт Statistica v.10.

Результаты исследований и их обсуждение. Цитологическими исследованиями определено, что клеточный состав слизистой оболочки влаглянца кошек в стадию метэструса в основном представлен промежуточными и парабазальными эпителиальными клетками. В цитогамме микропрепарата общая доля нейтрофилов составляла $14,70 \pm 0,68\%$. Нейтрофильные гранулоциты локализовались одиночно или в группах, имели четко выраженное сегментоядерное ядро и цитоплазму.

Как известно, нейтрофильные гранулоциты способны активировать клеточное звено иммунной защиты (Th1, Th2), а также обеспечить координацию взаимодействия гуморального и клеточного звеньев иммунитета. Нейтрофилы в периферическом кровеносном русле находятся приблизительно 6-10 ч, а затем попадают в ткани, где и выполняют свою эффекторную функцию [12-15]. Праймированные фагоцитарные клетки способны уничтожать патогенных агентов как при непосредственной их атаке (киллинга) путем поглощения и переваривания, так и с помощью активации метаболической реактивности и экстрацеллюлярным выбросом противомикробных соединений. Такое явление в научной литературе получило название «респираторный взрыв» («*respiratory burst*»). При этом в фагоцитах происходит биохимическая активация гексозомонофосфатного шунта и фагосомальной НАДФ•Н-оксидазы. Эта метаболическая реакция происходит на фоне возрастающего (в десятки раз) потребления клеткой глюкозы и кислорода.

НАДФ Н-оксидаза преобразует O_2 в супероксидный анион (O_2^-). В дальнейшем с участием супероксиддисмутазы образуются другие активные формы кислорода (H_2O_2 , OH , 1O_2 и др.), которые выбрасываются фагоцитом во внеклеточное пространство. Все это сопровождается запуском каскада других иммунобиологических реакций (синтез хемотакси-

ческих пептидов, медиаторов, IL и др.) [1, 7, 15]. Цитохимическими исследованиями кислородзависимого механизма фагоцитарной защиты клеток слизистой оболочки в реакции нитросиним тетразолием определено, что фагоциты принимают активное участие в реализации противомикробной защиты. Общее количество НСТ+ фагоцитарных клеток в исследованных микропрепаратах составило $21,35 \pm 0,86\%$. В цитоплазме реактивных фагоцитов четко визуализировались гранулы диформаза (рисунок 1).

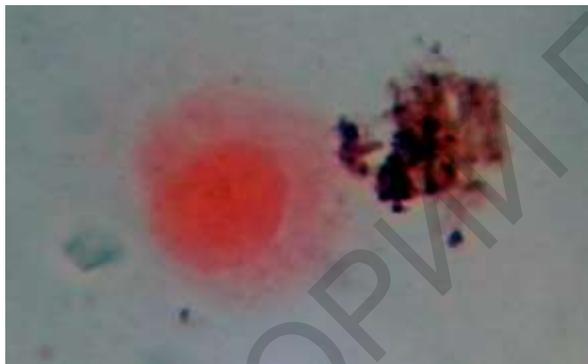


Рисунок 1 □ Микрофотоизображение. Метаболическая реактивность нейтрофильного гранулоцита в реакции НСТ (x 2500)

При этом также определено, что интенсивность противомикробного потенциала праймированных нейтрофилов в основном проявляется на I и II уровнях реактивности, что четко прослеживается на диаграмме (рисунок 2).

Статистическими исследованиями также определена положительная корреляция (рисунок 3) между цитологическим индексом и количеством микрофагов с активированным цитохимическим (противомикробным) потенциалом. Все это указывает на частичную праймеризацию клеточного звена неспецифической иммунной защиты.

