

КЛІТИННИЙ ТА ГУМОРАЛЬНИЙ ІМУНІТЕТ

Свійські тварини існують у зовнішньому середовищі, насиченому чисельним різноманіттям патогенних мікроорганізмів – вірусів, бактерій, грибів, паразитів. Ці мікроорганізми за неконтрольного розмноження у тканинах організму здатні не тільки викликати захворювання, але й стати причиною загибелі тварин.

Проте за нормального функціонування організму більшість інфекцій має короткотривалий перебіг і без негативних наслідків. Це пояснюється тим, що організм має широкий арсенал факторів протиінфекційної резистентності та форм імунної відповіді (Ian R. Tizard, 2004; А.Ю. Вершигора, Є.У. Пастер, Д.В. Колибо та ін., 2005).

Імунна відповідь включає два механізми: розпізнавання збудника та розгортання ланцюга реакцій спрямованих на його знешкодження. Її можна розділити на два типи: уроджену та придбану.

Імунна система ссавців функціонує як саморегулююча система, в якій гени імунного розпізнавання кодують синтез білків і активність лімфоїдних клітин, що зберігають незмінність тих же білків.

Імунну відповідь здійснюють перш за все лейкоцити, які представлені декількома різновидами.

Фагоцити (уроджений імунітет). Одну із важливих груп лейкоцитів складають фагоцитуючі клітини і моноцити, макрофаги, поліморфоядерні нейтрофіли. Фагоцити утворюють першу лінію захисту проти інфекції.

Інша важлива група лейкоцитів – це лімфоцити. Їм належить провідна роль у всіх реакціях придбаного імунітету.

Лімфоцити розрізняються як за розмірами (діаметр 6-10 мкм), так і за морфологією. Варіюють розміри і форми ядра та співвідношення величини ядра / цитоплазми.

Існують різні типи лімфоцитів, але основних популяцій дві: Т-лімфоцити (Т-клітини) та В-лімфоцити (В-клітини). Останні, протидіючи мікробам, утворюють антитіла.

Від 5 до 15% циркулюючих з кров'ю лімфоїдних клітин – це В-клітини, що виявляються за наявністю поверхневих імуноглобулінів. Молекули імуноглобулінів синтезуються конститутивно: вони вмонтовані у цитоплазматичну мембрану клітини і функціонують як антигенспецифічні рецептори. Такі рецептори можна визначити на клітинній поверхні, використовуючи мічені флуорохромом антитіла до імуноглобуліну.

Кожна В-клітина генетично запрограмована на синтез поверхневого

рецептора специфічного до одного визначеного антигену. Контактуючи з антигеном В-клітини розмножуються і диференціюються у плазматичні клітини, які утворюють і виділяють у розчинній формі велику кількість таких рецепторних молекул, що мають назву антитіла. Антитіла представляють собою крупні глікопротеїни і знаходяться у крові і тканинній рідині.

Імуноглобуліни відкрив Пауль Ерліх у кінці XIX ст. Він виявив у плазмі крові особливі білки, здатні нейтралізувати мікробні тіла (звідти назва – антитіла, тобто фактори протимікробних тіл).

Але термін «імуноглобуліни» запропонував Дж. Херсманс у 1959 р. Назва виявилась вдалою, оскільки об'єднувала у себе як структурну, так і функціональну характеристику антитіл.

Пізніше Дж. Едельман і Р. Портер (1972) розшифрували хімічну будову антитіл.

Питання про те, чи можна підвищити чутливість до антигену органу чи окремої тканини не змінюючи при цьому загальної реактивності організму, давно цікавив дослідників. Ще у 1891 році П. Ерліх доказав можливість функціонування локального імунітету.

Чисельні імунобіологічні реакції, пов'язані з репродукцією, мають локальний характер, тобто розвиваються у строго визначених ділянках материнського організму чи плодово-материнських утвореннях. До них відносяться – реакція на фертилізацію регіональних лімфатичних вузлів, імунобіологічна діяльність плаценти, молочної залози.

У слизовій оболонці статевих органів багато плазматичних клітин. Можливо вони мігрують із кісткового мозку, регіональних і віддалених лімфовузлів, а також лімфатичними шляхами із грудної протоки. Гіпотеза про місцеву продукцію імуноглобулінів основана на спостереженнях про синтез антитіл слизовими оболонками, що межують із зовнішнім середовищем.

Гіпертрофія секреторного епітелію молочної залози під час вагітності супроводжується вираженою інфільтрацією інтерстиціальних тканин мононуклеарними клітинами лімфоїдного ряду, яка знижується після родів. Синтез імуноглобулінів, що здійснюється місцевими лімфоїдними елементами, відносно незалежний від загальної гуморальної відповіді (Н. Korhonen, P. Marnilla, H.S. Gill, 2000).

Паралельно з певними особливостями необхідно розглядати імунологію репродукції, молочної залози у варіантах аналізу еволюції не тільки захисних, але й процесів творення та формування.

Тісний зв'язок між біологічною перебудовою та імунологічним статусом при вагітності визначили необхідність сукупного аналізу імунобіологічної природи багатьох процесів – від визрівання гамет до неонатального пе-

ріоду. Опосередкованим органом тут є молочна залоза. У пізньому антенатальному та постнатальному періодах молочна залоза виконує особливу імунологічну функцію.

Колостральний імунітет

Колостральний (молозивний) імунітет (*colostrum* – *молозиво*) – вид пасивного природного штучно набутого імунітету новонароджених тварин. Він формується в організмі тварин після надходження до нього специфічних антитіл, Т-цитотоксичних лімфоцитів, тобто реалізується при передачі новонародженій тварині факторів імунного захисту матері при випоюванні молозива і має особливе значення в адаптації новонароджених до позаутробного розвитку. Адже у новонароджених тварин у перші дні життя природня резистентність недостатньо виражена і захист організму від несприятливих факторів навколишнього середовища забезпечується за рахунок імуноглобулінів, які надходять в організм через плаценту в антенатальний період (трансплацентарний імунітет) і з молозивом у постнатальний період (колостральний імунітет) (Д.О. Мельничук, М.І. Цвіліховський, Т.В. Любецька та ін., 2001; В.В. Лисицын, А.В. Мищенко, А.В. Кононов и др., 2006).

Колостральні імуноглобуліни характеризуються високою здатністю до гемолізу, бактеріолізу, опсонізації та мають вирішальне значення у профілактиці колісепсису, а імуноглобуліни класу G мають значний нейтралізуючий вплив на токсини і віруси.

Передача нащадкам імунітету з молозивом відбувається неоднаково у різних видів тварин і змінюється залежно від участі у тому ж процесі плаценти (J.D. Quigley, J.J. Drewry, 1998).

Для тварин з епітеліохоріальним (коні, свині) і синдесмохоріальним (жуйні) типом – плаценти взагалі непроникні для імуноглобулінів, тому в цьому випадку передача новонародженим антитіл з молозивом є єдиним шляхом імунізації.

Як епітеліохоріальна, так і синдесмохоріальна плаценти мають найбільшу кількість бар'єрних шарів (6 та 5). Плацента таких типів непроникна для крупномолекулярних білків, у тому числі для імуноглобулінів. Як наслідок телята, лошата, ягнята, козенята, поросята народжуються із явищами агамаглобулінемії і отримують імуноглобуліни пасивно лише при випоюванні їм материнського молозива (табл. 1).

У собак та котів, що мають ендотеліальний тип плаценти (4 бар'єрних шари), трансплацентарно передається лише 5-10% від усієї кількості імуноглобулінів. З огляду на це, новонароджені цуценята та кошенята практично позбавлені або отримують лише незначну частину трансплацентарних анти-

Клітинні шари плаценти різних типів

Тип плаценти	Клітинні шари материнської плаценти			Клітинні шари фетальної плаценти		
	Ендотелій, капілярів, крипти	Сполучна тканина	Епітелій, що вистилає крипту	Епітелій ворсинки	Сполучна тканина	Ендотелій капілярів ворсинки
Епітеліохоріальна	+	+	+	+	+	+
Синдесмохоріальна	+	+	-	+	+	+
Ендотеліохоріальна	+	-	-	+	+	+
Гемохоріальна	-	-	-	+	+	+

тіл матері. Вирішальне значення для імунного захисту новонароджені цуценята та кошенята відіграють антитіла отримані ними при споживанні молозива.

Плацента кролів відноситься до гемохоріального типу (3 бар'єрних шари), що не перешкоджає прямому проникненню материнських антитіл у кров плода. Формування колострального імунітету у згаданих тварин відбувається за такими ж принципами, що й в інших видів ссавців, хоча його роль у забезпеченні стійкості новонароджених до інфекційних захворювань недостатньо вивчена.

Тривалість колострального імунітету у різних тварин неоднакова і коливається від кількох годин до кількох тижнів. Зумовлене це тим, що імуноглобуліни можуть всмоктуватись у кишечнику у незмінному вигляді в перші години після народження. У наступному формується бар'єрна реакція слизової оболонки та ферментативна система апарату травлення, внаслідок чого інтенсивність всмоктування імуноглобулінів у кишечнику зменшується, що знижує їх концентрацію в організмі. Тим паче, що організм новонароджених уже формує свій власний клітинний імунітет.

Імунологічне призначення материнського молозива, молока не обмежується тільки завданнями адаптивного імунітету, можливо у ньому існує й елемент імунологічного виховання, відгуки якого так чи інакше прослідковуються протягом всього життя індивіда (S. Godden, 2008; B. Lang, 2008).

Характеристика імуноглобулінів

У молозиві тварин є імуноглобуліни, що надходять із кровотоку та ті, що продукуються у молочній залозі. Тут, як і у сироватці крові, присутні всі класи імуноглобулінів, основні з них IgG, IgA, IgM, а також компоненти компліменту, лактоферин, лізоцим, хемостатичний фактор та фактори, що подавляють міграцію макрофагів, стимулюючи синтез інтерферону.

У корів, овець, кіз, кролів імуноглобуліни сироватки крові переходять у молозиво не змінюючись. При цьому концентрація їх не узгоджується із законами простої дифузії, так як вміст імуноглобулінів у молозиві вище у рази, ніж у сироватці крові.

Імуноглобуліни класу G (IgG). Складають основну масу, на їх частку припадає 70-80% всіх імуноглобулінів. Клас IgG має 4 підкласи (IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄), що відрізняються ефекторними функціями, специфічністю. Відносний їх вміст: IgG₁ – 70%, IgG₂ – 20%, IgG₃ – 6%, IgG₄ – 4%. До імуноглобулінів класу G відносяться антитіла проти більшості антигенів різної природи. IgG створює новонародженим телятам захист від широкого спектру чужорідних агентів: бактерій, вірусів, токсинів тощо; разом з IgA упереджує контамінацію слизової оболонки кишечника вірулентними *E. coli* та іншими бактеріями.

Імуноглобуліни класу A (IgA) мають сироваткову (IgA₁ і IgA₂) і секреторну (S IgA) форми, що істотно відрізняються між собою. Секреторний імуноглобулін класу A молозива продукується плазматичними клітинами молочної залози і відіграє важливу роль у формуванні механізмів місцевої резистентності. SIgA протидіє масовому надходженню антигенів, перешкоджає прикріпленню бактерій до епітеліоцитів, нейтралізує ентеротоксини, сприяє фагоцитозу. Цей імуноглобулін діє в якості блокуючого антитіла, запобігаючи реалізацію реакції дегрануляції оградних клітин у відповідь на надходження алергенів. У загальній кількості молозивних імуноглобулінів частка IgA, SIgA складає 10-12%.

Імуноглобуліни класу M (IgM, макроглобулін) – найбільш великі молекули з усіх імуноглобулінів. Антитіла класу IgM у своїй первісній мембранозв'язуючій формі служать рецепторами В-клітин, при первинній імунній відповіді вони першими з'являються у крові (ранні антитіла). Дія їх спрямована насамперед проти мікроорганізмів. Імуноглобуліни цього класу синтезуються плазматичними клітинами молочної залози і відповідь на більшість антигенів. Разом з S IgA вони беруть участь у місцевому імунитеті.

У загальній кількості молозивних імуноглобулінів корови частка IgM складає в середньому 9,3 %.

Імуноглобуліни класу E та D (IgE, IgD) у молозиві присутні у незнач-

них кількостях. Їх роль найменше з'ясована.

Методики визначення концентрації імуноглобулінів у молозиві тварин

Для визначення клінічного стану тварин, структури і функції молочної залози та забезпечення новонароджених телят необхідною кількістю імуноглобулінів потрібен контроль якості молозива за вмістом імунних тіл (А.Т. Жунушов, Т.Ч. Чекиров, К. Уракунова, 2003).

Високоякісне молозиво з високим вмістом імуноглобулінів зазвичай густе і жирне, проте лише зовнішній вигляд не є показником якості.

Для визначення вмісту білка і імуноглобулінів у молозиві новотільних корів можна застосовувати метод, запропонований У. Флінором і Т. Стоттом.

Принцип методу: концентрація білка та імуноглобулінів у молозиві тісно корелює з його густиною ($r = +0,95$). Відповідно до показників густини молозива, розроблено шкалу для визначення концентрації білка та імуноглобулінів. Метод належить до групи побічних, достатньо простий і надійний.

Лабораторне обладнання: циліндри місткістю 250 мл; ареометри зі шкалою 1,040-1,090; лабораторні колби; водяна баня.

Техніка аналізу: порцію молозива наливають у колбу для вимірювання температури і в разі охолодження підігривають на водяній бані до 20-22° С. Потім молозиво переносять у циліндр, заповнюють його на 2/3 об'єму і вимірюють густину за допомогою ареометра.

Молозиво задовільної якості повинно мати таку питому густину: першого надою 1,056 і вище, другого – 1,042-1,051 і третього – 1,038-1,041 кг/м³.

Можна також користуватися спеціальною шкалою, яка дозволяє значно точніше визначати зазначені показники.

З метою оцінювання якості молозива в 1980 р. у США був запропонований метод колострометрії.

Метод колострометрії, як і всі експрес-методи, має обмежену точність. Він базується на визначенні концентрації імуноглобулінів непрямим шляхом – за питомою вагою молозива, при цьому використовується спеціально градуирований ареометр. Його кольорова шкала поділена на три зони, що прямо вказує на вміст імуноглобулінів у молозиві і його якість (табл. 2).

Методика визначення. Налити близько 250 мл молозива кімнатної температури 22° ($\pm 8^\circ$) С у пластиковий мірний циліндр, що входить до комплекту. Переконавшись, що температура молозива максимально близька до кімнатної. В іншому випадку охолоджують або підігривають молозиво. Наливають молозиво до верхнього краю мірного циліндру. Опускають колострометр у

Результати визначення

Колір шкали	Щільність молозива, г/мл	Вміст імуноглобулінів, г/л	Рекомендації
Зелений	1,050-1,070	80-120	Молозиво у зеленому діапазоні шкали містить максимальну кількість імуноглобулінів. Рекомендується для використання теляті у першу добу життя. Рекомендовано для кріоконсервації.
Жовтий	1,040-1,050	40-80	Молозиво містить середню кількість імуноглобулінів, рекомендується для випоювання телят старше однієї доби.
Червоний	< 1,040	< 39	Молозиво містить низьку кількість імуноглобулінів і рекомендується для випоювання телятам старше 2 діб.

мірний циліндр так, щоб прилад вільно плавав.

Визначення загальної кількості імуноглобулінів у сироватці молозива методом їх осадження сульфідом натрію (сульфатом цинку). *Принцип методу.* При взаємодії імуноглобулінів з розчином сульфату натрію (сульфату цинку) змінюється структура білкових молекул, що викликає помутніння розчину. Інтенсивність помутніння пропорційна концентрації імуноглобулінів у сироватці молозива.

Методика визначення. Молозиво знежирюють центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 30 хв. Пробірку з молозивом ставлять у морозильну камеру холодильника на 20-30 хв, після чого молозивний жир видаляють з пробірки дротяною петлею.

Знежирене молозиво розводять у 2-4 рази дистильованою водою і додають до нього по краплинах 10%-ий розчин оцтової кислоти до повного згортання казеїну. Отриману сироватку центрифугують при 3000 об./хв протягом 5-10 хв для осадження казеїну і використовують для дослідження.

У дві пробірки вносять по 3,8 мл 18%-го розчину натрію сульфату і додають по 0,1 мл досліджуваної сироватки молозива. Вміст пробірок фотометрують при довжині хвилі 400 ± 5 нм у кюветі з робочою товщиною 5 мм. Контролем є 18%-ий розчин натрію сульфату.

Із отриманих результатів двох пробірок визначають середній показник. Якщо оптична щільність розчину вище за 1,3-1,5, то сироватку молозива роз-

водять ізотонічним розчином натрію хлориду у 2 рази.

Розрахунок кількості імуноглобулінів проводять за калібрувальним графіком, побудованим за результатами досліджень аналогічним способом серії розчинів стандартної сироватки (табл. 3).

Таблиця 3

**Визначення загальної кількості імуноглобулінів
у сироватці крові та молозиві**

Оптична щільність	Вміст Ig, мг/мл	Оптична щільність	Вміст Ig, мг/мл	Оптична щільність	Вміст Ig, мг/мл
0,1	2,28	0,185	4,61	0,80	17,8
0,11	2,60	0,19	4,72	0,85	19,0
0,12	2,92	0,195	4,83	0,90	20,2
0,125	3,03	0,20	4,94	0,95	21,2
0,13	3,14	0,25	5,80	1,0	22,3
0,135	3,37	0,30	6,80	1,05	23,4
0,14	3,60	0,35	8,00	1,1	24,6
0,145	3,70	0,40	9,00	1,15	25,8
0,15	3,80	0,45	10,00	1,2	26,8
0,155	3,93	0,50	11,4	1,25	28,0
0,16	4,06	0,55	12,4	1,3	29,0
0,165	4,17	0,60	13,6	1,35	30,1
0,17	4,28	0,65	14,6	1,4	31,2
0,175	4,39	0,70	15,8	1,45	32,3
0,180	4,50	0,75	16,8	1,5	33,4

Кінцеві результати множать на ступінь розведення молозива.

