

МУКОЗНА ИМУННА СИСТЕМА И НЕЙНАТА РОЛЯ ЗА ИМУННИЯ СТАТУС НА ПОДРАСТВАЩИ ПРАСЕТА

Румен Караколев

Национален диагностичен научноизследователски ветеринарномедицински институт „проф. д-р Г. Павлов”, 1606 София, България, r_karakolev@mail.bg

THE MUCOSAL IMMUNE SYSTEM AND ITS ROLE IN THE IMMUNE STATUS OF YOUNG PIGS

Rumen Karakolev

National Diagnostic and Research Veterinary Medical Institute "Prof Dr G. Pavlov" - Sofia 1606, Bulgaria, r_karakolev@mail.bg

ABSTRACT

The mucosa of the respiratory system and the gastrointestinal tract are the most extensive tissues in the entire organism that have immune functionality. In newborn and young animals, they are also the part of the common immune system which engages earlier and is related to innate immunity. This enables the implementation of an early defence of the organism through the administration of polybacterial immunomodulators. Mucosal immunisations enable increasing natural resistance and ensure active interaction between the innate and acquired immune response.

Keywords: mucosal immunity, natural resistance

Мукозна имунна система

Мукозната имунна система при свинете осъществява защита срещу инфекциозни и неинфекциозни външни фактори, разпознава погълнатите хранителни вещества, а също и коменсалната от патогенната микрофлора. Тя обхваща мукозните повърхности и образува лумена на респираторния, стомашночревния и урогениталния тракт. Молекулните и клетъчни елементи на тази система са изградени в продължение на дълъг еволюционен период, като отговор на специфичните за свинете условия на живот. Ето защо, имунните реакции, дешифрирани най-често на модел мишка или човек, трябва да се пренасят към свинете много предпазливо.

Носно-асоциирана лимфна тъкан (nasal-associated lymphoid tissue – NALT) и бронхо-асоциирана лимфна тъкан (bronchus-associated lymphoid tissue - BALT)

Епителната тъкан на носните кухини съдържа лимфоретикулни тъканни агрегати, отделни лимфоцити и тубоалвеоларни жлези. Респираторната част на фаринкса и трахеята е покрита с ресничест стълбовиден епител и Гоблетови клетки. Lamina propria mucosae съдържа множество изолирани лимфни възли или тонзили, част от пръстена на Waldeyer (*tonsilla veli palatini, t. pharyngea, t. tubaria, t. paraepiglottica, t. lingualis*), който има важна роля за индуциране на мукозния имунен отговор /2/.

Мукозният секрет в респираторния тракт се продуцира от различни видове клетки. В проксималната част това са Гоблетови клетки, разпръснати между епителните в съотношение 1:5 (техният брой се увеличава при хронични възпаления). Тези клетки намаляват в дистално направление и вече не се откриват в бронхиолите, където са заместени от Слага-клетки, секретирани глюкозаминогликани, протеини (лизозим), липиди, фосфолипиди, лецитин и други повърхностно активни субстанции /4/.

Чревно-асоциирана лимфна тъкан (gut-associated lymphoid tissue - GALT)

Чревната мукоза представлява физична и имунологична бариера срещу антигените, постъпващи в гастроинтестиналния тракт. Физичната бариера включва епителните клетки и взаимодействието между тях и съседните клетки. Имунологичната бариера е част от мукозно-асоциираната лимфна тъкан (mucosa-associated lymphoid tissue - MALT) и се нарича GALT (gut-associated lymphoid tissue) – чревно-асоциирана лимфна тъкан. GALT съдържа една от най-многочислените популации от имунокомпетентни клетки в организма, а 60-80 % от всички имуноглобулини циркулират през тази тъкан. Тя съдържа Пайеровите плаки в тънките черва, които представляват дискретно организирана лимфна тъкан в lamina propria и субмукозата, със зрели В- и Т-лимфоцити, характерни за вторичните лимфни органи. От гледна точка на ефективността на мукозните имунизации се счита, че чревната мукоза има многократно по-голям потенциал от респираторно-асоциираната лимфна тъкан. Това се дължи главно на Пайеровите плаки /1/.

Индуктивни части на GALT. Пайерови плаки.