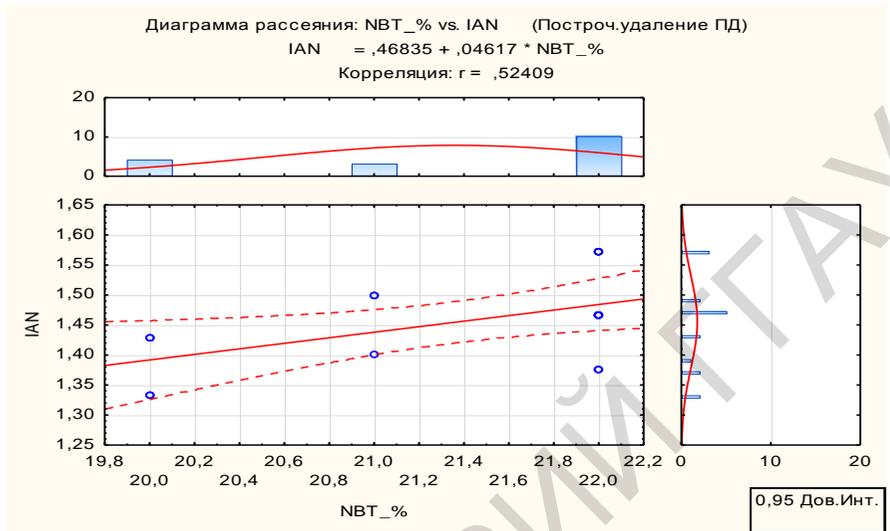


Рисунок 2 – Корреляционная связь ИАН и НСТ+

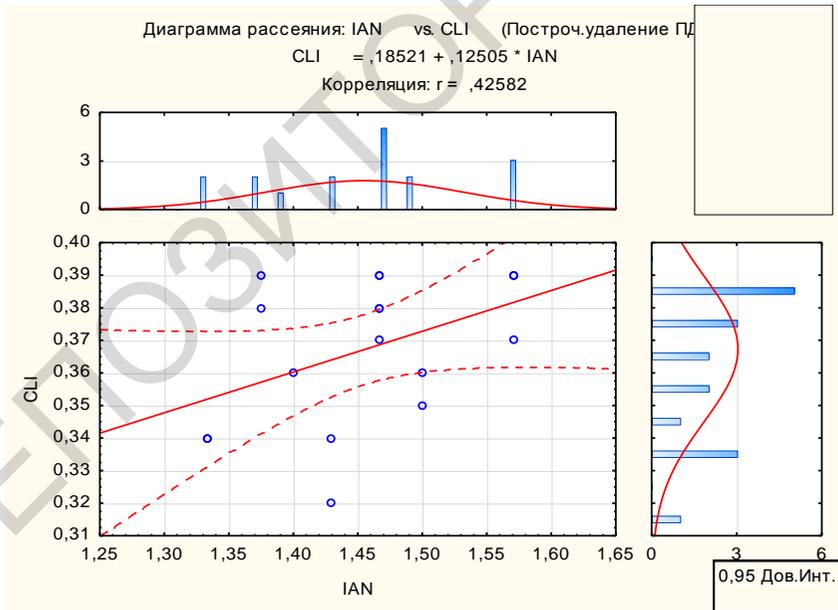


Рисунок 3 – Корреляционная связь между ЦЛИ и ИАН

В последнее время исследователей все больше привлекает внимание роль фагоцитарных клеток в формировании микробиоценоза и регуляции клеточного гомеостаза слизистых оболочек [15-19]. В наших опытах часто были идентифицированы реактивные фагоцитарные клетки, которые осуществляли адгезию эпителиоцитов и апоптозных нейтрофилов. Этот феномен подводит нас к гипотезе, что функциональное состояние эпителиальных клеток и нейтрофилов, а также регуляция их апоптоза может происходить под воздействием иммунокомпетентных клеток и их соединений (пептидов, медиаторов и других биологически активных соединений), что будет последующим этапом исследований.

Заключение. Таким образом, можно сделать вывод, что в цитограмме слизистой оболочки влагалища кошек в период метэструса в основном преобладают промежуточные и парабазальные эпителиальные клетки. Клеточное звено локальной защиты неспецифического иммунитета представлена фагоцитами. Общее количество нейтрофилов в цитограмме составляет $14,70 \pm 0,68\%$. Интенсивность противомикробного потенциала кислородзависимого механизма защиты нейтрофилов проявляется на I и II уровнях цитохимической реактивности. Цитохимические исследования необходимо проводить при комплексном тестировании локальной иммунной системы органов размножения животных, что даст возможность объективно оценить состояние клеточного звена иммунитета, диагностировать субклинические проявления репродуктивной патологии и прогнозировать риск возникновения осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Michael, J. *Clinical Immunology of the Dog and Cat / Revised And Updated* J. Michael. © Day Second Edition Copyright: Manson Publishing Ltd., 2012. © 449 p.
2. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології [Яблонський В. А., Хомин С. П., Калиновський Г. М., Харута Г. Г., Харенко М. І., Завірюха В. І., Любецький В. Й.] ; за ред. В. А. Яблонського та С. П. Хомина : підруч. [для підготовки фахівців навч. закл. III-IV рівнів акредитації]. © Вінниця : Нова книга, 2006. © 592 с.
3. Ignacio, G. Toll-like receptor expression in feline lymphoid tissues / G. Ignacio, S. Nordone, K. E Howard [et al.] // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. © 2005. © Vol. 106. © P. 229-237.
4. Kjelgaard-Hansen, M. Measurement of serum interleukin-10 in the dog / M. Kjelgaard-Hansen, M. Luntang-Jensen, J. Willesen [et al.]. // *Veterinary Journal*. © 2007. © Vol. 173 © P. 361-365.
5. Jursza-Piotrowska, E. Siemienuch Identifying diagnostic endocrine markers and changes in endometrial gene expressions during pyometra in cats / E. Jursza-Piotrowska, J. Marta // *Reprod. Biol.* © 2016. © N 8. © Vol. 16(2). © P. 174-180.
6. Кузьмич, Р. Г. Клиническое акушерство и гинекология животных / Р. Г. Кузьмич. – Витебск. © 2002. – 313 с.