Для кількісного визначення та диференціації класів IgG, IgA, IgM – використовують багато методів: електрофорез, імуноелектрофорез, радіальна імунодифузія, нефелометрія, твердофазний ІФА, імуноблотинг, непряма імунофлуорисценція, визначення гамаглутамінтрансферази, тест коагуляції цілної крові з глутаровим альдегідом.

Концентрація імуноглобулінів у молозиві тварин

Основним критерієм якості молозива є його імунобіологічні властивості, тобто вміст імуноглобулінів.

Література насичена інформацією про вміст імуноглобулінів у молозиві тварин. Усереднені показники наступні: молозиво (у першу добу після оте-

лення) високої якості містить 50 мг/мл імуноглобулінів та більше, середньої – 21-50 та низької – менше ніж 21 мг/мл. По класах: IgG – 57 г/л, IgM – 8 г/л, IgA – 6 г/л. Концентрація імуноглобулінів у молозиві може варіювати від 20 до 100 мг/мл.

Відсоток антитіл у молозиві швидко знижується при кожному наступному доїнні. У молозиві другого надою рівень колостральних імуноглобулінів знижується у 2 рази, на 7 добу лактації – у 100-200 разів.

У зв'язку з цим важливо забезпечити максимальне споживання молозива у перші години та дні після народження тварин.

Молозиво кобил з концентрацією IgG менше 10 г/л призводить до недостатності колостральних антитіл (M. Venner, R.G. Markus, K. Strutzberg-Minder et al., 2008).

Дефіцит колостральних імуноглобулінів

Причин отримання молозива з низьким вмістом імуноглобулінів багато, вони відрізняються варіабельністю (S.M. Gulliksen, K.I. Lie, L. Solverod, O. Osteras, 2008).

Зниження можливостей організму в цілому та молочної залози зокрема продукувати колостральні імуноглобуліни відбувається як у кінцевому антенатальному (сухостійному), так і в інтранатальному (роди та перші години після них) періодах (Н. Шульга, Т. Сокольникова, В. Шульга, 2006, 2008).

До останнього відносять патологічні роди та надання допомоги при них, післяродовий парез, виворот матки тощо.

На адекватність транспорту антитіл від тварини-матері до циркулюючого русла новонародженого мають вплив наступні фактори:

- якість молозива та його кількість, похідною яких є загальна кількість імуноглобулінів, доступних для всмоктування;
- процес всмоктування та фактори, що впливають на нього.

Окремим фактором є безпечність молозива з огляду на можливість виділення з організму тварин афлотоксинів, кетонових тіл тощо, які викликають у новонароджених токсикози.

Рівень вмісту імуноглобулінів у молозиві залежить від:

- віку тварини. У корів 1-3 лактації вміст імуноглобулінів у молозиві на 10-30% нижче, ніж у корів старшого віку. Максимальний вміст імуноглобулінів рееструють на 4-5 лактації через більшу зрілість імунної системи та тривалий контакт з різноманітними збудниками. У молозиві корів першої лактації спостерігається майже повна відсутність імуноглобулінів до внутрішньофермної мікрофлори, внаслідок чого їх телята є більш вразливими до захворювань та частіше гинуть;

- фізіологічного стану імунної системи. Тварин, що зазнають впливу більшої кількості патогенів, продукують молозиво з більшим вмістом імуноглобулінів. На цьому базується спосіб підвищення концентрації специфічних імуноглобулінів шляхом вакцинації;

- породи. Наприклад, у молозиві корів джерсейської породи найвищий рівень імуноглобулінів, а у корів голштинської – найнижчий (J.W. Tyler, B.J. Steevens, D.E. Hostetler et al., 1999; H. Swan, S. Godden, R. Bey et al., 2007). Найнижчий середній вміст Ig у молозиві корів молочних порід знаходить пояснення у довготривалій селекції, спрямованій на збільшення продукції молока (зменшення концентрації IgG, пов'язана з більшою лактогенною активністю, зокрема п'ятикратним збільшенням вмісту у сироватці α -лактальбуміну на сповільнення транспорту імуноглобулінів з крові у секрет молочної залози);

- функціональних особливостей молочної залози. У молозиві корів з краніальних чвертей міститься більше IgA та IgM, ніж у молозиві з каудальних чвертей. У молозиві з цистерн молочної залози концентрація імуноглобулінів нижча (63,2 мг/мл), ніж у секреті альвеолярної та інтерглобулярної тканини (73,4 мг/мл);

- клінічного стану молочної залози. При захворюванні тварин на мастит загальний рівень імуноглобулінів підвищується;

- годівлі та утримання корів. Дефіцит раціонів за перетравним протеїном, цукром, каротином, макро- і мікроелементами призводить до зменшення вмісту імуноглобулінів у молозиві корів;

- розрідження молозива. Молозиво, перший надій якого перевищує 8,5 кг, є розрідженим і має меншу концентрацію імуноглобулінів;

- тривалості інтервалу від розтелення до отримання молозива. Найвищий вміст імуноглобулінів реєструють у молозиві, отриманому впродовж перших 6-9 год після родів. Зі збільшенням цього інтервалу кількість імуноглобулінів у молозиві зменшується;

- тривалості сухостійного періоду, передчасної лактації чи втрат молозива (внаслідок слабкості сфінктерів) до родів;

забруднення молочної залози та сосків при доїнні та застосування антибактеріальних препаратів, що вводяться з лікувальною та профілактичною метою протягом сухостійного періоду.

Фетоплацентарна недостатність, патологія гонад і концентрація колостральних імуноглобулінів

Долактаційний період характеризується можливою дією на організм тварин значної кількості факторів: забезпечення організму поживними, міне-

ральними речовинами, вітамінами, порушення правил утримання, мастити та їх ускладнення, інші патогени. Ці фактори об'єктивно впливають на рівень колостральних імуноглобулінів.

Разом з тим, впливи морфо-функціонального стану фетоплацентарного комплексу, гонад на фізіологічні процеси у молочній залозі, а разом з тим і концентрацію колостральних імуноглобулінів концентрацію імуноглобулінів залишаються вивченими недостатньо.

Плацентарна недостатність це складний поліказуальний синдром, що виникає при різних патологічних станах у материнському і фетальному організмах. Цей синдром характеризується порушеннями адаптаційно-гомеостатичних реакцій плаценти на молекулярному, клітинному і тканинному рівнях.

У залежності від характеру ушкоджень плаценти виділяють три форми плацентарної недостатності: плацентарно-мембранну недостатність при зниженні здатності плацентарної мембрани до транспорту метаболітів; клітинно-паренхіматозну плацентарну недостатність в зв'язку з порушеннями клітинної активності; гемодинамічну недостатність. Як правило, клінічно спостерігається поєднання не менше двох форм цієї патології.

За клінічно-морфологічними показниками виділяють первинну та вторинну плацентарну недостатність. Первинна – виникає при формуванні плаценти у період імплантації, раннього ембріогенезу та плацентації під впливом різних факторів (генетичних, ендокринних, інфекційних та інших), що діють на гамети, ембріон, плаценту, що формується. Вторинна плацентарна недостатність розвивається на фоні уже сформованої плаценти під впливом екзогенних, по відношенню до плода, факторів організму матері. Як правило, вона спостерігається у другій половині вагітності.

Плацентарна недостатність, як первинна, так і вторинна, може настати гостро чи розвиватися хронічно. Найчастіше проявом гострої плацентарної недостатності служать значні інфаркти, завчасне відшарування (рис. 1).

У залежності від стану компенсаторно-адаптовчих реакцій розрізняють відносну та абсолютну недостатність плаценти. В умовах функціонування компенсаторних реакцій у плаценті, її недостатність найчастіше має відносний характер. Найбільш тяжкою формою хронічної недостатності плаценти є її абсолютна недостатність, що розвивається на фоні порушень визрівання хоріону при ушкодженнях плаценти інволютивно-дистрофічного, циркуляторного та запального характеру при відсутності умов для здійснення компенсаторно-приспосовчих реакцій хоріону на тканинному рівні. Ця патологія, як правило, супроводжується гіпотрофією плода аж до його внутрішньоутробної смерті.

Мікроструктурні зміни у такій плаценті характеризуються: атрофією і

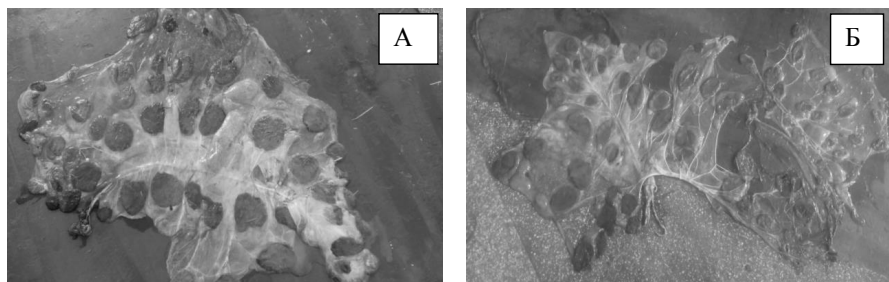


Рис. 1. Плацента та плодові оболонки корови:
А – нормальний стан, Б – плацентарна недостатність

руйнуванням кінцевих ворсинок, дистрофією та зменшенням кількості гігантських клітин на 50-60% (рис. 2). Значно зменшується вміст глікогену, білка, РНК, кислих мукополісахаридів у цитоплазмі епітелію ворсин і гігантських клітин плаценти.

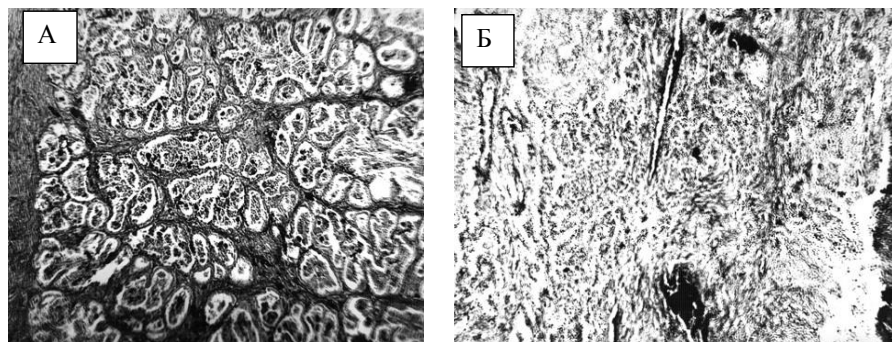


Рис. 2. Мікроструктура плаценти корови:
А – нормальний стан, Б – плацентарна недостатність

Крім того, у долактаційний період з переходом у лактаційний досить часто реєструють патологію гонад (гіпогонадизм чи гіполютеоліз), однак у зв'язку з анатомо-топографічними особливостями вагітної матки їх діагностика утруднена.

Гіпогонадизм (*hypo* – під, *нижче*; *gonadis* – *статеві залози*) – це зниження розмірів та маси яєчників у тварин з клінічними симптомами анафродизії.

Сприяють виникненню гіпогонадизму абіотичні фактори, дефіцити в

організмі тих чи інших речовин, гормональний дисбаланс, патогени. Конкретно визначений патогенез гіпогонадізму у корів за дефіциту вітаміну А, естрогенів та фолікулоstimулюючого гормону.

Зараз у генезі розвитку патологічних процесів в організмі тварин інфомаційно насиченим є розуміння функціонування та стану прооксидантно-антиоксидантої системи. Ситуативне збільшення концентрації вільнорадикальних окислів (ВРО) в організмі при зниженні антиоксидантного захисту (АОЗ) супроводжується розвитком патологічних процесів. Найбільш помітними є дефекти у мембранах клітин та мітохондріях, прискорений апоптоз, дистрофія, некробіоз, атрофія та некроз.

Постнатальний гіпогонадізм виникає та розвивається лише після родів. Яєчники ушкоджуються з різним ступенем інтенсивності, тому виділяють першу та другу стадії патології (рис. 3, 4).

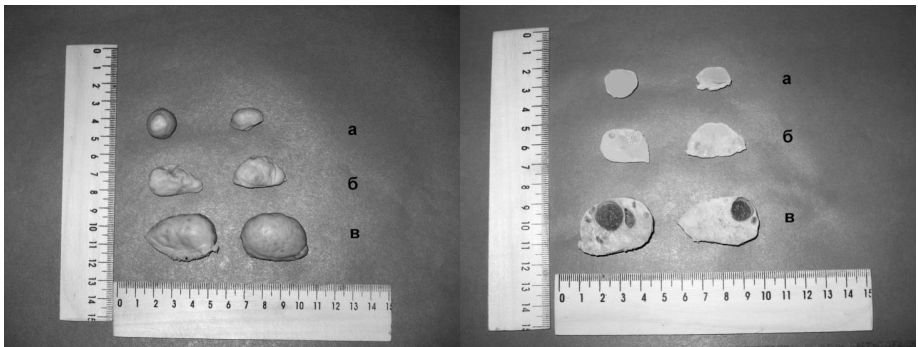


Рис. 3. Гіпогонадізм у корів:
а – перша стадія, б – друга стадія,
в) яєчники у межах норми

Рис. 4. Яєчники корови за гіпогонадізму (медіанний розріз): а) перша стадія, б) друга стадія, в) норма

Перша стадія гіпогонадізму – яєчники у корів і телиць розміром від горошини до квасоліни з гладкою поверхнею, на них не виявляються фолікули та жовті тіла. Матка дуже малих розмірів, її роги тонкі, стінка рогів щільної консистенції.

Друга стадія гіпогонадізму – яєчники зменшені до 1,5 см у довжину і 0,6-1 см в ширину, мають витягнуту форму, щільні. На їх поверхні можна пропальпувати фолікули невеликих розмірів. Жовте тіло виявляється у дуже рідких випадках, матка дещо зменшена у розмірах, гіпотонічна, стінка її щільна.

За ультразвукового сканування сонограми таких яєчників характери-

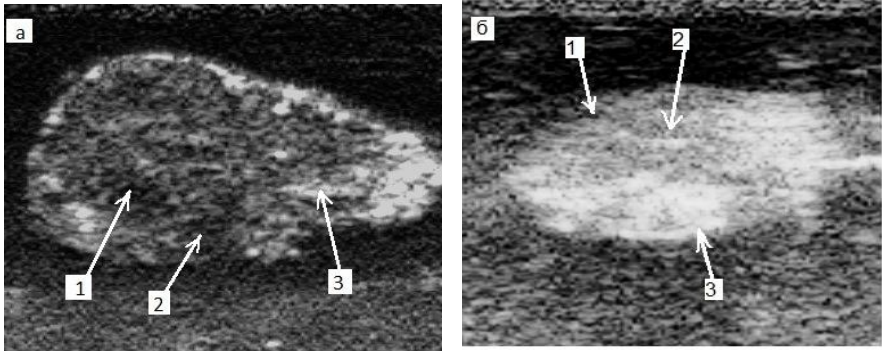


Рис. 5. Ехограма яєчника корови:

а) нормальний морфо-функціональний стан, б) гіпогонадізм;
ендоструктура: 1 – анехогенна, 2 – гіпоехогенна, 3 – гіперехогенна

зуються гіперехогенністю досліджуваного органу (рис. 5).

На світлооптичному рівні в яєчниках знаходять значне зменшення примордіальних фолікулів, разом з тим збільшується кількість атретичних тіл (рис. 6). Зростає число фіброзних тіл на місці атретичних фолікулів і жовтих тіл. Формуються гіалінові утворення. Внаслідок гіпотрофічних процесів кровоносні судини яєчника розташовані більш щільно. Стінка їх значно потовщена, що супроводжується значним звуженням просвіту. Відбуваються виражені ультраструктурні зміни в інтерстиціальних клітинах, що приймають участь в стероїдогенезі. Ліпіди майже повністю зникають. Збільшується товщина базальної мембрани, вона часто стає багат шаровою.

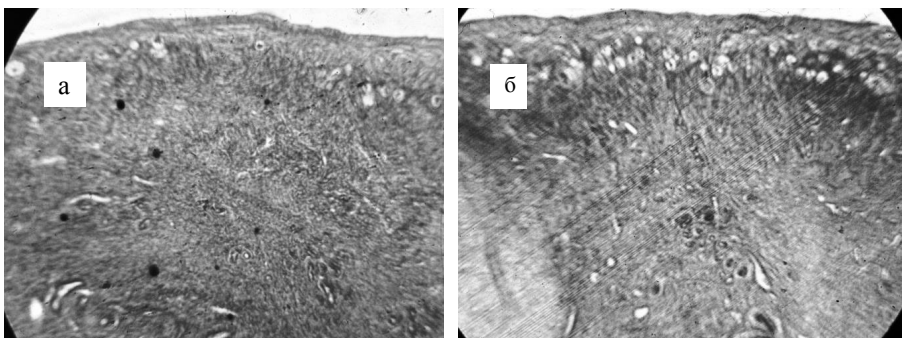


Рис. 6. Зріз яєчника корови:

а) з гіпогонадізмом; б) нормальний морфо-функціональний стан.

Фарбування гематоксиліном і еозином ×100

Гіполютеоліз (*hypo* – під, *нижче*; *corpus luteuse* – *жовте тіло*; *lizise* – *розсмоктування, зменшення*) – це затримка регресії (персистенція) жовтого тіла вагітності у корів та телиць з клінічними проявами анафродизії.