При свинете има две различни категории Пайерови плаки. Пайеровите плаки, разположени в йейунума и проксималния илеум (йейунумни плаки), около 25-30 на брой, са сравнително малки и присъстват до края на живота. Много обширните единични илеоцекални плаки (илеумни), могат да достигнат до 2,5 м по протежение на илеума, но се подлагат на инволюция при достигане на едногодишна възраст. Тези два типа плаки са различни по структура, характер на лимфоцитния трафик и лимфоцитна продукция. Илеумните плаки служат за първични източници на В-клетки у младите свине. Те съдържат лимфоидни фоликули, лежащи в lamina propria, под абсорбтивния стълбовиден епител и затова са неспособни да посрещнат антигена директно от чревния лумен. В отличие от тях, йейунумните плаки съдържат фоликули, базирани в регионите на специализирания стълбовиден епител. Освен него, се съдържат и кубовидни епителни клетки – „М”-клетки с плътен гликокаликс и изобилие от хидролитични ензими. М-клетките са тези епителни клетки, които чрез ендоцитоза обработват луменните антигени за последващо представяне към В- и Т-лимфоцитите и макрофагите, чрез т.нар. „интрацелуларен джоб”. Подлежащите под Пайеровите плаки региони от мукозата са своеобразно „пристанище” за много антиген-обработващи и антиген-представящи клетки и са основна индуктивна част на мукозния имунитет. Обработването на антигена и други макромолекули се извършва чрез адхеренция на луменния материал към апикалната мембрана на М-клетката, неговото последващо захващане и трансцелуларен транспорт до ендозомите. Shimozato и сътр. /7/ и Tohno и сътр. /5/, доказват, че върху свинските М-клетки се експресират Toll-like рецептори и се извършва лиганд-специфична трансцитоза, което потвърждава хипотезата за участието на Пайеровите плаки в индукцията на имунен отговор.

Компоненти на мукозния имунен отговор.

Мукозните секрети на респираторния и стомашночревния тракт съдържат различни субстанции с антимикробиална активност. Най-значимите от тях са лактоферин, дефензини, лизозим, интерферон, β -лизини.

Лактоферинът е протеин, намиращ се в специфични гранули на неутрофилите. Структурно и функционално е напълно сравним със серумния трансферин. Произвежда се и постъпва в мукозния секрет от неутрофилите и секреторните епителни клетки. Неговата бактерицидна активност се осъществява чрез привличане и свързване на железните йони, които са необходими за размножаването на много патогенни бактерии /2, 3/.

Дефензините са сравнително добре застъпени в секретите на респираторния тракт. За разлика от чревната мукоза, където присъстват предимно α -дефензини, в респираторния мукозен секрет доминират β -дефензините. Техните вериги са изградени от малки пептиди (3-

5 kDa) и имат широк спектър на антимикробна активност срещу бактерии, гъби и вируси. Дефензини могат да продуцират епителните клетки на мукозата, миелоидните клетки (в частност неутрофилните гранулоцити). Най-високи стойности на дефензини се откриват по време на инфекция. Тяхната продукция се индуцира от активизиращи цитокини, растежни фактори и микробни продукти. Дефензините повишават пермеабилитета на бактериалните мембрани /8/.

Лизозимът е ензим, продуциран преди всичко от фагоцитиращите клетки и от епителните клетки. Участва главно в разграждане на клетъчната стена на Грам-положителните бактерии и е много разпространен бактерициден ензим в кръвния серум и секретите на респираторния и стомашночревния тракт при много бозайници /6/.

Бета-лизини. Структурата на β -лизините не е изяснена докрай, но е известно, че те са изомери на лизина и представляват самостоятелна антимикробна система от белтъци с различна молекулярна маса. В състава им влизат две белтъчни фракции, една от които е полипептид. Имат бактерицидно действие главно срещу Грам-положителни спорообразуващи микроорганизми. Активират цитоплазмените ензими, които предизвикват автолиза на клетъчната стена и гибел на микробната клетка. Постоянно присъстват в кръвта, отделяни от тромбоцитите, в по-малки количества се съдържат в слюнката и тъканите.

Цитокини. Съществува значителна разлика при индуцираните цитокини при различните животни и човека. IL-8, Ключовият неутрофилен хемоатрактант IL-8 е в голямо количество в свинските макрофаги, но отсъства, например, при мишките. При свинските имунни клетки IL-8 бързо се индуцира чрез чревния епител на тънките черва. IL-4, ключов цитокин, отговорен за диференциацията и имунорегулацията, не съдържа 17-та аминокиселина при двукопитните (свине и говеда), в сравнение с човека.

Интерфероните също са част от неспецифичната защита и вродения имунитет и особено в случаи на възпаление и пенетрация на компонентите на комплемента от периферната кръв в мукозите, служат за пусков механизъм на комплементната каскада. Интерферони α - и β се образуват главно срещу вирус-инфектирани клетки. Интерферон- γ е продукт на антигенно специфични Th1- клетки и NK-клетки и участва в различни етапи на имунния отговор /2/.

Към специфичните хуморални компоненти на имунния отговор в мукозите на респираторния тракт при свинете се отнасят предимно IgA и IgG – антителата и в по-малка степен IgM антитела. Молекулите на IgA в секрета са полимерни, най-често димерни и се означават като секреторни IgA (sIgA) и се синтезират локално. От голямо значение са онези sIgA, продуцирани от неорганизираните агрегати от В-лимфоцити в различни стадии на диференциация до плазматични клетки, които са дифузно разпръснати в дълбочина на lamina propria на мукозата. Друга част от тези антитела се продуцират в организирани сгъвания на лимфна тъкан, като тонзилите.