7. Jursza-Piotrowska, E. Prostaglandin release by cultured endometrial tissues after challenge with lipopolysaccharide and tumor necrosis factor α , in relation to the estrous cycle, treatment with medroxyprogesterone acetate, and pyometra / E. Jursza-Piotrowska, P. Socha, Dariusz Jan Skarzynski [et al.] // *Theriogenology*. 2016. N 10. Vol. 85(6). P. 1177-1185.
8. Jursza-Piotrowska, E. Siemieniuch Identifying diagnostic endocrine markers and changes in ndometrial gene expressions during pyometra in cats / E. Jursza-Piotrowska, J. Marta // *Reprod. Biol.* 2016. N 8. Vol. 16(2). P. 174-180.
9. William, A. Commensal Bacteria Modulate Innate Immune Responses of Vaginal Epithelial Cell Multilayer Cultures / A. William, I. I. Rose, C. L. McGowin [et al.] [electron reassures] <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0032728>
10. Zhelavskiy, M. Cell factors' condition of local immunity of vaginas mucosa in cats / M. Zhelavskiy, I. Shunin // *Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytskyj*. 2016. N. 1. Vol. 18. P. 32-36.
11. Спосіб оцінювання локального імунітету статевих органів у тварин: пат. 109040 Україна. № у 201601190; винахідники та власники Желавський Микола Миколайович, Шунін Ігор Микитович; заявл. 11.02.2016; опубл. 10.08.2016, Бюл. № 15.
12. Желавський, М. М. Особливості системного та локального імунітету у період вагітності : методичні вказівки. Подільський державний аграрно-технічний університет. Кам'янець-Подільський, 2016. 22 с.
13. Batista-Arteaga, M. Segmental atresia of the uterus associated with hydrometra in a ferret / M. Batista-Arteaga, D. Alamo, P. Herraes [et al.] // *Vet. Rec.* 2007. Vol. 161. P. 759-760.
14. Fontbonne, A. Hyperplasie glandulo-kystique/pyométre Guide pratique de reproduction canine et féline / A. Fontbonne, X. Levy, E. Fontaine, C. Gilson Paris, MED'COM, 2007. 272 p.
15. Payan-Carreira, R. Oestrogen receptors in a case of hydrometra in a bitch / R. Payan-Carreira, J. Pina, M. Costa [et al.] // *Vet. Rec.* 2015. Vol. 158. P. 487-489.
16. Pena, F. J. Endometrial Adenocarcinoma and Mucometra in a 6-year-old Alaska Malamute Dog / F. J. Pena, J. A. Gines, J. DUQUE [et al.] // *Reprod. Dom. Anim.* 2006. Vol. 41. P. 189-190.
17. Pretzer, S. D. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: A review / S. D. Pretzer // *Theriogenology*. 2008. Vol. 70. P. 359-363.
18. Кузьмич, Р. Г. Гиперплазия эндометрия и пиометра у сук : монографія / Р. Г. Кузьмич, С. В. Миرونчик ; Учреждение образования «Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины». Витебск : ВГАВМ, 2013. 214 с.
19. Желавський, М. М. Перспективи дослідження клітинних факторів локального імунітету слизових оболонок статевих органів кішок / М. М. Желавський, І. М. Шунін // Збірник матеріалів XV Міжнародної науково-практичної конференції професорсько-викладацького складу та аспірантів «Проблеми ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва» факультету ветеринарної медицини. К. : НУБІП України, 2016. С. 36-37.