Сприяє виникненню цієї патології виснаження організму тварини минулою вагітністю та інтенсивністю лактаційного періоду, а основною причиною являються патологічні процеси в ендометрії (дистрофія, запалення). При цьому зменшується рівень або ж припиняється продукція простагландину $F_{2\alpha}$.

На яєчнику жовте тіло виступає у вигляді гриба і складає біля половини розміру органа, змінюючи розміри та форму яєчника на грушоподібну чи трикутника або з перехватом посередині (рис. 7-9).

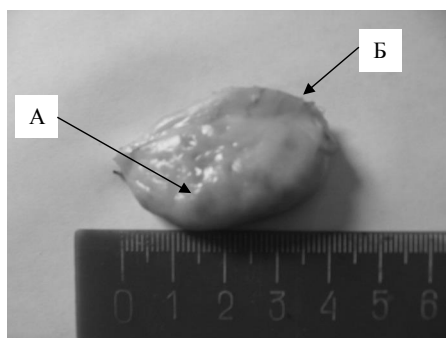


Рис. 7. Яєчник корови з нормальним морфофункціональним станом: А – фолікули, Б – зародковий епітелій

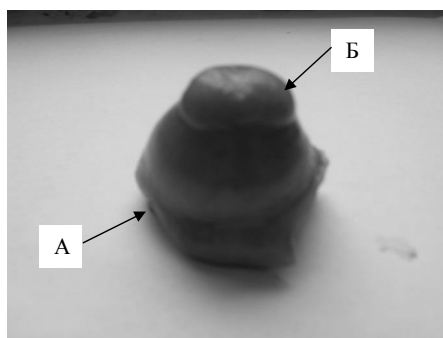


Рис. 8. Яєчник корови з гіполютеолізмом: А – яєчник, Б – жовте тіло

На гістологічних зрізах яєчників корів (рис. 10, 11) з гіполютеолізмом встановлено зменшення кількості примордіальних, ростучих та везикулярних і відсутність домінуючих фолікулів у порівнянні з яєчниками тварин з нормальним морфо-функціональним станом гонад.

Існує залежність показників концентрації імуноглобулінів у молозиві корів від морфо-функціонального стану фетоплацентарного комплексу (табл. 4).

Зокрема, нами встановлена залежність маси посліду, кількості котиледонів, площі ворсинчастого хоріону, маси новонароджених, маси та розмірів яєчників та концентрації колостральних імуноглобулінів у корів.

Цю залежність необхідно враховувати практикою ветеринарної медицини.

Імунодефіцит (імунологічна недостатність у новонароджених)

Імунодефіцит (імунологічна недостатність) молодняка характеризується низьким вмістом імуноглобулінів та інших факторів неспецифічного захисту і недостатністю спроможністю організму давати повноцінну імунну відповідь на вплив антигенів.

Імунодефіцит обумовлений випаданням одного або декількох специфічних компонентів імунної відповіді або взаємодіючих з ним неспецифічних факторів захисту (фагоцитоз, система комплементу та ін.).

Зміни у системі імунітету можуть виникати на ранніх етапах дозрівання, диференціювання, становлення функціональної активності під впливом мутагенів, цитостатиків, канцерогенів.

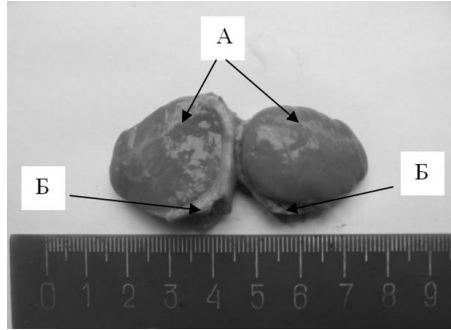


Рис. 9. Медіальний розріз жовтого тіла корови: а – жовте тіло; б – сполучна тканина

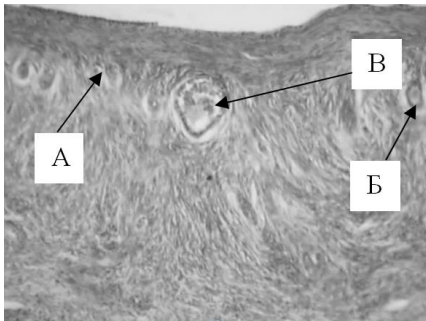


Рис. 10. Фрагмент корови з нормальним морфо-функціональним станом. Гематоксилін Караці та еозин. $\times 100$:

А – примордіальний фолікул; Б – вторинний фолікул;
В – доміантний фолікул

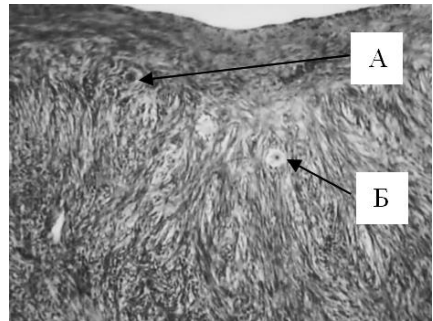


Рис. 11. Фрагмент яєчника корови з гіполутеолізмом. Гематоксилін Караці та еозин. $\times 100$:

Імунодефіцит перешкоджає збереженню антигенної сталості та цілісності організму, так як при цьому порушується функція розпізнавання і кон-

Таблиця 4

Стан фетоплацентарного комплексу, яєчників та показники колостральних імуноглобулінів у корів

Групи тварин	Показники								
	Маса посліду, кг	Кіль- кість ко- тиледо- нів, шт.	Площа ворсин- частої частини хоріона, см ²	Маса новона- родже- них те- лят, кг	Вміст колос- тральних імуноглобу- лінів у моло- зиві першого надою, г/л	Характеристика яєчників у після- родовому періоді			
						10 доба	20 доба	30 доба	45 доба
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Корови з норма- льним станом фе- топлацентарного комплексу (n=31) Персистентне жовте тіло (n / %)	4,6±0,74	105±3,25	6370±24	29,3±2,2	115±7,5	31/100	20/64	6/19	2/6,4

Продовження таблиці 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Гіпогонадизм (n/%) Корови з фетоплацентарною недостатністю (n=27)	3,7±0,52	102±6,5	4730±67	22,6±1,8	85±5,3	21/67,7	18/58	8/25	3/9,6
Персистентне жовте тіло (n / %) Гіпогонадизм (n/%)						27/100	25/92	18/66,6	11/40
±	0,9	3	1640	6,7	30	25/92	24/88	21/77,7	15/55,5
% Персистентне жовте тіло / Гіпогонадизм	19,57	2,86	25,75	22,87	26,1	- / -24,3	-28/ -30	-47,6/ -52,7	-33,6/ -45,9

тролю з боку імунної системи. Вид і ступінь прояву імунодефіциту залежить від того, яка ланка імунної системи порушена і на якому щаблі онтогенетичного розвитку це сталося.

Первинна імунологічна недостатність обумовлена внутрішніми дефектами клітин імунної системи і значною мірою генетично детермінована.

Порушення імунної відповіді можуть виникати внаслідок: недостатньої функції В- та Т-клітин; спадкової патології системи комплементу і спадкової недостатності термінальних компонентів; збоїв у механізмах відновлення молекулярного кисню у фагоцитах; недостатньої адгезії лейкоцитів.

Вторинна імунологічна недостатність розвивається під дією: хімічних речовин; фармакологічних препаратів; захворювань, особливо хронічних; абіотичних факторів.

Дефіцитна годівля найбільш розповсюджена причина виникнення імунодефіцитних станів. Вона впливає на п'ять форм імунологічної реактивності: клітинний імунітет, фагоцитарну функцію, активність системи комплементу, секрецію антитіл, синтез цитокінінів.

Масштаб і ступінь порушень імунних реакцій, що виникають за недостатньої та неповноцінної годівлі, залежать від ряду факторів, у тому числі від швидкості клітинної проліферації, інтенсивності синтезу білка та значення окремих елементів споживання в основних метаболічних процесах. Для функціонування багатьох ферментів, що відіграють основну роль в імунних реакціях, необхідне надходження в організм каротину (вітаміну А), цинку, заліза та інших речовин. Вираженою ознакою недостатнього надходження згаданих речовин є: гіпотрофія, дистрофія, атрофія лімфоїдної тканини. Встановлено, також зниження здатності лімфоцитів відповідати проліферацією на мітогени.

Як відомо, основним шляхом отримання антитіл новонародженою твариною є колостральний (молозивний) з наступним всмоктуванням інтактних молекул імуноглобулінів у тонкому кишечнику. Споживання молозива та, як наслідок, набуття колострального імунітету впродовж перших 24 год життя є найважливішим фактором, пов'язаним з неонатальною захворюваністю і смертністю. За оцінкою USDA (Асоціація молочного тваринництва США) 50% смертності, що виникає у новонароджених телят, безпосередньо пов'язана з неадекватним набуттям колострального імунітету, а 35% всіх телят молочних порід страждають від цієї недостатності. Недостатність колострального імунітету не є захворюванням телят, а підставою для розвитку тієї чи іншої патології (А.К. Sing, S. Pandita, М.М. Vaidya et al., 2011).

Імунодефіцит у молодняка виникає за: пізнього випоювання першого молозива; недостатньої його кількості; порушень техніки випоювання та са-

нітарії; негативного засвоєння імуноглобулінів новонароджених при морфофункціональній незрілості. Та найбільш поширеною причиною виникнення імунодефіциту є використання молозива низької якості, тобто з мінімальним вмістом імуноглобулінів.

Всмоктування інтактних молекул імуноглобулінів епітелієм кишечника у кровообіг новонародженого можливе протягом перших 24 год життя та активно відбувається шляхом піноцитозу. Зрілість слизової оболонки настає швидко після народження, а властивість кишечника всмоктувати макромолекули без перетравлення втрачається після 24 год життя. Це пов'язане з розвитком апарату травлення та змінами клітинних популяцій слизової оболонки.

Але навіть при використанні якісного молозива з високим рівнем імуноглобулінів можливий розвиток імунодефіциту у новонароджених. Необхідно зважати на можливі фактори, що впливають на процес всмоктування:

- Час випоювання (ссання). Тривалість всмоктування різних класів імуноглобулінів відрізняються: у телят, що отримали першу порцію молозива через 1-2 год після народження, всмоктування IgG продовжується 27-29 год, IgA 22-25 та IgM – 16 год. Затримка згодовування телятам першої порції молозива (на 4 і більше годин) не змінює тривалості всмоктування IgG, але дещо подовжує період резорбції IgM (до 22-25 год) та IgA (до 27-28 год), незважаючи на це інтенсивність всмоктування імуноглобулінів значно знижується. Здатність кишечника всмоктувати колостральні імуноглобуліни всіх класів, втрачається через 24 год, якщо теляті не випоювати молозиво. В умовах молочних ферм у більшості випадків резорбція імуноглобулінів у кишечнику телят припиняється через 20 год, у деяких – через 12, а у окремих випадках – через 4-6 год. Протягом перших 12 год життя теляти проходить прогресуюче зниження загальної всмоктувальної здатності слизової оболонки щодо імуноглобулінів від 50 до 75%.

- Об'єм першої порції молозива, згодованої теляті. Оптимальним об'ємом молозива для першого випоювання є 2 л.

- Маса телят при народженні. Найбільша кількість імуноглобулінів резорбується у кишечнику телят, жива маса яких при народженні складає 35-39 кг. У телят з масою 40 кг і більше та менше 35 кг вміст імуноглобулінів у крові значно менше, зокрема Ig G та IgA.

- Стать. Повідомлень щодо впливу статі телят на резорбцію імуноглобулінів в їх кишечнику дуже мало, вони вкрай суперечливі.

- Пору року. Резорбція молозивних імуноглобулінів у кишечнику новонароджених найвища влітку та на початку осені, в інші періоди низька.

- Спосіб випоювання молозива. Найкращі результати має підсисання, але необхідно враховувати і технологію вирощування.

- Інші фактори. На всмоктуваність імуноглобулінів негативно впливають: низький показник рН крові; внутрішньоутробна гіпотрофія, гіпоксія, ацидоз, високий вміст шкідливих газів у родильному відділенні і профілактиці, велика контамінація кишечника мікроорганізмами перед першим згодуюванням молозива, висока температура (39-40° C).

Пізній антенатальний період характеризується присутністю значної кількості факторів впливу на рівень колостральних імуноглобулінів: забезпечення організму поживними, мінеральними речовинами, вітамінами, порушення правил утримання, мастити та їх ускладнення.

Патологія молочної залози як фактор дефіциту імуноглобулінів

Мікроструктурна характеристика молочної залози корів сухостійного періоду. У молочної залозі корів сухостійного періоду відбуваються активні процеси перебудови інволютивно-еволюційного напрямку.

Орган через молозиво та молоко готується до забезпечення умов годування та адаптації новонародженого до нових, деколи небезпечних форм життя.

Молочна залоза охоплює: орієнтовну систему специфічних клітин (альвеолярні, секреторні), сполучну (фібробласти, ретикулярні, плазматичні, огрядні клітини, лімфоцити, макрофаги, еозинофіли, нейтрофіли та «основну» речовину (глікозаміноглікани і протеоглікани, волокна колагенів), мікроциркуляторну одиницю і термінальні нервові утворення.

Функціональний елемент складає відносно автономну саморегулюючу систему, яка забезпечується взаємодією між спеціалізованими паренхіматозними клітинами і елементами сполучної тканини.

У процесах морфо-функціональної перебудови активну роль виконують клітинні елементи сполучної тканини та гормони.

Передлактаційний та лактаційний періоди супроводжуються послідовним зростанням лімфоцитів, плазматичних клітин. При цьому не тільки навколоальвеолярна сполучна тканина, але й сам секреторний епітелій молочної залози має певне число клітин лімфоїдного ряду.

Клінічні та експериментальні дані стосовно фізіології і патології молочної залози дозволяють розглядати систему сполучної тканини органу як важливий компонент морфоутворюючих процесів (росту, розвитку, інволюції) та учасника захисної запальної реакції при маститах, а також аналізувати роль окремих клітинних елементів цієї системи у створенні імунних властивостей молозива.

У перші дні лактації маса молочних залоз у самок мишей збільшується у 6 разів, а кількість Ig A-секретуючих клітин зростає у 150 разів.

Лімфоїдні утворення, що знаходяться у паренхімі молочної залози, представлені лімфоцитами на різних стадіях розвитку, плазматичними, огрядними клітинами, макрофагами.

Плазматичні клітини (плазмоцити) – кінцева стадія розвитку В-лімфоцитів. Як уже наводилось, вони забезпечують синтез і секрецію імуноглобулінів, що потім потрапляють у молозиво тварин.

На світлооптичному рівні ці клітини характеризуються овальною чи округлою формою, ексцентричним розміщенням ядра із особливою картиною хроматину у вигляді «спиць колеса», вираженою базофілією цитоплазми, окрім світлої навколоядерної ділянки – «дворика». Під електронним мікроскопом у цих клітинах виявляються численні цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, що заповнюють значну частину цитоплазми, за виключенням «дворика».

У паренхімі молочної залози знаходяться плазматичні клітини, а це вказує на місцевий синтез імуноглобулінів.

Диференціювання В-клітин призводить до утворення плазматичних клітин і клітин імунологічної пам'яті.

Після активації антигеном В-клітини ультраструктурно змінюються, перетворюючись у лімфобласти. У наступному В-лімфоцити визрівають у антитілоутворюючі клітини, які *in vivo* перетворюються у диференційовані плазматичні клітини.

Цитоплазма плазматичних клітин базофільна. Це пояснює наявність у ній великої кількості РНК, що забезпечує синтез антитіл.

Плазматичні клітини мають коротку тривалість життя: проіснувавши лише декілька діб, вони гинуть у процесі апоптозу (запрограмованого самознищення).

Огрядні клітини не циркулюють у крові. Відомі два види цих клітин: а) слизових оболонok; б) сполучної тканини.

Гранули огрядних клітин містять гепарин, гістамін та інше.

У результаті дегрануляції відбувається миттєве вивільнення усього вмісту гранул. Спочатку гранули зливаються між собою всередині цитоплазми, потім їх вміст викидається з клітини. Після дегрануляції медіатори (наприклад гістамін) викликають патологічне виявлення алергії, підсилюючи запальну реакцію.

Огрядні клітини – подовженої чи округлої форми. Ядро – округлої чи овальної форми, на світлооптичному рівні погано прослідковується так як маскується метахроматичними гранулами, що знаходяться у цитоплазмі.

Під електронним мікроскопом знаходять вирости цитоплазми та мікроросинки, помірковано розвинений синтетичний апарат і елементи цитоске-

лету, ліпідні краплини, а також гранули з морфологічно варіабельним вмістом. У гранулах є і гепарин, гістамін, дофамін, хемотаксичні фактори, гіалуронова кислота, глікопротеїни, фосфоліпіди та ферменти. При активації ці клітини продукують також простагландини, тромбоксин, простациклін лейкотрієни. При поступовому виділенні невеликих доз цих біологічно активних речовин огрядні клітини виконують регуляторні функції, спрямовані на підтримку гомеостазу.

При швидкій масивній дегрануляції огрядних клітин розвиваються алергічні реакції з наступним спазмом клітин гладенької мускулатури, розширенням судин, підвищенням їх проникності, ушкодженням тканин.

У тканинах молочної залози огрядні клітини розташовані переважно біля дрібних судин – параваскулярно. Це, можливо, пов'язане з їх регуляторною функцією та впливом на проникність судин.

Не тільки навколоальвеолярна сполучна тканина, але й сам секреторний епітелій молочної залози має певну кількість клітин лімфоїдного ряду. Ці інтрастиціальні лімфоцити, що розташовані між секреторними клітинами, не утворюють з ними спеціальних контактів, це дає їм можливість відносно вільно рухатись у епітеліальній тканині. Їх вихід через епітелій у порожнину альвеол лише частково обмежується апікальним сполучним комплексом між сусідніми епітеліальними клітинами.