Структурата и различията при IgA се изразяват в наличие на димери и много полимери в серума на свинете, докато при човека, например, се откриват главно мономерни IgA в серума. Също така, антителата у свинете, вероятно се диверсифицират по-скоро в дисталните отдели на чревния канал (в Пайеровите плаки) в началото на живота, отколкото при съзряването на костния мозък, както е при хората.

Мукозни имунизации. Полибактериални имуномодулатори.

Познаването на механизмите на изграждане и функциониране на мукозната имунна система има голямо значение за ефективното им използване в периода на подрастване. Новородените прасета са имунно некомпетентни чак до 4-седмичната си възраст. През този период, прасетата или не могат да осъществят адекватен имунен отговор или са толерантни към постъпващите от външната среда антигени. В този смисъл, именно чревно-асоциираната лимфна тъкан с нейните индуктивни и ефекторни части е този имунен орган, който е в

състояние в първите дни от живота на прасетата да формира имуен отговор и да поддържа чревната хомеостаза.

Полибактериалните имуномодулатори съдържат главно липополизахаридните съставки на термостабилния ендотоксин на Грам-отрицателни и Грам-положителни бактерии. Известно е, че бактериалните ендотоксини са мощни индуктори на интерферон, лизозим, активират макрофагите, НК-клетките, образуването на антитела от В-лимфоцитите. Абсорбирането на тези компоненти по повърхността на гастроинтестиналната мукоза води до координиране функциите на имунната система чрез мукозноасоциираната лимфна тъкан.

Първите пилотни проучвания върху приложението на полибактериални имуномодулатори, показват успешна защита от гастроентерити на новородените, чрез изграждане на бързонастъпващ мукозен имунитет още в първите дни след раждането, както и препятстването на колонизацията на чревния епител от патогенни *Escherichia coli*, с което се обяснява редуцирането на случаите на едемна болест при опитните групи прасета, приемали имуномодулатор, за разлика от контролите. Приложението на полибактериални имуномодулатори в свиневъдството трябва да намери широко приложение, тъй като спомага за решаването на няколко важни въпроса:

1. На първо място, това е профилактиката на инфекциите, свързани с отбиването и предизвикани през този стресов период при подрастващите прасета;
2. Използването на полибактериални имуномодулатори представлява алтернатива на употребата на антибиотици и дава своя принос в предотвратяване развитието на бактериална резистентност към антибиотици във фермата;
3. Внася своя принос за предотвратяване развитието на бактериална резистентност при човека;
4. Спомага за преодоляване на имуносупресивния ефект при животните, който е резултат от системната употреба на антибиотици.

Литература:

1. Cone, R. A. Mucus. In: Ogra P. L., Mestecky J., Lamm M.E., Strober W., Bienenstock J., McGhee J. R. (eds.): *Mucosal Immunology*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, 1999, 43-64.
2. Euzeby, J. P. The immune system of the respiratory tract of the pig: A review. *Revue de Medicine Veterinaire*, 1993, 144, 665-681.
3. Pruitt, K. M., B. Rahemtulla, F. Rahemtulla, M. W. Russell. Innate humoral factors. In: Ogra P. L., Mestecky J., Lamm M.E., Strober W., Bienenstock J., McGhee, J. R. (eds.): *Mucosal Immunology*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, 1999, 65-88.
4. Reynolds, H. Y. Immunologic system in the respiratory tract. *Physiological Reviews*, 1991, 71, 1117-1133.
5. Tohno, M., T. Shimosato, H. Kitazawa, S. Katoh, I. D. Iliev, T. Kimura, Y. Kawai, K. Watanabe, H. Aso, T. Yamaguchi, T. Saito. Toll-like receptor 2 is expressed on the intestinal M cells in swine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, 330, 547-554.
6. Travis, S. M., B. A. Conway, J. Zabner, J. J. Smith, N. N. Anderson, P. K. Singh, E. P. Greenberg, M. J. Welsh. Activity of abundant antimicrobials of the human airway. *Am. J. Resp. Cell and Mol. Biol*, 1999, 20, 872-879.
7. Shimosato, T., M. Tohno, H. Kitazawa, S. Katoh, K. Watanabe, Y. Kawai, H. Aso, T. Yamaguchi, T. Saito. Toll-like receptor 9 is expressed on follicle-associated epithelia containing M cells in swine Peyer's patches. *Immunol. Lett.*, 2005, 98, 83-89.
8. Zhang, G., C. R. Ross, F. Blecha. Porcine antimicrobial peptides: new prospects for ancient molecules of host defense. *Veterinary Research*, 2000, 31, 277-296.