Існує чотири типи контактів між клітинами: тимчасові контакти і більш тривалі контакти за участі спеціальних структур (десмосоми); постійну адгезію за участі особливих субмікроскопічних структур і злипання клітин.

При простих контактах між клітинами є проміжок, його величина не менше 8...15 нм.

При адгезії у проміжках між клітинами знаходиться речовина, що відрізняється за своїми ультрамікроскопічними даними від звичайної міжклітинної сполуки.

Контакт між прилеглими клітинами може бути особливо тісним за рахунок складок сусідніх клітинних мембран вставлених одна у другу. Це дає можливість легко роз'єднатись при збільшенні об'єму клітин. У даному випадку немає між клітинами в'язкої, клейкої речовини, як це має місце при адгезії за допомогою десмосом.

На поверхні клітин можна спостерігати рух клітинної мембрани, у результаті чого змінюються зони контакту клітин з субстратом. При цьому змінюється електричний потенціал мембрани. Збільшення негативного заряду мембрани викликає її розтягування, тоді як зменшення – навпаки, скорочення.

Рух клітин обумовлений асиметрією сил напруження, що створюються на кордоні між субстратом, середовищем та самою клітиною. Джерелом цього руху є активні метаболічні процеси.

У молочній залозі альвеоли тісно контактують з кровоносними капілярами, а секреторні клітини альвеол мають редуційований міжклітинний сполучний комплекс, у якому щільні контакти існують лише на апікальній поверхні та немає десмосом. Відсутність десмосом збільшує здатність альвеол до розтягування при наповненні молоком, при цьому суттєво зростає величина міжклітинного простору.

Такі особливості мікроструктур молочної залози пояснюють механізми та створюють оптимальні умови для накопичення секрету і просування його по протоках та водночас збільшують ризики і можливості міграції клітин крові через гемато-молочний бар'єр. Цей бар'єр структурований декількома шарами: ендотелій капіляра, сполучна тканина, міоепітелій, мамарні альвеолярні епітеліоцити. Секреторний епітелій при активній лактації надзвичайно швидко та рельєфно змінює свою величину та форму, що створює умови для зниження стійкості і напруги міжклітинних контактів та зростання величини міжклітинного простору.

Кожна тканина формується у результаті специфічної адгезії (adhesion – зчеплення) клітинних ансамблів, їх зв'язків з внутрішнім цитоскелетом і взаємодією з позаклітинним матриксом.

Клітинна адгезія не повинна розглядатись тільки як процес, за допомогою якого клітини поєднуються між собою вмонтованими «молекулами-болтами», що закріплюють конструкцію. Клітинна адгезія – це динамічний процес де багато адгезійних молекул беруть участь також у процесах міжклітинної сигналізації.

Позаклітинний матрикс – це складний комплекс білкових волокон колагену і желатиноподібної речовини. У складі цієї речовини – глікопротеїни і протеоглікани. Позаклітинний матрикс об'єднує клітини, забезпечуючи фізичну опору та середовище, в якому клітини можуть переміщатись та взаємодіяти.

Як відомо, у молочній залозі переважає сполучна та епітеліальна тканини. Основний об'єм сполучної тканини займає позаклітинний матрикс, у якому клітини розташовані вільно. Епітеліальні клітини, що вистилають альвеоли, навпаки, прикріплюються між собою завдяки щільному контакту. Ці клітини розташовані на тонкому шарі позаклітинного матриксу, що отримав назву – базальна мембрана. В епітелії є особливе об'єднання клітин, яке забезпечує зв'язок і взаємодію між клітинами та включає філаменти, що надають клітинам стійкості до фізичних впливів.

Для повноцінності міжклітинної взаємодії необхідні оптимальні умови, перш за все це забезпеченість організму тварин білками, іонами кальцію, деякими мікроелементами, вітамінами, упередженість від дії патогенів та інших негативів.

Дослідження по визначенню особливостей структурної організації та функції молочної залози корів сухостійного періоду, проведені за принципом наступності та послідовності. Для цього була використана комп'ютерна програма диференціальної діагностики патологічних процесів у молочній залозі сухостійних корів (О.В. Онищенко, В.П. Кошевой, М.М. Іванченко, 2013). Програмою патологічних процесів у молочній залозі не виявлено.

Корови (на 250-255 добі вагітності) утримувалися в оптимальних умовах, годівля їх була повноцінною. Як в еритроцитах, так і в сироватці крові показники концентрації малонового діальдегіду та речовин антиоксидантної групи, також знаходились у межах нормативів (табл. 5, 6).

Таблиця 5

Показники гомеостазу у корів (сироватка крові)

Білки, г/л							Мінеральні речовини, мкмоль/л		Вітаміни, мкмоль/л	
Загальний білок	Альбуміни	Сумарні глобуліни	α -1	α -2	β	γ	Кальцій	Фосфор	Каротин	Вітамін А
79,54 ± 0,86	28,28 ± 0,49	51,26 ± 0,83	2,76 ± 0,1	6,57 ± 0,22	15,75 ± 0,94	26,17 ± 0,46	3,76 ± 0,1	2,06 ± 0,08	2,6 ± 0,14	0,94 ± 0,08

Показники гомеостазу (вміст загального білка, альбумінів, сумарних глобулінів та їх фракцій, кальцію, фосфору, каротину, вітаміну А у сироватці крові), враховуючи фізіологічний стан корів, були у межах нормативів.

Структура молочної залози інтегрована та рельєфно виражена (рис. 12). Альвеоли вистелені структурованими епітеліоцитами з інтенсивним забарвленням аніліновими фарбниками. Частина альвеол заповнена незначною кількістю секрету. Розвинена система кровоносних судин. Чітко проглядається позаальвеолярний матрикс насичений клітинами, в тому числі – плазматич-

Таблиця 6

Показники стану прооксидантно-антиоксидантної системи

Вміст в еритроцитах			Вміст у сироватці крові		
Малоновий діальдегід, мкм/л	Активність каталази, мкм H_2O_2 /л.-хв.	Відновлений глутатіон, мкм/л	Малоновий діальдегід, мкм/л	Активність каталази, мкм H_2O_2 /л.-хв.	СОД, умов. ОД/мгНв
33,86±0,42	29,74±0,33	3,92±0,06	0,27±0,01	50,08±1,1	10,6±0,51

ними та огрядними. Кількісно переважали плазматичні клітини. Площа альвеолярних епітеліоцитів (як клітин, так і їх ядер) була найбільшою (табл. 7).

Ядерно-цитоплазматичний індекс для клітин, що вивчались, був майже

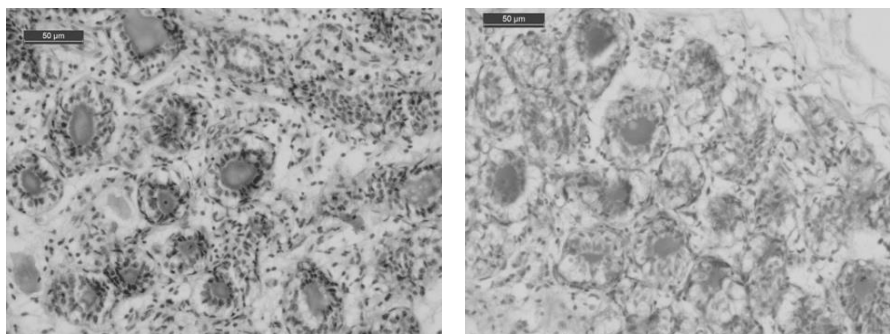


Рис. 12. Гістоструктура паренхіми молочної залози корови сухостійного періоду з нормальним клінічним станом. Фарбування: а – гематоксилін-еозин, б – азури II-еозин ($\times 400$)

однаковим. Плазма плазматичних клітин інтенсивно забарвлена, містить багато РНК. Зернистість плазми огрядних клітин не виражена. Люмінесценція клітин має зелене забарвлення.

У практиці ветеринарної медицини для діагностики патологічних процесів у молочній залозі, особливо у диференціальних аспектах, цитологічне дослідження секрету молочної залози сухостійного періоду має велике значення.

Цитограма секрету молочної залози корів сухостійного періоду з нормальними показниками гомеостазу, відсутністю збоїв у прооксидантно-оксидантній системі характеризувалась наступними показниками (табл. 8).

Таблиця 7

Морфо-функціональна характеристика молочної залози корів сухостійного періоду

Альвеолярні епітеліоцити			Плазматичні клітини				Оградні клітини			
Площа, мкм ²		Ядерно-цитоплазматичний індекс	Кількість *	Площа, мкм ²		Ядерно-цитоплазматичний індекс	Кількість *	Площа, мкм ²		Ядерно-цитоплазматичний індекс
Клітини	Ядра			Клітини	Ядра			Клітини	Ядра	
78,9 ± 1,25	18,0 ± 0,37	0,23	5 ± 1,3	64,43 ± 1,36	15,17 ± 0,32	0,24	2 ± 0,13	55,2 ± 1,2	12,6 ± 0,41	0,23

Примітка. * – у полі зору сітки окуляра $\times 100$

Кількість мікробних тіл у секреті є незначною. В основному вони представлені коковою групою.

Таблиця 8

Цитологічна характеристика секрету молочної залози корів

Кількість мікробів *	Кількість соматичних клітин**			Площа епітеліоцитів, мкм ²		Ядерно-цитоплазматичний індекс	Співвідношення: лейкоцити / епітеліоцити
	Всього	Лейкоцитів	Епітеліоцитів	Клітини	Ядра		
10 ± 1,2	14 ± 1,1	12 ± 1,53	2 ± 0,21	224 ± 64	57,63	0,26	6 : 1

Примітки: * – у полі зору сітки окуляра $\times 100$; ** – у полі зору сітки окуляра $\times 400$

Більшість авторів стверджують – молоко, що знаходиться у молочній залозі корів, у якій відсутні патологічні процеси, не містить мікробів – вони потрапляють сюди з зовні.

Слизова оболонка альвеол і молочних протоків є досить значною за площею і унікальною завдяки своїй локалізації і функціональним властивостям – продукція молозива (імуноглобулінів) та молока. Серед інших слизових оболонок у корів, які колонізуються бактеріями, слід відзначити шлунково-

кишковий тракт, дихальну та репродуктивну системи. Відмінність полягає в тому, що травний та дихальний канали постійно контактують зі сторонніми антигенами та патогенами, тому локальна імунна відповідь згаданих слизових оболонок спрямована на захист від інвазії тканин і організму в цілому мікроорганізмами. Для статевих органів характерна протидія інфекції при осіменінні та родах.

Поверхня слизової оболонки молочної залози піддається впливу патогенів значно рідше. Мікробна контамінація відбувається галактогенним шляхом, або ж через кров та лімфу.

У мазках секрету молочної залози згаданих корів кількість соматичних клітин була незначною, переважали лейкоцити над мамарними епітеліоцитами (співвідношення 6 : 1). Площа епітеліоцитів та їх ядер була значною – 224,64 та 57,63 мкм² відповідно. Ядерно-цитоплазматичний індекс дорівнював – 0,26. Люмінесценція соматичних клітин була від жовто-червоної до зеленої. Це вказувало на присутність клітин як нормальних так у і з дистрофією.

Гіпотетично можна прогнозувати, що такий клінічний стан організму та стан структури і функції молочної залози (особливо значна кількість активних плазматичних клітин) забезпечать після родів достатній рівень колостральних імуноглобулінів.

Прогнози підтвердились. Дійсно у корів сухостійного періоду з нормальними показниками гомеостазу, відсутністю порушень у прооксидантно-антиоксидантній системі та структурно-функціональному стані молочної залози вміст колостральних імуноглобулінів був оптимальним, у межах 115±9,5 і 114±5,4 г/л (табл. 9).

Таблиця 9

Концентрація колостральних імуноглобулінів у корів

Показники досліджень	Вміст імуноглобулінів у молозиві корів, г/л	
	Колострометрія	Реакція з сульфідом натрію
Показники гомеостазу у межах норми, порушень у прооксидантно-оксидантній системі та морфо-функціональному стані молочної залози не було	115 ± 9,5	114,5 ± 5,4

***Впливи негативних факторів на показники гомеостазу,
стан прооксидантно-антиоксидантної системи та структуру і функцію
молочної залози корів сухостійного періоду***

Недостатня забезпеченість тварин каротином (особливо тим, що має високу біологічну активність) спостерігається досить часто та носить глобальний характер. Ця недостатність особливо поширена у період зимового та зимово-весняного періоду утримання корів. Це обумовлено з одного боку тим, що корма, які складають основу зимового раціону, містять незначну кількість каротину, здатного до перетворення у вітамін А. З іншого боку – у зв'язку з тим, що каротин є речовиною, яка легко руйнується на повітрі, світлі, у нейтральному чи лужному середовищі, значні його втрати відбуваються у результаті порушень термінів, режиму збирання та консервування корів, а також у процесі їх зберігання.

Разом з тим, необхідно враховувати і ту обставину, що дефіцит вітаміну А в організмі тварин може спостерігатись і за достатньої кількості каротину у кормах раціону.

Зниження споживання каротину і перетворення його у вітамін А відбувається під дією органічних кислот, що надходить в організм у значних кількостях.

Синтез вітаміну А падає при дефіциті вітаміну D, протеїну, мікроелементів. Значний вміст у раціоні і в організмі нітратів та нітритів гальмує використання каротину і відповідно вітаміну А.

Все це призводить до значного зниження вмісту каротину та вітаміну А в організмі тварин.

Морфологічні і функціональні ушкодження при дефіциті вітаміну А відбуваються перш за все у тих органах, де головною структурною одиницею є епітеліальна секреторна клітина. Таким органом є молочна залоза. У клітинах спостерігаються явища дистрофії та десквамації.

На цьому фоні, якщо не виводиться молоко із порожнини альвеоли, то у секреторному епітелії поглиблюються дегенеративні процеси, що призводять до його інволюції та зупинки лактації.

Підвищення кількості соматичних клітин у молозиві з 560 тис. / мл до 1 млн / мл знижує продуктивність корів на 9,2%, а при збільшені числа клітин – до 5 млн / мл на 37,5%.

Переважна кількість живих організмів на планеті Земля у своїй життєдіяльності не може обходитись без споживання кисню, при цьому процес метаболізму у біологічних системах супроводжується утворенням різних активних форм кисню.

Необхідний рівень активного кисню в організмі регулюють антиоксиданти і ферменти. У випадках дисбалансу між продукцією активного кисню та концентрацією цих ензимів виникає окисний стрес.

Найбільш небезпечні та руйнівні – гідроксильні радикали. Вони окислюють практично всі органічні молекули – в тому числі протеїни, нуклеїнові кислоти та інші біополімери, а також здатні відривати атом водню від молекул ненасичених жирних кислот і ініціювати перекисне окислення ліпідів.

Встановлено декілька причин, що викликають активізацію вільнорадикального окислення у тканинах живого організму.

1. Недостатня, надлишкова, неповноцінна годівля; дефіцит у раціонах біоантиоксидантів (каротиноїди, токофероли, аскорбінова кислота та інші).

2. Абіотичні фактори (погіршення екологічної ситуації – іонізуюче випромінювання, прогресуюча забрудненість повітряного басейну шкідливими газами та води нітратами, нітридами, хімічними токсичними речовинами).

3. Висока продуктивність, стресові ситуації, захворювання, хронічні патологічні процеси, що викликають надмірну мобілізацію енергетичних ресурсів організму та значне використання антиоксидантів.

4. Гіпокінезія (відсутність моціону у зимово-стійловому періоді утримання).

Серед цих причин на особливу увагу заслуговує дефіцит годівлі тварин на каротин.

Надмірне накопичення вільно радикальних окислів (ВРО) призводить до ушкоджень клітинних мембран, гальмування процесів енергоутворення, синтезу білків та розвитку органної патології.

Рецепторна і транспортна функції – важливі регуляторні механізми життєдіяльності клітин, здійснення яких залежить від рівня вільно радикальних процесів.

Система антиоксидантних ферментів: каталаза, супероксиддисмутаза, глутатіон-пероксидаза здатна обмежувати розвиток ланцюгових реакцій вільнорадикальних окислів.

Антиоксидантна система (каротиноїди, токофероли, аміни, феноли) може виснажуватись, наприклад при деяких авітамінозах, старінні.

Дефіцит імуноглобулінів у молозиві можна упередити, використовуючи препарати, що блокують міграцію лейкоцитів, або збільшують вміст тканинних антиоксидантів, які підвищують резистентність клітин до ушкоджуючої дії продуктів вільно-радикальних реакцій.

Останнім часом значно зросла зацікавленість дослідників та практичних лікарів до клінічних аспектів процесу вільнорадикального перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Це у багатьох випадках обумовлено тим, що дефект

цієї ланки метаболізму здатний суттєво знизити резистентність організму до дії на нього несприятливих факторів внутрішнього та зовнішнього середовища, створити передумови до формування прискореного розвитку і посилення тяжкості перебігу різних патологічних процесів у життєво важливих органах.

Характерною особливістю цієї «вільнорадикальної патології» є ушкодження мембран, тому вона отримала назву «мембранна патологія».

Вільнорадикальна патологія відіграє значну роль у патогенезі багатьох захворювань. З цим пов'язані неспецифічні адаптаційні реакції організму, регулювання проникності мембран, функціонування ферментних систем, швидкість мітозу, впливи на процеси апоптозу.

Негативний вплив прискорює апоптоз. Він бере участь у підтримці стаціонарного стану тканин, підсилюється при атрофіях.

При оцінці мітотичної активності необхідно враховувати, той факт, що на фазу мітозу у циклі відновлення приходиться зовсім невелика доля.

Мітоз продовжується 20-50 хвилин. Можна підрахувати число клітин, що вступають у мітоз у певний період часу, встановити швидкість оновлення клітинної популяції (регенерації). Для визначення швидкості проліферації (ШП) можна використати формулу:

$$\text{ШП} = \frac{\text{Mi (ПВ)} - \text{Mi (НВ)}}{2,5},$$

де: Mi (ПВ) – мітотичний індекс, перше визначення;

Mi (НВ) – мітотичний індекс, наступне визначення.

Для епітелію слизових оболонок ШП – дорівнює 15, а при атрофії – 27 клітин на 1000 за годину.

Апоптоз, чи генетично запрограмована смерть клітин, пояснює процес. Клітини небажані, небезпечні, у випадках коли не можуть справитись з ушкодженнями, «включають» свою генетичну програму самогубства і тим самим рятують організм. Тисячі атипічних клітин, що постійно з'являються в організмі, знищуються шляхом апоптозу. Ті, що збереглися можуть завдати шкоди організму. Складна багатоступенева система апоптозу в якості обов'язкового ланцюжка посередників містить вільні радикали кисню.

Вільнорадикальні окисли викликають деструкцію ліпідів мембран, ушкодження мембранних білків, дефекти у цілісності мембран та мітохондрій. Під впливом різних електричних потенціалів на мембранах через пори у клітину проникають іони натрію, а у мітохондрії – іони калію. Це призводить до набухання їх структури та руйнувань власним електропотенціалом, що у підсумку закінчується енергетичним голодом. Вільнорадикальні окисли, реа-

гуючи з амінокислотами білків, змінюють структуру еластичних і колагенових волокон у результаті відбувається їх злипання. Вони також викликають полімеризацію та поліконденсацію різних молекул, що є причиною утворення білкових комплексів. Вільнорадикальні окисли підвищують проникність ендотелію судин, ушкоджують ДНК, викликають зниження активності тканинного дихання (гіпоксію).

На морфологічному рівні вільнорадикальні окисли викликають множинне дрібно-крапельне ожиріння, що супроводжується диспротеїнозом по типу водного набухання та зернистої дегенерації.

У підсумку необхідно констатувати, що вільнорадикальні окисли беруть участь у розвитку багатьох патологічних процесів, виявити їх дію можна з використанням біохімічних, патохімічних, біофізичних, патоморфологічних, імунологічних методів. Найбільш доказовими є: дистрофія, прискорений апоптоз, некробіоз, некроз.

На коровах-аналогах (різниця складала в тому, що годівля була тривалий час дефіцитною на каротин) проведені такі ж дослідження.

Визначений вплив тривалої дефіцитної на каротин годівлі на деякі показники гомеостазу, стан прооксидантно-антиоксидантної системи, структуру і функцію молочної залози корів сухостійного періоду.

Спостерігали коливання показників вмісту білка та його фракцій, кальцію, неорганічного фосфору у сироватці крові корів сухостійного періоду з дефіцитною годівлею на каротин, але вони були незначними (табл. 10).

Таблиця 10

**Показники гомеостазу корів. Тривалий дефіцит каротину
(сироватка крові)**

Білки, г/л							Мінеральні речовини, мкмоль/л		Вітаміни, мкмоль/л	
Загальний білок	Альбуміни	Сумарні глобуліни	α -1	α -2	β	γ	Кальцій	Фосфор	Каротин	Вітамін А
72,62 ± 0,65	34,4 ± 0,46	41,06 ± 0,14	3,56 ± 0,13	6,48 ± 0,13	10,94 ± 0,16	20,12 ± 0,24	3,61 ± 0,25	2,19 ± 0,16	0,7 ± 0,24	0,24 ± 0,07

Примітки: * – $P < 0,001$; *** – $P < 0,01$

Тривала дефіцитна годівля корів сухостійного періоду викликала значне зниження вмісту каротину та вітаміну А у сироватці крові – порівняно з нормою та тваринами-аналогами на 70 % та 75 % відповідно, каталази (на 43,7%), супероксиддисмутази (на 40,6%), підвищення концентрації малонового діальдегіду (на 72,7%). В еритроцитах знизилась концентрація каталази (на 41,7%) та відновленого глутатіону (на 15%), рівень малонового діальдегіду зріс на 23,2% (табл. 11).

Таблиця 11

Показники стану прооксидантно-антиоксидантної системи. Тривалий дефіцит каротину у раціоні

Вміст в еритроцитах			Вміст у сироватці крові		
Малоновий діальдегід, мкм/л	Активність каталази, мкм Н ₂ О ₂ /л-хв	Відновлений глутатіон, мкм/л	Малоновий діальдегід, мкм/л	Активність каталази, мкм Н ₂ О ₂ /л-хв	СОД, умов. ОД / мг Нб
44,08 ± 0,38*	17,34 ± 0,3	3,33 ± 0,05	0,99 ± 0,06	28,19 ± 0,22	6,3 ± 0,37

Примітка. * – $P < 0,001$

Враховуючи актуальність проблеми дотичної до пізнання механізмів продукції секреторних імуноглобулінів, визначення морфо-функціонального стану молочної залози корів сухостійного періоду було пріоритетним. Ця проблема стає ще більш актуальною з огляду на можливі впливи на організм вагітних тварин несприятливих факторів зовнішнього середовища (дефіцитні стани, негативи, патогени).

У корів під впливом дефіциту каротину, вітаміну А та збоїв у прооксидантно-антиоксидантній системі спостерігається зменшення площі секреторної тканини і, навпаки, збільшення сполучної (рис. 13). Виявлена дезінтеграція клітин з менш інтенсивним забарвленням. Площа альвеолярних епітеліоцитів зменшена. У цитоплазмі спостерігаються вакуолі, руйнування мембран, вихід ядер із цитоплазми, каріолізис і каріопікноз. Люмінесценція цих ушкоджених клітин мала жовто-червоне забарвлення. Кількість плазматичних клітин знизилась (на 40%), зменшилась їх площа та зріс ядерно-плазматичний індекс (до 0,99). Кількість огрядних клітин була низькою, площа їх зменшилась (на 25,5%), грануляція цитоплазми була слабо вираженою (табл. 12).

У мазках секрету молочної залози корів з дефіцитом каротину, вітаміну А, порушень у прооксидантно-антиоксидантній системі (у порівнянні з оптимальними показниками) встановлене збільшення кількості мікробів (на 88%)

Вплив дефіциту каротину, вітаміну А, порушень у прооксидантно-антиоксидантній системі на показники морфо-функціонального стану молочної залози корів сухостійного періоду

Альвеолярні епітеліоцити			Плазматичні клітини				Огрядні клітини			
Площа, мкм ²		Ядерно-цитоплазматичний індекс	Кількість *	Площа, мкм ²		Ядерно-цитоплазматичний індекс	Кількість *	Площа, мкм ²		Ядерно-цитоплазматичний індекс
Клітини	Ядра			Клітини	Ядра			Клітини	Ядра	
68,9± 1,73	17,9± 0,24	0,26	3,0± 1,1	52,6± 1,54	15,1± 0,1	0,29	1,0± 0,55	41,1± 0,94	11,3± 0,21	0,27

Примітка. * – у полі зору сітки окуляра $\times 1000$

та соматичних клітин з незначним переважанням епітеліоцитів, зменшення площі клітин та зростання ядерно-плазматичного індексу (табл. 13). Описані зміни підтверджують наявність дистрофічних процесів у молочній залозі. Спостерігається вакуолізація плазми, слабка її забарвленість, зміна форм, вихід ядер за межі клітин, утворення симпластів епітеліоцитів (рис. 14).

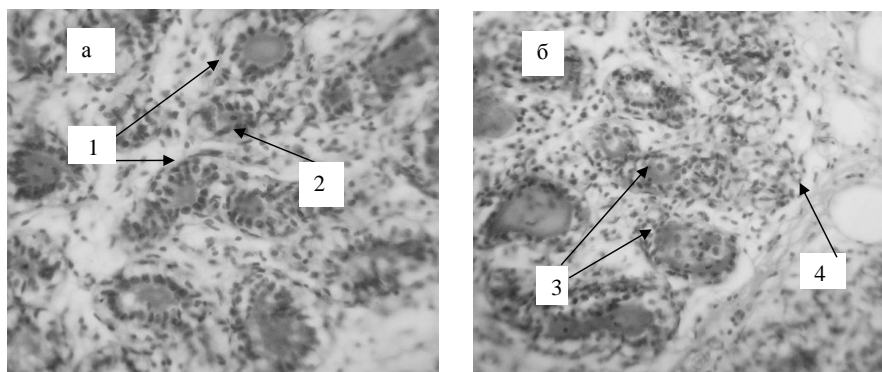


Рис. 13. Гістоструктура молочної залози корів сухостійного періоду: а – нормальний морфо-функціональний стан, б – мастодистрофія. Фарбування гематоксилін-еозином ($\times 100$)

Таблиця 13

Характеристика секрету молочної залози корів сухостійного періоду з дефіцитом каротину, вітаміну А, порушень у прооксидантно-антиоксидантній системі

Кількість мікробів *	Кількість соматичних клітин**			Площа епітеліоцитів, мкм ²		Ядерно-цитоплазматичний індекс	Співвідношення: лейкоцити / епітеліоцити
	Всього	Лейкоцитів	Епітеліоцитів	Клітини	Ядра		
64,0 ± 4,6	31,0 ± 2,4	13,0 ± 1,45	18,0 ± 0,36	171,44	48,83,	0,28	1 : 1,4

*Примітки: * – у полі зору сітки окуляра x1000; ** – у полі зору сітки окуляра x400*

Отже, підсумовуючи результати досліджень цієї серії, що базуються на клініко-експериментальних даних, можна стверджено констатувати факт створення узагальноної креативної концепції, що пояснює причини існування розбіжностей показників концентрації колостральних імуноглобулінів у корів.

Чисельна наукова та практична література насичені інформацією про те, що дефіцит каротину у раціонах для тварин носить глобальний характер, особливо у зимово-весняний період. Каротин – речовина, з якої утворюється вітамін А зі своїми особливими призначеннями в організмі. Він є ще й дуже потужним антиоксидантом. Дефіцит каротину у кормах раціону призводить до А-вітамінної недостатності, а також до збоїв у прооксидантно-антиоксидантній системі у бік збільшення концентрації вільнорадикальних окислів в організмі корів. Це було доведено експериментальними дослідженнями. Таким чином, в організмі виникають два негативи, що діють паралельно. Дефіцит каротину, вітаміну А негативно впливає на органи, складовою і головною функціональною одиницею яких є секреторна епітеліальна клітина (молочна залоза), а утворені при цьому вільнорадикальні окисли у високій концентрації надзвичайно ефективно «руйнують» клітини за послаблення антиоксидантного захисту.

Такий вплив призводить до порушень структури та функції тканин молочної залози. Переважають явища альтерації. Дистрофічні процеси відбуваються у мамарних епітеліоцитах та клітинах – продуцентах імуноглобулінів, послабляються міжклітинні контакти в результаті утворюється простір між

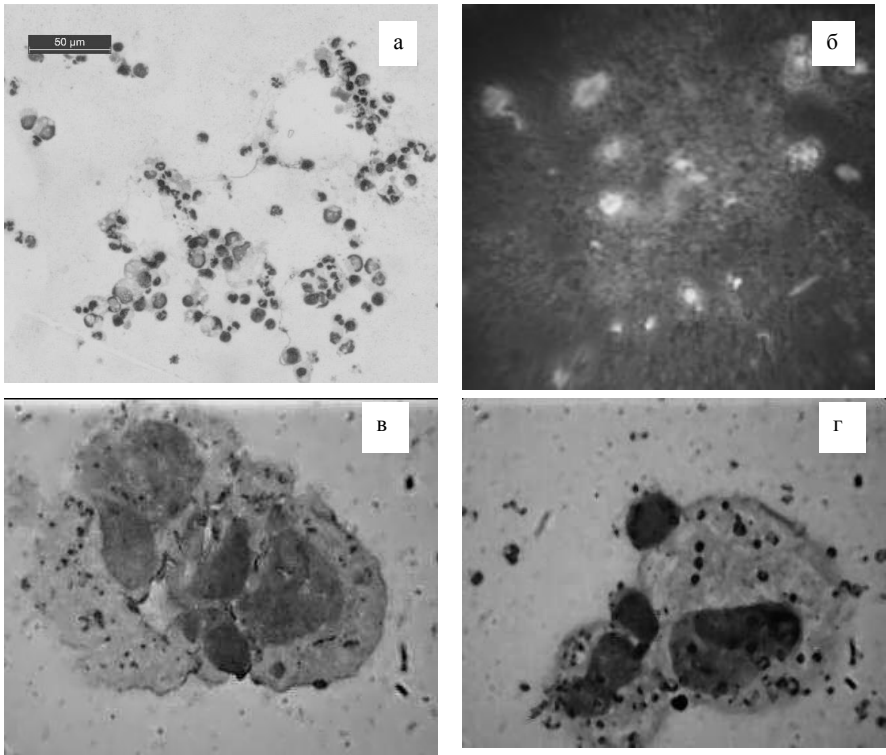


Рис. 14. Мазок секрету молочної залози корови з дефіцитом каротину, вітаміну А, порушеннях у прооксидантно-антиоксидантній системі. Фарбування: а, в, г – за Потпенгеймом; б – акредіновий помаранчевий (x1000)

епітеліоцитами, зростає проникність капілярів. Разом з тим відсутні: лейкоцитарна реакція; значна десквамація епітеліоцитів та висока мікробна контамінація. На даному етапі розвитку патологічного процесу відсутня ексудація.

Уявлення про сутність доклінічного, безсимптомного періоду хвороб знаходиться у повній відповідності з основною тенденцією вдосконалення їх діагностики: тут переважають біофізичні, біохімічні, морфологічні методи, а також використання інформаційно-технічних приладів.

Головною метою, що диктується практикою ветеринарної медицини, є виявлення найбільш ранніх стадій патологічного процесу. Ці дослідження наближаються до організації визначень на молекулярному, ультраструктурному рівнях, на яких «зав'язується» патологічний процес і де він проходить дійсно ранні, ще нічим зовнішньо (симптоматично) не виявлені фази свого

розвитку. Потім можуть розвиватися особливі комбінації декількох, завжди одних і тих же, стандартних біологічних процесів: порушення кровообігу, дистрофія, запалення, регенерація, які прийнято об'єднувати під рубрикою «типових загальнопатологічних процесів».

У зв'язку з недостатнім з'ясуванням заслуговують на увагу наступні стани та процеси: інволюція-еволюція молочної залози як підготовка до майбутньої лактації; дистрофія, прискорений апоптоз та десквамація мамарних альвеолярних епітеліоцитів; дистрофія, зниження кількості та активності клітин (плазмочитів) продуцентів імуноглобулінів, викликаних дією патогенів чи інших негативів (висока концентрація вільнорадикальних окислів, зниження антиоксидантного захисту, дефіцит каротину і вітаміну А). Це призводить до мастодистрофії та значного зростання кількості соматичних клітин у секреті.

Перераховані процеси важко діагностувати особливо у диференціальних аспектах. Гіпотетично можна стверджувати, що вони, за інших аналогів, займають провідне місце у виникненні дефіциту колостральних імуноглобулінів.

У корів з мастодистрофією концентрація колостральних імуноглобулінів була низькою і дорівнювала $52 \pm 7,5$ та $56,9 \pm 7,4$ г / л (табл. 14).

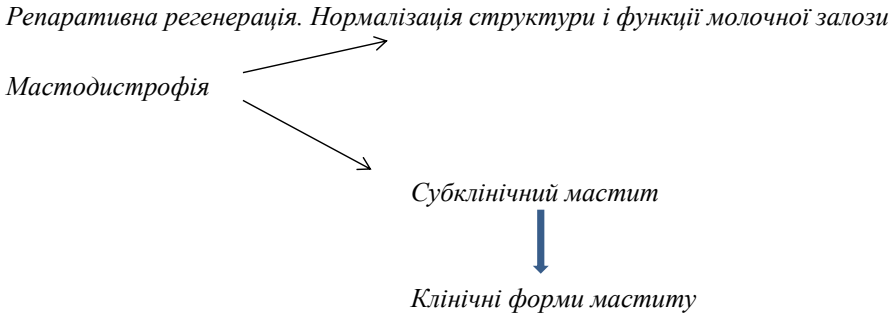
Таблиця 14

Концентрація колостральних імуноглобулінів у корів

Об'єктивні дані	Вміст імуноглобулінів у молозиві корів, г/л	
	Колострометрія	Реакція з сульфідом натрію
Годівля корів неповноцінна. Три-валлий дефіцит картини у раціоні. Мастодистрофія	$52 \pm 7,5$	$56,9 \pm 7,4$

Такий морфо-функціональний стан можна впевнено назвати мастодистрофією, що закінчується альтернативно: а) при ефективному лікарському втручанні процес призупиняється та настає репаративна регенерація; б) не втручання призводить до розвитку субклінічного маститу, а потім до клінічних форм маститу.

Цей ланцюговий процес можна зобразити схематично:



Завдання для лікарів ветеринарної медицини – зупинити процес на стадії мастодистрофії, використовуючи сучасні ефективні методи терапії.

У випадках невтручання патологічний процес активізується та поглиблюється. Після проникнення у тканини молочної залози мікроорганізми швидко розмножуються. Мікробний пейзаж змінюється як кількісно (мікробна контамінація сягає мільйонів) так і якісно – переважає кокова група. Мікроби передаються від корови до корови та з однієї чверті в іншу, що характерно для висококонтагіозних організмів. Цьому сприяє структура молочної залози: велика кількість паренхіматозної тканини, судин та їх чисельних анастомозів, розгалужена сітка альвеол, молочних протоків та ходів.

Встановлено, що мобілізація клітин починається через 4 год і досягає піку через 12 год після інфікування. Інші патогени можуть продукувати токсини, які пролонговано впливають на місцеві тканини і тому патологічний ефект та імунна відповідь виникають значно пізніше. Мікроорганізми, що локалізуються всередині клітин індукують клітинну імунну відповідь, а розчинні білкові антигени – гуморальну.

Іншими важливими факторами мобілізації секреторних та імунних клітин у слизовій оболонці є так звані міжклітинні адгезивні молекули ендотелію кровоносних судин, альвеолярних епітеліоцитів, плазмоцитів.

Відбувається зниження судинного тону, яке швидко змінюється розширенням капілярів. Підсилюється мікропіноцитоз, збільшується проникність судин.

Розвивається лейкоцитарна реакція. Спочатку за межі судинної стінки виходять поліморфноядерні гранулоцити (нейтрофіли, еозинофіли), потім моноцити і останніми – лімфоцити.

Кількість лейкоцитів у молоці має значну варіабельність. В 1 мл молока нараховують 0,5-1 млн клітин. Число їх залежить від різних факторів: ста-

ну тканин молочної залози, санітарного стану приміщень, часу доби, періоду лактації. Тут багато епітеліоцитів, макрофагів, лімфоцитів.

У молоці корів нормою вважається присутність 500 тис. клітин, 60-80 % з яких представлені лейкоцитами.

У нормі лейкоцити, циркулюючи з кров'ю, мігрують у всі тканини організму, але при цьому кожна із популяцій має свій особливий характер міграції. Шляхи міграції залежить від стадії диференціювання та рівня активності клітин.

У процесі міграції лейкоцитів виділяють дві головні стадії. Перша – це прилипання (адгезія) циркулюючих клітин до судинного ендотелію з наступним проникненням між ендотеліоцитами, або крізь них. У другій стадії лейкоцити, що подолали ендотелій, мігрують за хемостатичними стимулами.

На міграцію лейкоцитів через ендотелій впливають: 1) величина поверхневого заряду взаємодіючих клітин; 2) сила гемодинамічного змиву у судинному руслі; 3) експресія комплементарного набору молекул адгезії на поверхні як лейкоцитів, так і ендотеліальних клітин. Це пояснює той факт, що лейкоцити мігрують із кровеносного русла через стінку венул, де поверхневий заряд ендотеліоцитів низький, гемодинамічний змив незначний, а молекули клітинної адгезії експресуються вибірково.

Міграція лімфоцитів із кровотоку у лімфовузлі, лімфоїдну тканину відбувається через високоендотеліальні венули. Через стінки цих венул виходить із кровотоку 25% лімфоцитів.

Після проникнення в одношаровий епітелій альвеол, лейкоцити, порушуючи структуру щільного контакту між секреторними клітинами та мігруючи далі у порожнину, попадають у молоко.

Проникнення лейкоцитів у молоко через одношаровий епітелій альвеол і дрібних проток є основним шляхом.

Механізми клітинної міграції. Вихід лейкоцитів із судинного русла через ендотелій відбувається поетапно:

- крайове стояння – рух лейкоцитів по венулі сповільнюється і вони котяться по ендотелію;
- активація – зупинені лейкоцити підлягають дії цитокінів, хемотоксичних агентів, компонентів поверхні ендотелія і позаклітинного матриксу. Ці фактори здатні активізувати клітину і включити програму її міграції;
- після прикріплення лейкоцитів мобілізуються інтегрини, які взаємодіючи з ендотеліальними молекулами міжклітинної адгезії активують клітини до міграції;
- міграція – за участі нового набору молекул адгезії лейкоцити

зв'язуються з базальною мембраною ендотелія та проникають крізь неї;

- лізис – мігруючі клітини виділяють ферменти, що лізують колаген та інші компоненти базальної мембрани ендотелію і це дозволяє лейкоцитам проникнути у тканини.

Запалення – це реакція організму на впровадження інфікуючого агента, введення антигену чи фізичне ушкодження тканин.

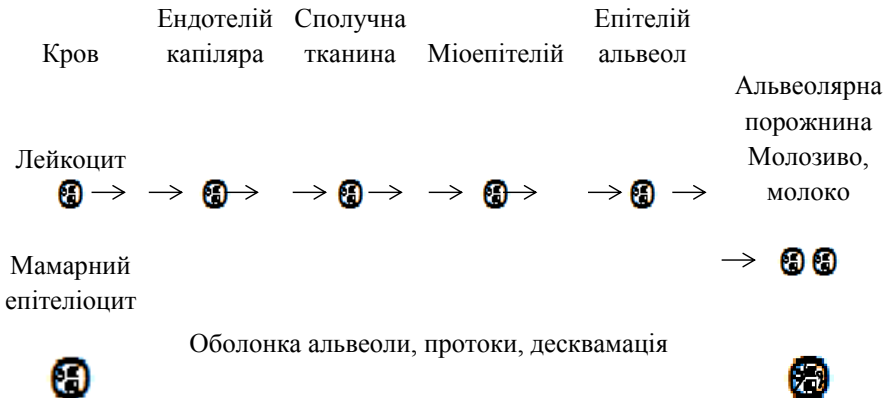
Окрім підсилення клітинної міграції, запалення викликає надходження різних розчинних молекул із плазми крові.

Протилежно лейкоцитам, які мігрують через ендотелій венул, молекули плазми крові попадають у запальний екссудат головним чином із капілярів, де кров'яний тиск вище. Це відбувається за рахунок значного кровонаповнення капілярів в осередку запалення і підвищення проникності капілярів.

Проникність капілярів підвищується внаслідок втягування (ретракції) клітин ендотелію та підсилення транспорту везикул крізь ендотелій. Це забезпечує надходження у вогнище запалення більш крупних молекул, ніж тих, що можуть проникати крізь епітелій (схема 1).

Таким чином, у вогнище запалення надходять антитіла, компоненти комплементу та інші ферментні системи плазми крові.

Схема 1. Гемато-молочний бар'єр Міжклітинні контакти, міжклітинний простір



При запальних процесах у тканинах молочної залози тварин значно зростає число огрядних клітин, активізується їх дегрануляція, збільшується концентрація колостральних імуноглобулінів.

Описані зміни узгоджуються та корегують цитограму секрету молочної залози корів сухостійного періоду: значно збільшується кількість мікробів при цьому вони можуть структурно об'єднуватись, утворюючи бар'єри та соматичних клітин, серед останніх переважають лейкоцити, зростає кількість огрядних клітин з зернистою плазмою. Концентрація колостральних імуноглобулінів зростає, що пояснюється індукцією клітин продуцентів цих речовин (плазмоцити, огрядні клітини) на антиген. Це нагадує, що молочна залоза – складний орган, який функціонує у паралельному режимі: забезпечує захист новонародженого та створює резистентність для своїх тканин.

Методи упередження дефіциту колостральних імуноглобулінів

Імунодефіцити у телят у період новонародженості можна попередити через материнський організм шляхом застосування сухостійним коровам спеціальної підгодівлі, що складається з макро- і мікроелементів, біологічно активних речовин. При цьому підвищується якість, імунна повноцінність молозива, а отже й життєздатність, імунологічна реактивність приплоду, а також подальша продуктивність матері новонародженого.

Застосування озонування молозива корів, що використовується для вигоювання телят, підвищує абсорбційну здатність імуноглобулінів кишечника новонароджених тварин і підвищує їх імунний статус.

Нами (В.П. Кошевой зі співавт., 2014) розроблена програма упередження дефіциту колостральних імуноглобулінів у корів. Програма передбачає застосування комбінованих препаратів, здатних нормалізувати структуру і функцію молочної залози корів сухостійного періоду і тим самим підвищити рівень колостральних імуноглобулінів.

Експериментально перевірені препарати – «Каплаестрол + CeO_2 », «Каплаестрол + ОV» (ТУ У 21.2-1452420732-002:2015) у комбінації з Прозоном.

Форми препаратів – емульсія. До складу препарату «Каплаестрол + CeO_2 » входять олійний розчин каротиноїдів, сумарні естрогени та колоїдний розчин наночастинок діоксиду церія (CeO_2).

Препарат «Каплаестрол + ОV» містить: олійний розчин каротиноїдів, сумарні естрогени та, колоїдний розчин наночастинок – ортованадату гадолінію-європію (GdVO_4Eu).

Препарат «Прозон» містить: розчин прополісу та озоновану кукурудзяну олію.

Характеристика складових частин препаратів

1. а) наночастинок CeO_2 (нанокристалічний діоксид церія, середній розмір частинок 10 x 20 нм);

б) наночастинки $GdEuVO_4$ (ортованадат гадолінію європію, середній розмір частинок – 8 x 20 нм). Препарати виготовляють в інституті сцинтиляційних матеріалів НАН України (м. Харків).

Наночастинки препаратів виявляють максимальну активність в окисно-відновних процесах, їм належить ключова роль в інактивуванні вільнорадикальних окислів, вони мають виражені антиоксидантні властивості, захищають від окисної деградації дуже важливий олеофільний антиоксидант – β -каротин, здатні проникати у ядро клітини, охороняти клітину від руйнування під дією несприятливих внутрішніх і зовнішніх факторів, запобігати окситозу (апоптозу, викликаному окисним стресом).

У присутності наночастинок концентрація вільнорадикальних окислів знижується до початкового значення. Наночастинки стимулюють проліферацію стовбурових клітин. Через нетривалий проміжок часу наночастинки регенерують і знову здатні виконувати функції антиоксидантів.

Нанобіоматеріали ефективні там, де утворюються активні форми кисню, присутній окисний стрес, і являють собою принципово новий інструмент для впливу на перебіг окисних процесів у клітині. Їх специфічні фізико-хімічні властивості дозволяють оптимізувати характер перебігу внутрішньоклітинних реакцій, забезпечити таким чином цілий спектр захисних ефектів.

2. Каротиноїди (в основному β -каротин). Ці речовини виявляють потужну антиоксидантну дію. Крім того з них в організмі утворюється вкрай необхідний вітамін А. Недостатність вітаміну А викликає в організмі різні патологічні процеси. До його відсутності найбільш чутливі епітеліальні клітини в тому числі й мамарні епітеліоцити.

3. Плацентарні естрогени (в основному естріол). Найвища їх концентрація в організмі у кінці вагітності. Трансформуються у плаценті із попередника – ДЕА (дегідроепіандростерон сульфату). Виконують багато функцій: підвищують кровоток, активізують синтез білка, РНК, змінюють іонний потенціал спокою, підвищують рецепторні зв'язки. В цілому позитивно впливають на розвиток плоду (профілактика гіпотрофії), викликають гіпертрофію молочної залози у період сухостою.

«Каплаестрол» (ГУ 24.4 1452420732-002:2008) – олійний розчин каротиноїдів та сумарних естрогенів; 1 см³ містить $10,0 \pm 0,75$ мг каротиноїдів та $1,0 \pm 0,05$ мг естрогенів (табл. 15).

4. ОКО – озонована кукурудзяна олія. Озон – високоактивний хімічний елемент, відомий як захисник живих організмів від впливу ультрафіолетових променів. Це газ із різким запахом, але при дуже низьких концентраціях відчувається як приємна свіжість.

Склад препарату в 1,0 см³

Сумарні естрогени згідно з діючою НД, мг	1,0 ± 0,05
Каротиноїди згідно з діючою НД, мг	10,0 ± 0,75
Олія рафінована згідно з ДСТУ 4492, см ³	До 1,0

Озон (O₃) – алотропна форма кисню. Виділяють кисень: одноатомний; двоатомний; озон – молекула утворена трьома атомами кисню.

Вперше озон виявив голландський фізик Мак Ван Маруш у 1785 р., а термін «озон» на визначення цього газу запропонував німецький хімік Х.Ф. Шенбейн у 1840 р. У 1896 р. американський фізик та винахідник Н. Тесла створив перший генератор озону, а нині використовується багато їх конструкцій.

Озон має високу реактивну здатність – він активно вступає в реакцію з різними біологічними об'єктами, зокрема структурами клітин. Основною мішенню його біологічної дії на клітину є плазматичні біомембрани (Н. Wolf, 1982; G.V. Sunnen, 1989; J. Greenberg, 1993; R. Viebahn-Haensler, 1999).

Найбільш глибоко та ретельно вивчені такі механізми та ефекти біологічної дії озону (Д.С. Павлов, 2003; О.В. Масленников, К.Н. Конторщикова, И.А. Грибкова, 2008; В.В. Сазонова, 2014; В. Максимов, А Чернышев, С. Каратаев, 2014):

- Антибактеріальна, антивірусна та фунгіцидна дія озону. Висока концентрація озону має виражений дезінфекційний ефект.

Бактерицидна дія озону охоплює всі види грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів. Під дією озону відбуваються локальні ушкодження плазматичних мембран та модифікація внутрішньоклітинного змісту (окислення білків, порушення структури та функції клітинних органел), що є причиною загибелі бактерій.

Окислення структур лежить в основі антивірусної дії озону. Реалізація процесу відбувається на рівні рецепторів поверхні вірусу.

Встановлена дезінфікуюча активність озону щодо грибків, найпростіших та гельмінтів.

- Протигіпоксичний ефект – реалізується за рахунок поліпшення транспорту кисню та позитивного впливу на процеси його утилізації.

Активізація транспорту кисню до тканин під дією озону пов'язана: з наростанням парціального тиску (pO₂) в артеріальній і венозній крові; змінами форм еритроцитів, здатних проникнути у найдрібніші капіляри; зменшення

зв'язку гемоглобіну з киснем. Цим механізмом сприяє вазодилатація переважно артеріол і посткапілярних венул.

Індукування процесів утилізації кисню клітинами тканин пов'язане з активізацією киснезалежних реакцій: гліколіз, β -окислення жирних кислот, цикл Кребса.

У підсумку активізується система антиоксидантного захисту, оптимізується мітохондріальне дихання, прискорюється синтез макроергічних сполук (АТФ, АМФ).

○ Протизапальна дія озону. Відбувається за рахунок зменшення ступеню тканинної гіпоксії, а також переривання циклу утворення біологічно активних речовин – простагландинів як ефektorів запалення при окисленні арахідонової кислоти, відновлення нормального рН і електролітного балансу у вогнищі запалення.

○ Підвищення кровозабезпечення тканин, органів. При введенні озону у малих концентраціях відбувається за рахунок змін та оптимізації метаболічних процесів.

○ Згортувальна система крові. Під дією озону відновлюється електричний заряд мембран формених елементів крові (еритроцитів, тромбоцитів), що проявляється зниженням їх агрегаційної здібності з одночасним зниженням рівня фібриногену та підвищенням фібринолітичної активності плазми.

○ Імуномодельючі реакції. Озон впливає на мембрану макрофагів і лейкоцитів за допомогою вторинних цитокінів і лімфокінів, що регулюють активність клітинного імунітету.

○ Дезінтоксикаційна дія озону здійснюється при оптимізації функції мікросомальної системи гепатоцитів та активізації ниркової фільтрації.

○ Знеболююча дія озону. Зниження інтенсивності больової реакції обумовлено окисленням алгопептидів, що утворюються у місці ушкодження тканини і беруть участь у передачі ноцицептивного сигналу у ЦНС. У локалізації хронічних процесів, що супроводжуються больовими реакціями необхідні відновлення балансу перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту та активація антиноцицептивних медіаторних систем.

Озон стимулює та регулює обмінні процеси, антиоксидантний захист, мікроциркуляцію та репарацію, захисні та адаптивні реакції (В.М. Федорин, А.И. Мираков, Л.Н. Муратова, 2014).

5. Прополіс. Прополіс – смолоподібна речовина, збирається бджолами для заклеювання щілин, дезінфекції та створення у вулику здорового середовища.

Він приємного запаху, має гіркувато-пекучий смак, зеленого, коричневого чи сірого кольору з жовтуватим чи червонуватим відтінками.

Прополіс добре розчиняється у спиртах, ефірі, ацетоні, бензині, частково у гарячій воді.

Хімічний склад прополісу: смоли (50-55%), бальзами (13-15%), ефірні олії (8-10%), віск (22-30%), різні мінеральні речовини. Всього в його складі більше 50 речовин, у тому числі значна кількість мікроелементів: залізо, кобальт, марганець, мідь, цинк.

Дія прополісу на організм в цілому та на органи, тканини, клітини зокрема широка та різноманітна.

- Прополіс має виражену бактерицидну, віруцидну та фунгіцидну дію.
- Активізує фагоцитоз та продукцію специфічних та неспецифічних антитіл.

- Флавоноїди прополісу підвищують тонус капілярів, беруть участь у багатьох окисно-відновних процесах, володіють антиоксидантною дією, знижують негативні впливи вільнорадикальних окислів на клітинну мембрану.

- Прополіс створює бар'єрну оболонку (демаркаційну лінію) на шляхах розповсюдження та проникнення мікроорганізмів з місць контамінації та вогнищ запалення у здорові, не ушкоджені тканини.

- Має антизапальні властивості.
- Діє кровозупинно.
- Стимулює регенерацію тканин.
- Регулює білковий, жировий, вуглеводний обмін речовин.
- Позитивно впливає на щитоподібну залозу, наднирники, статеві залози.

- Має виражену жовчогінну, сечогінну дію.
- Виявляє анестезуючі властивості.
- Має виражену дезодоруючу дію.

Програмою передбачено також проведення фармакоультрафонофорезу.

Фармакоультрафонофорез є складовою фізіотерапії. Ультразвукова терапія обумовлена дією ряду факторів: механічних пружних коливань тканин з використанням параметричної накачки, біорезонансних та фізико-хімічних ефектів, а також деякої кількості тепла, що виділяється при поглинанні тканинами ультразвукової енергії.

Ультразвукові коливання часток біологічного середовища здійснюють своєрідний мікромасаж клітин, сприяють покращенню обміну речовин, забезпечення тканин кров'ю та лімфою.

Ультразвукові коливання можна використовувати для доставки (прокачки) лікарської речовини у тканини органу. Такий подвійний терапевтичний ефект дістав назву фармакоультрафонофорез.

Обґрунтування застосування препаратів

Прогнозований комп'ютерною програмою дефіцит колостральних імуноглобулінів дає підстави для впровадження профілактичних заходів, метою яких є підвищення якості молозива у корів.

Як уже згадувалось у попередніх розділах причиною зниження концентрації імуноглобулінів у молозиві є дефіцит в організмі сухостійних корів каротину, вітаміну А, антиоксидантів та надмірна кількість вільнорадикальних окислів, а також – структурно-функціональні зміни у молочній залозі, що характеризувались дистрофією та десквамацією мамарних епітеліоцитів, зниження кількості плазматичних клітин та їх активності.

Гіпотетично можна розраховувати на високий терапевтичний ефект, спираючись на вище наведену інформацію про механізми впливу (саногенезу) складових препаратів на окремі органи чи організм в цілому.

Перш за все необхідна реабілітація структури та функції молочної залози: нормативне забезпечення організму корів каротином, вітаміном А; оптимізація прооксидантно-антиоксидантної системи; підвищення кровозабезпечення та обмінних процесів у тканинах; нормалізація структури та активності мамарних альвеолярних епітеліоцитів, плазматичних клітин; створення несприятливих умов для розвитку мікроорганізмів.

У сучасній ветеринарній медицині пріоритетними є використання комбінованих, комплексних препаратів для проведення профілактичних та терапевтичних процедур.

Розроблена нами програма упередження дефіциту колостральних імуноглобулінів передбачає за показаннями використання для сухостійних корів препаратів багатовекторної, але спрямованої дії.

Методика приготування препаратів

«Каплаестрол». Препарат «Каплаестрол» містить β -каротин та сумарні естрогени. β -каротин отримують з рослини кавбуз шляхом екстрагування. Сумарні естрогени також отримують шляхом екстрагування з жіночої плаценти.

«Каплаестрол» повинен відповідати вимогам (ТУ У 21.2-1452420732-002:2015) і виготовлятися згідно з технологічною інструкцією, затвердженою у встановленому порядку з додержанням санітарних норм і правил.

За органолептичними, фізико-хімічними показниками препарат повинен відповідати характеристикам і нормам, зазначеним у таблиці 16.

Препарат розфасовують по 10, 20, 50, 100 см³ у пляшки з темного скла.

Органолептичні та фізико-хімічні показники препарату

Назва показника	Значення
Зовнішній вигляд	Прозора масляниста рідина
Колір	Від темно-жовтого до коричневого
Запах	Специфічний
Масова частка каротиноїдів, мг/см ³	10,0 ± 0,75
Масова частка сумарних естрогенів, мг/см ³	1,0 ± 0,05
Номінальний об'єм, см ³	10; 20; 50; 100

Комплексний препарат «Каплаестрол+СеО₂» отримано шляхом змішування препарату «Каплаестрол» та СеО₂ у певній кількості з подальшим отримання розчину у вигляді емульсії, який містить СеО₂ – 0,14 г/л.

«Каплаестрол+OV». Комплексний препарат готують шляхом змішування препарату «Каплаестрол» та GdEuVO₄ з подальшим отриманням емульсії. Концентрація GdEuVO₄ – 0,15 г/л

Озонований матеріал. Методи синтезу озону різнобічні, однак найбільш поширеним є – електророзрядний. Заслугує на увагу система конструкції (див. рис. 1) безбар'єрного отримання озону.

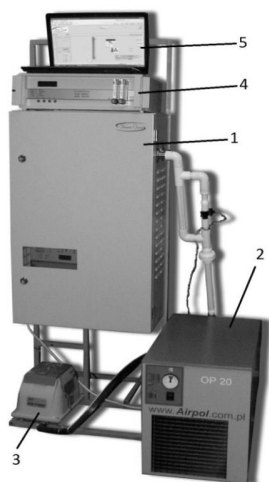


Рис. 15. Склад установки по обробці рослинних олій: 1 – безбар'єрний озонатор серії «Stream Ozone», 2 – осушувач повітря, 3 – повітряний компресор, 4 – вимірювач концентрації озону, 5 – система контролю та управління

«ОКО» (озонована кукурудзяна олія). У скляну колбу об'ємом 500 мл заливають 300 мл очищеної, рафінованої олії кімнатної температури. Колбу з'єднують з озонатором трубою, виготовленою з озоностійкого матеріалу. На озонаторі виставляють потужність, достатню для отримання необхідної концентрації ОКС (озоно-кисневої суміші –

5-10 мг/л), час барботажу – 2 год. Після закінчення барботування олію розливають у флакони з темного скла і зберігають у холодильнику 1-2 міс.

«Прозон» – комплексний препарат у складі якого: озонована кукурудзяна олія та спиртовий розчин прополісу. Препарат розроблений на кафедрі акушерства, гінекології і біотехнології розмноження тварин Харківської державної зооветеринарної академії.

У скляну банку з притертою пробкою заливають 100 мл 96° етилового спирту та вносять 30 г прополісу. Помішуючи банку залишають на декілька діб. Після цього масу прополісу ретельно розтирають до зменшення дрібних крупинок. Змішують 10 мл (30%) спиртового розчину прополісу з 100 мл озонованої кукурудзяної олії. Розливають у флакони з темного скла і зберігають у холодильнику 1-2 міс.

Препарати «Каплаестрол+CeO₂» та «Каплаестрол+OV» вводяться коровам сухостійного періоду інтрапельв'яльно чи інтраабдомінально (рис. 16, 17).



Рис. 16. Інтрапельв'яльне введення препарату



Рис. 17. Інтраабдомінальне введення препарату

«Прозон» наноситься на шкіру молочної залози та прокачується у тканини органу за допомогою АУТн-1 (фармакоультрафонофорез).

«Каплаестрол + CeO₂» та «Каплаестрол + OV» вводили у дозі 10 мл, тричі з інтервалом 72 год, паралельно проводили фармакоультрафонофорез (рис. 18), доза «Прозону» – 20 мл на одну процедуру.

Дослідження проведені на коровах з тривалою значною дефіцитною годівлею на каротин. Тварини були розділені за принципом аналогів на три групи. Вік корів 5-6 років, 250-255 доба вагітності.

Коровам II групи вводили препарат «Каплаестрол + CeO₂» + «Прозон», III-ої – «Каплаестрол+OV» + «Прозон», I-ої – були контрольними. Результати впливу препаратів на показники гомеостазу, морфо-функціональний стан мо-

лочної залози наведені у послідовних матеріалах (табл. 17, 18).

Після застосування препаратів тваринам з дефіцитною годівлею на каротин відбулося підвищення вмісту у сироватці крові каротину (на 78,1% і 81,1% відповідно), вітаміну А (на 80% і 85%), каталази (на 49,2% і 50,8%), супероксиддисмутази (на 51,5% і 59%). В еритроцитах зріс вміст каталази (на 43,1% і 41,9%), відновленого глутатіону (на 16,3% і 16,8%). Зниження концентрації малонового діальдегіду відбулося як у сироватці крові, так і в еритроцитах (на 70,7% і 74,8% та 19,9% і 25,9% відповідно).

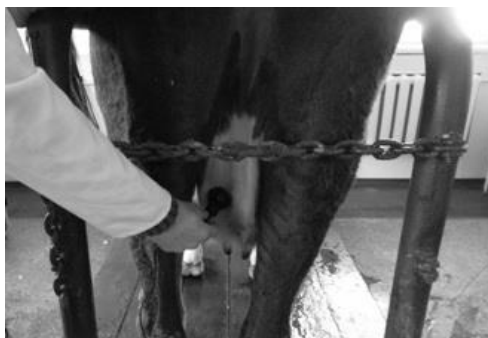


Рис. 18. Техніка фармакоультрафонофорезу

Таблиця 17

Вплив препаратів на вміст каротину, вітаміну А у сироватці крові та стан прооксидантно-антиоксидантної системи

Показники досліджень		Групи тварин		
		Контрольна (n = 5)	I – Дослідна (n = 5)	II – Дослідна (n = 5)
		Значний дефіцит каротину, вітаміну А, збої у ВРО-АОЗ	Значний дефіцит каротину, вітаміну А, збої у ВРО-АОЗ Введення препарату «Каплаестрол + СеО ₂ » + «Прозон»	Значний дефіцит каротину, вітаміну А, збої у ВРО-АОЗ Введення препарату «Каплаестрол + ОV» + «Прозон»
1		2	3	4
Вміст у сироватці крові (мкмоль/л)	Каротину	0,7±0,24	3,2±0,44	3,7±0,24
	Вітаміну А	0,24±0,07	1,2 ±0,31	1,6 ±0,18

Продовження таблиці 17

		1	2	3	4
Вміст в еритроцитах	Малоновий діальдегід, мкМ/л	44,08±0,38*	35,3±0,65*	32,66±0,44*	
	Активність каталази, мкМ/Н2О2/л-хв	17,34±0,3	30,46±0,99*	29,83±0,24*	
	Відновлений глутатіон, мкМ/л	3,33±0,05*	3,98±0,06*	4±0,07*	
Вміст у сироватці крові	Малоновий діальдегід, мкМ/л	0,99±0,06*	0,29±0,01*	0,25±0,02*	
	Активність каталази, мкМ/Н2О2/л-хв	28,19±0,22*	55,54±1,4*	57,26 ±0,48	
	СОД, умовн. Од/мгНв	6,3±0,37*	13,0±1,04	15,4±0,93*	

Примітка: * – $P < 0,001$

У тварин контрольної та дослідних груп спостерігались коливання показників, але вони були незначним.

Таблиця 18

Вплив препаратів на показники вмісту білка та його фракцій, кальцію, неорганічного фосфору у сироватці крові

Показники досліджень		Групи тварин		
		Контрольна (n=5)	I – Дослідна (n=5)	II – Дослідна (n=5)
1		2	3	4
Білки, г/л	Загальний білок	75,62±0,65	75,99 ±1,04	80,36 ±0,36
	Альбуміни	34,4±0,46*	27,55 ±0,7*	28,53 ±0,88
	Сумарні глобуліни	41,06±0,14*	46,44 ±0,5*	49,83 ±0,86*

Продовження таблиці 18

1		2	3	4
Фракції	$\alpha 1$	3,56±0,13*	2,58 ±0,1	2,16 ±0,14
	$\alpha 2$	6,48±0,13	6,95 ±0,06***	6,59 ±0,15
	β	10,94±0,16	13,74 ±0,5*	16,82 ±0,32*
	γ	20,12±0,24*	25,16 ±0,4*	26,26 ±0,65*
Кальцій, мкмоль/л		3,61±0,25*	3,74±0,11*	3,65±0,28*
Фосфор, мкмоль/л		2,19±0,16*	2,12±0,31*	1,93±0,15*

Примітка: * – $P < 0,001$; *** – $P < 0,01$

Враховуючи актуальність проблеми, стосовно механізмів продукції секреторних імуноглобулінів, визначення морфо-функціонального стану молочної залози корів сухостійного періоду було пріоритетним.

Застосування розроблених препаратів викликало реабілітацію молочної залози корів. Тканини стали більш структурованими. Альвеоли вистелені епітеліоцитами без ознак руйнування. Розвинена судинна система. Зросла кількість плазматичних клітин та їх площа. Люмінесценція клітин мала зелене забарвлення (табл. 19).

Таблиця 19

Вплив препаратів на морфо-функціональний стан молочної залози корів сухостійного періоду

Показники досліджень		Групи тварин		
		Контрольна (n=5)	I – Дослідна (n=5)	II – Дослідна (n=5)
1		2	3	4
Альвеолярні епітеліоцити				
Площа, мкм ²	Клітини	68,9±1,73	79,37±1,65	82,3±1,35
	Ядра	17,9±0,24	17,8±0,54	19,5±0,26
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення		0,26	0,22	0,24

Продовження таблиці 19

1		2	3	4
Плазматичні клітини				
Кількість*		3±1,1	5±0,96	6±1,2
Площа, мкм ²	Клітини	52,6±1,54	67,2±1,17	71,3±1,34
	Ядра	15,1±0,1	16,24±0,54	17,5±0,08
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення		0,29	0,24	0,25
Огрядні клітини				
Кількість*		1±0,35	3±0,52	2±0,38
Площа, мкм ²	Клітини	41,1±0,94	48,2±1,3	47,4±1,12
	Ядра	11,3±0,21	10,6±0,34	11,2±0,78
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення		0,27	0,22	0,24

Примітка: * – у полі зору сітки окуляра $\times 1000$

У практиці ветеринарної медицини для діагностики патологічних процесів у молочній залозі, особливо у диференціальних аспектах, цитологічне дослідження секрету молочної залози корів сухостійного періоду має велике значення.

У мазках секрету молочної залози корів, яким вводили препарати значно знизилась кількість мікробів та соматичних клітин. Була незначною кількість клітин з дистрофічними процесами (табл. 20).

Таблиця 20

Вплив препаратів на склад секрету молочної залози корів сухостійного періоду

Показники досліджень	Групи тварин		
	Контрольна (n=5)	I – Дослідна (n=5)	II – Дослідна (n=5)
1	2	3	4
Кількість мікробів*,	84±4,6	12±2,5	8±1,4
Соматичні клітини**, у тому числі:	31±2,4	13±1,3	10±1,2

Продовження таблиці 20

1		2	3	4
Лейкоцити		13±1,75	9±0,85	8±1,35
Епітеліоцити		18±0,36	4±0,12	2±0,23
Площа, мкм ²	Клітини	171.44	276.34	268.74
	Ядра	48.83	64.34	62.35
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення		0.28	0.23	0.23
Співвідношення лейкоцити / епітеліоцити		1:1,4	2,25:1	4:1

Примітка: * – у полі зору сітки окуляра $\times 1000$, ** – у полі зору сітки окуляра $\times 400$

Нами визначений вплив мастодистрофії та препаратів на показники вмісту імуноглобулінів у молозиві корів (табл. 21).

Таблиця 21

Вплив препаратів на вміст колостральних імуноглобулінів у корів

Показники досліджень		Групи тварин		
		Контрольна (n=5)	I – Дослідна (n=5)	II – Дослідна (n=5)
Вміст імуноглобулінів, г/л	Колострометрія	52±7,5	110±5	125±7,5
	Реакція з сульфідом натрію	56,5±7,4	116,5±4,3	118±5,25

Застосування комбінованих препаратів підвищило рівень імуноглобулінів на 51,5% та 52,8% відповідно.

Програма реабілітації молочної залози корів з використанням комбінованих препаратів, виявилась досить ефективною (табл. 22).

У дослідних корів, порівняно з контрольними зросла концентрація колостральних імуноглобулінів (на 56%), маса телят при народженні (на 23%), у місячному віці (на 29,7%). В той час як захворюваність телят зменшилась (на 29,6%). Застосування препарату виявилось економічно вигідним. Прибуток від реалізації одного теляти зріс до 467,8 грн (29,6%).

Таблиця 22

Ефективність програми реабілітації молочної залози корів

Групи тварин	Вміст імуноглобулінів у молозиві, г/л		Маса телят при народженні, кг	Захворюваність телят		Маса телят місячного віку, кг	Середньодобовий приріст, г	Потенціал розвитку новонароджених **	Прибуток від реалізації гривень на теля
	Колостро-метрия,	Реакція з сульфідом натрію		Кількість	%				
Контрольна* (n=5)	55 ± 7,5	52 ± 8,24	22 ± 3,5	2	40	31,72 ± 2,3	324 ± 43	Низький потенціал розвитку	1110,2
Дослідна (n=38)	125 ± 2,5	123 ± 9,5	28,6 ± 2,2	3	7	45,1 ± 2,1	550 ± 38	Високий потенціал розвитку	1578 +467,8

Примітка: використання комп'ютерної програми оцінки стану новонароджених

Зважаючи на поширеність використання комп'ютерної техніки у тваринництві, та для об'єктивності визначення показників, нами (О.В. Онищенко, 2013) запропонована комп'ютерна програма прогнозування відновлення функції молочної залози корів сухостійного періоду (табл. 23).

Таблиця 23

Комп'ютерна програма прогнозування відновлення функції молочної залози корів сухостійного періоду

Назва дослідження	Показники		Бали
1	2	3	4
1. Клінічне	Загальний стан корови	Нормальний	1

Продовження таблиці 23

1	2	3	4
	Продуктивність	Пригнічений	0
		Звичайна	1
		Знижена	0
	Апетит	Нормальний	1
		Знижений	0
	Температура тіла	Нормальна	1
		Підвищена	0
	Пульс	Нормальний	1
		Прискорений	0
	Дихання	Нормальне	1
		Прискорене	0
	Функціонування органів і систем організму	Нормальне	1
		З відхиленнями	0
	Показники гомеостазу	Відповідають нормативам	3
Дефіцитний стан в організмі		0	
Стан прооксидантно-антиоксидантної системи	Відповідають нормативам	3	
	Підвищення рівня ВРО на фоні зниження АОС	0	
2. Мамологічне	Розміри молочної залози	Звичайні	2
		Збільшені або зменшені	0
	Симетрія	Симетрична форма	2
		Асиметрична	0
	Консистенція	Пружно-еластична	2
		Щільна	0
	Больова реакція	Відсутня	3
		Присутня	0
	Почервоніння	Відсутнє	3
		Виражене	0
Стан лімфатичних вузлів	Без відхилень	2	
	Збільшені, болючі	0	
3. Термоскопічне та термографічне	Тип термограм	I. Аваскулярний	0
		II. Гіповаскулярний	2
		III. Васкулярний	7
		IV. Сітчасто-строкатий	2
		V. Дрібно-плямистий	2

Продовження таблиці 23

1	2	3	4
		VI Крупно-плямистий	1
4. Ультрасонографічне	Типи сонограм	I. Гіпо- та слабка зерниста гіперехогенність.	4
		II. Гіпо- та гіперехогенність не виражена.	5
		III. Локальна інтенсивна гіперехогенність	3
		IV. Широка інтенсивна гіперехогенність	0
5. Характеристика секрету	Колір	Солом'яно-жовтий	4
		Сірий	0
	Запах	Без відхилень	4
		Іхорозний	0
	Домішки	Відсутні	5
		Згустки казеїну або фібрину	0
	Проба з мастидином	Негативна	3
		Позитивна	0
6. Цитологічне (у полі зору сітки окуляра)	Мікробна контамінація	Незначна	5
		Підвищена	0
	Загальна кількість клітин	Незначна	5
		Підвищена	0
	Кількість епітеліоцитів	Незначна	5
		Підвищена	0
	Кількість лейкоцитів	Незначна	5
		Підвищена	0
	Дистрофічні епітеліоцити	Відсутні, поодинокі	5
		Значна кількість	0
	Люмінесценція епітеліоцитів	Зелена	5
		Жовто-червона	0
Низька ймовірність відновлення функції молочної залози	<80-100> балів	Висока ймовірність відновлення функції молочної залози	

Після проведення лікувально-профілактичних процедур програма дозволяє об'єктивно оцінити їх ефективність по відновленню функції молочної залози корів.

Конкретний приклад використання комп'ютерної програми прогнозу відновлення функції молочної залози корів сухостійного періоду наведено на рис. 19.

Комп'ютерно-програмний прогноз відновлення функції молочної залози корів сухостійного періоду			
Назва дослідження	Показники	Результат	
1. Клінічне	Загальний стан тварини	Нормальний	
	Продуктивність	Знижена	
	Апетит	Нормальний	
	Температура тіла	Нормальна	
	Пульс	Нормальний	
	Дихання	Нормальне	
	Функціонування органів і систем організму	Нормальне	
	Показники гомеостазу	Відповідає нормативам	
	Стан прооксидантно-антиоксидантної системи	Відповідає нормативам	
	Розміри молочної залози	Зменшені	
Мамологічне	Симетрія	Симетрична форма	
	Консистенція	Гузна-еластична	
	Больова реакція	Відсутня	
	Почервоніння	Відсутнє	
	Стан лімфатичних вузлів	Без відхилень	
3. Ультрасонографічне	Ехогенність	Пороговея структура	
	Температурний градієнт	Нормальна	
4. Термоскопічне та термографічне	Кольорова палітра	Перевислені "теплі" кольори	
	Колір	Солод'яно-жовтий	
5. Характеристика секрету	Запах	Без відхилень	
	Домішки	Відсутні	
	Проба з мастидином	негативна	
	Мікробна контамінація	незначна	
6. Цитологічне (у полі зору сітки окуляра)	Загальна кількість клітин	незначна	
	Кількість епітеліоцитів	незначна	
	Кількість лейкоцитів	незначна	
	Дистрофічні епітеліоцитів	Відсутні, подовжені	
	Люмінесценція епітеліоцитів	Сильно-зелене забарвлення	
	ЗАГАЛЬНА КІЛЬКІСТЬ БАЛІВ		100
	ВИСНОВОК		Висока імовірність відновлення функції молочної залози

Рис. 19. Приклад комп'ютерної програми прогнозу відновлення функції молочної залози корів сухостійного періоду

У зв'язку з особливостями перебігу патологічних процесів у лактаційному періоді методику застосування препарату модифіковано. Програма терапії доповнена введенням «Прозону» ще й інтрацистернально (В.П. Кошевой, О.В. Онищенко, Пастернак А.М., 2014).

Так, для терапії корів, хворих на субклінічний мастит лактаційного періоду, пропонується використання препарату «Каплаестрол + ОВ» (ТУ У 21.2-1452420732-004:2015) у комбінації з препаратом «Прозон». Обґрунтування, застосування складових препаратів аналогічне раніше наведеному для корів сухостійного періоду.

Для інтрацистернального введення препаратів застосовують інструменти різних модифікацій: КМ-1 та КМ-2 (рис. 20, 21). Інструменти відріз-

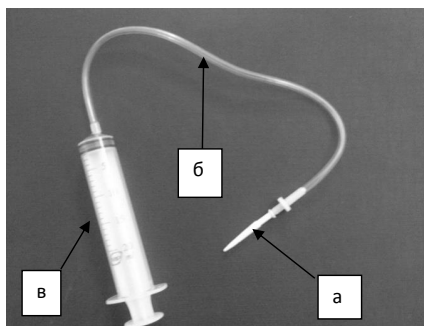
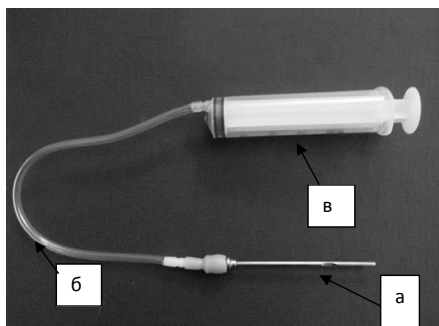


Рис. 20. Катетер молочний (КМ-1): а) власне катетер; б) перехідна трубка; в) одноразовий шприц

Рис. 21. Катетер молочний (КМ-2): а) власне катетер; б) перехідна трубка; в) одноразовий шприц

няються конструкціями катетерів.

Інтрацистернальне введення препаратів проводять після повного звільнення молочної залози від секрету. Попередньо інструменти стерилізують, сосковий отвір дезінфікують 70% спиртом (рис. 22).

Доза для інтрацистернального введення – 20 мл, кратність – 3-4 введення, інтервал – 12-24 год.



Рис. 22. Інтрацистернальне введення препарату

Терапія виявилася достатньо ефективною. Так, тривалість періоду лікування дослідних корів знизилась у порівнянні з контрольною групою з $6,2 \pm 0,49$ до $5,1 \pm 0,25$ доби. Констатоване зростання ефективності терапії до 96,9% при застосуванні препаратів «Каплаестрол+OV», «Прозону» та фармакоультрафонофорезу. Знижуються витрати на лікування корів дослідних груп (табл. 24). При субклінічному маститі корів лактаційного періоду клінічні ознаки не виражені, тому головним фактором одужання корів є нормалізація показників цитограм молока.

Для підтвердження отриманих даних проведений аналіз цитограм мазків молока корів (рис. 23, 24).

Як свідчать дані таблиці у корів зменшилися: кількість епітеліоцитів та лейкоцитів на 43,85 %, мікробів – на 49,34%, клітин з жовто-червоним забар-

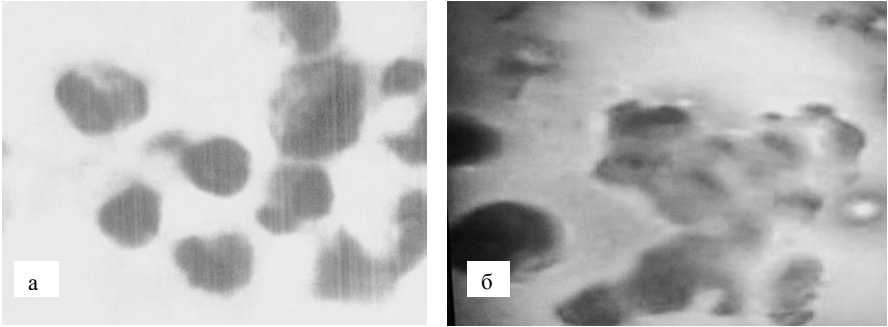


Рис. 23. Цитограма секрету молочної залози корови до лікування. Фарбування за Пап-пенгеймом $\times 1000$: а) лейкоцитарна реакція, б) дистрофія епітеліоцитів

вленням – на 66,6%; збільшилась кількість клітин із зеленим забарвленням – на 55,5% (табл. 25, рис. 25).

Таблиця 24

Результати терапії корів із субклінічними маститами лактаційного періоду

Спосіб лікування	Тривалість періоду від початку лікування до одужання, дів ($M \pm m$)	Ефективність лікування			Витрати на курс лікування	
		Кількість корів, що одужали	Одужання у зазначений термін не відбулося	%	Загальна сума (грн)	На корову (грн)
1	2	3	4	5	6	7
1. За програмою. Пункт «Застосування антибактеріальних препаратів» включає введення антибіотика Мастилексу ($n=17$)	$6,2 \pm 0,49$	14	3	82,4	1649	97

Продовження таблиці 24

1		2	3	4	5	6	7
2. За програмою. Пункт «Застосування препаратів загальної дії» включає введення препарату ортованадату гадолінію європію	Пункт «Застосування антибактеріальних препаратів» включає використання інтрацистер-нального введення «Прозону» + фармакоультрафонофорез (n=33)	5,1 ± 0,245*	32	1	96,9	1650	50

*P < 0,05

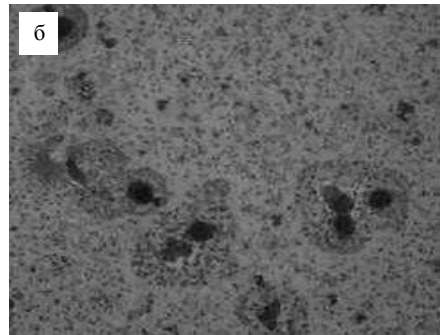
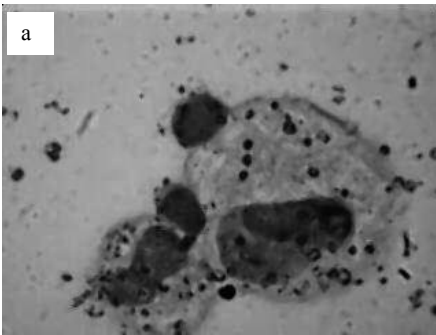


Рис. 24. Цитограма секрету молочної залози корови після лікування. Фарбування за Паппенгеймом $\times 400$: а, б – нормальний тип мазка після лікування

Таблиця 25

Характеристика мазків молока

Загальна характеристика мазка		До лікування	Після лікування	Фармакологічний ефект	
				±	%
1		2	3	4	5
Світлоплична мікроскопія	Кількість епітеліоцитів та лейкоцитів *	57 ± 2,32	32 ± 1,54**	-25	43,85

Продовження таблиці 25

1		2	3	4	5
	Кількість мікробів *	458±1,67	232±1,89	-226	49,34
	Співвідношення кількості епітеліоцитів та лейкоцитів	1:3	3:1	-	-
	Співвідношення кількості епітеліоцитів з нормальною структурою та дистрофією (%)	2:3,5	3:5	-	-
Люмінесцентна мікроскопія	Клітини з зеленим забарвленням	4±0,44	9±1**	+5	55,5
	Клітини з жовто-червоним забарвленням	12±0,89	4±0,63**	-8	66,6
	Співвідношення клітин	1 : 4	1 : 3,5	-	-

Примітки: * – у квадраті сітки окуляра, об'єктив $\times 100$; ** $P \leq 0,001$

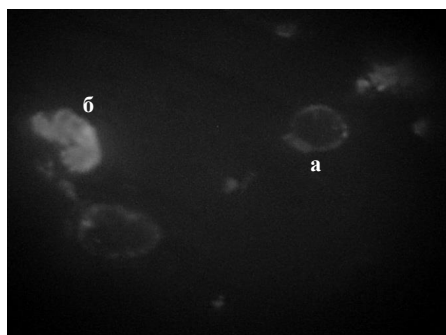
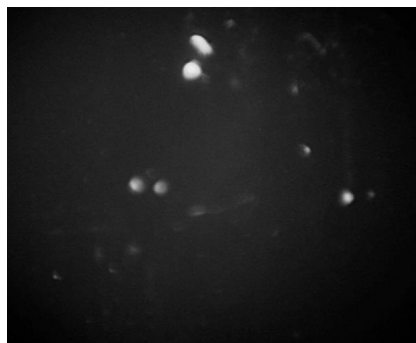
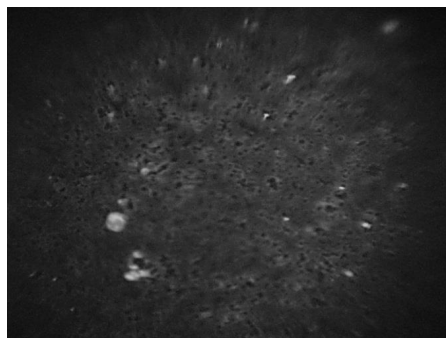


Рис. 25. Люмінесцентна мікроскопія мазка секрету молочної залози корови. Фарбування акредіновим помаранчевим, $\times 400$: а) зелений колір – нормальні клітини; б) жовтий колір – дистрофічні клітини

Для прогнозування відновлення функції молочної залози корів лактаційного періоду нами (А.М. Пастернак, В.П. Кошевой, М.М. Іванченко, 2013) розроблена комп'ютерна програма (табл. 26, рис. 26).

Таблиця 26

Комп'ютерно-програмний прогноз відновлення функції молочної залози корів лактаційного періоду

Назва дослідження	Показники		Бали	
1	2		3	
1. Клінічне	Загальний стан корови	Нормальний	1	
		Пригнічений	0	
	Продуктивність	Звичайна	1	
		Знижена	0	
	Апетит	Нормальний	1	
		Знижений	0	
	Температура тіла	Нормальна	1	
		Підвищена	0	
	Пульс	Нормальний	1	
		Прискорений	0	
	Дихання	Нормальне	1	
		Прискорене	0	
	Функціонування органів і систем організму	Нормальне	1	
		З відхиленнями	0	
	Показники гомеостазу	Відповідають нормативам	3	
		Дефіцитний стан в організмі	0	
	Стан прооксидантно-антиоксидантної системи	Відповідає нормативам	3	
		Підвищення рівня ПОЛів на фоні зниження АОС	0	
	2. Мамологічне	Розміри молочної залози	Звичайні	2
			Збільшені або зменшені	0
Симетрія		Симетрична форма	1	
		Асиметрична	0	
Консистенція		Пружно-еластична	2	
		Щільна	0	
Больова реакція		Відсутня	3	
		Присутня	0	
Почервоніння		Відсутнє	2	

Продовження таблиці 26

1	2		3
		Виражене	0
	Стан лімфатичних вузлів	Без відхилень	3
		Збільшені, болючі	0
3. Термоскопічне та термографічне	Тип термограм	I. Аваскулярний	0
		II. Гіповаскулярний	0
		III. Васкулярний	5
		IV. Сітчасто-строкатий	0
		V. Дрібно-плямистий	0
		VI. Крупно-плямистий	0
4. Ультрасонографічне	Типи сонограм	I. Гіпо- та слабка зерниста гіперехогенність.	0
		II. Гіпо- та гіперехогенність не виражена.	5
		III. Локальна інтенсивна гіперехогенність	
		IV. Широка інтенсивна гіперехогенність	
5. Характеристика секрету	Колір	Солом'яно-жовтий	4
		Сірий	0
	Запах	Без відхилень	5
		Іхорозний	0
	Домішки	Відсутні	5
		Згустки казеїну або фібрину	0
	Проба з мастидином	Негативна	6
		Позитивна	0
6. Цитологічне (у полі зору сітки окуляра)	Мікробна контамінація	Не значна	5
		Підвищена	0
	Загальна кількість клітин	Незначна	6
		Підвищена	0
	Кількість епітеліоцитів	Незначна	6
		Підвищена	0
	Кількість лейкоцитів	Незначна	7
		Підвищена	0

Продовження таблиці 26

1	2	3	
	Дистрофічні епітеліоцити	Відсутні, поодинокі	6
		Значна кількість	0
	Люмінесценція епітеліоцитів	Зелена	8
		Жовто-червона	0
Низька ймовірність відновлення функції молочної залози	<80-100> балів	Висока ймовірність відновлення функції молочної залози	

Комп'ютерно-програмний прогноз відновлення функції молочної залози корів лактаційного періоду		
Назва дослідження	Показники	Результат
1. Клінічне дослідження	Загальний стан тварини	Нормальний
	Продуктивність	Звичайна
	Апетит	Нормальний
	Температура тіла	Нормальна
	Пульс	Нормальний
	Дихання	Нормальне
	Функціонування органів і систем організму	Нормальне
	Показники гомеостазу	Відповідають нормам
	Стан прооксидантно-антиоксидантної системи	Відповідає нормам
2. Мамологічне дослідження	Розміри молочної залози	Звичайні
	Симетрія	Симетрична форма
	Консистенція	Пружко-еластична
	Больова реакція	Відсутня
	Почервоніння	Відсутнє
	Стан лімфатичних вузлів	Без відчуження
3. Ультрасонографічне дослідження	Ехогенність	Гомогенна структура
4. Термоскопічне та термографічне дослідження	Температурний градієнт	Нормальний
	Кольорова палітра	Переважає "тепла" кольора
5. Дослідження секрету	Колір	Солом'яно-жовтий
	Запах	Без відчуження
	Домшки	Відсутні
	Проба з мастидином	Негативна
6. Цитологічне дослідження секрету (у полі зору сітки окуляра)	Мікробна контамінація	Незначна
	Загальна кількість клітин	Незначна
	Кількість епітеліоцитів	Незначна
	Кількість лейкоцитів	Незначна
	Дистрофічні епітеліоцитів	Відсутні, поодинокі
	Люмінесценція епітеліоцитів	Сильно-зелене забарвлення
ЗАГАЛЬНА КІЛЬКІСТЬ БАЛІВ		100
ВИСНОВОК		Висока ймовірність відновлення функції молочної залози

Рис. 26. Приклад комп'ютерної програми відновлення функції молочної залози лактаційного періоду