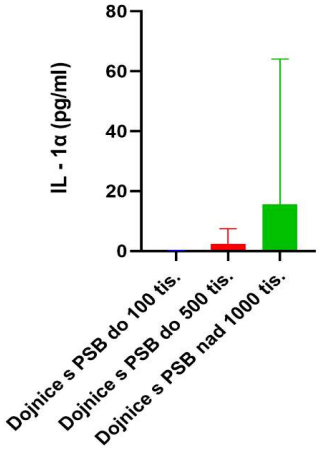
VZTAH MEZI POČTEM SOMATICKÝCH BUNĚK A PARAMETRY IMUNITNÍ ODEZVY MLÉČNÉ ŽLÁZY SKOTU

Petr Sláma, Dana Bednářová, Andrej Bátik, Aleš Pavlík

Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno

ÚVOD

Somatické buňky představují všechny diferencované tělesné buňky organismu. V kontextu mléčné žlázy jsou však somatické buňky přítomné v mléce tvořeny převážně buňkami imunitního systému, zejména makrofágy, neutrofily a lymfocyty, a z menší části (méně než 7 %) deskvamovanými epiteliálními buňkami mléčné žlázy. Zastoupení jednotlivých buněčných populací se může měnit v závislosti na zdravotním stavu vemene a fázi laktace. Zdravá mléčná žláza si udržuje relativně nízký počet somatických buněk (PSB), který je ukazatelem její fyziologické rovnováhy. Obecně se uvádí, že hodnota do 200 000 buněk/ml mléka odpovídá zdravému stavu vemene. Při poškození tkáně, traumatu vemene nebo při rozvoji intramamární infekce dochází k aktivaci imunitní odpovědi a následnému zvýšení PSB v mléce, zejména v důsledku migrace leukocytů z krevního řečiště do místa zánětu. Zánět mléčné žlázy (mastitida) je považována za jedno z nejčastějších a ekonomicky nejzávažnějších onemocnění dojeného skotu. Onemocnění vede ke snížení mléčné užitkovosti, zhoršení kvality mléka a zvýšeným nákladům na veterinární léčbu a management stáda (Cobirka et al., 2020). V evropských podmínkách jsou průměrné celkové náklady na léčbu a ztráty produkce mléka u jedné dojnice odhadovány přibližně na 6–7 tisíc Kč, přičemž skutečné ztráty mohou být ještě vyšší v závislosti na závažnosti onemocnění a délce trvání infekce. Zásadní roli v patogenezi mastitidy hraje zánětlivá reakce mléčné žlázy. Klíčovou složkou této odpovědi jsou neutrofily, které představují první linii buněčné obrany. Tyto buňky jsou schopny rychle migrovat z krevního oběhu do místa infekce na základě chemotaktických signálů. Jejich aktivace a směrovaný pohyb jsou řízeny zánětlivými mediátory produkovanými tkání mléčné žlázy v reakci na přítomnost bakteriálních toxinů, strukturálních komponent mikroorganismů či jejich metabolitů. Mezi hlavní zánětlivé mediátory patří fragmenty komplementového systému, vazoaktivní aminy, metabolity kyseliny arachidonové (např. prostaglandiny a leukotrieny) a cytokiny. Cytokiny představují klíčové regulační molekuly imunitní odpovědi – podílejí se na iniciaci a modulaci zánětu, regulaci migrace a aktivace leukocytů i na koordinaci přechodu mezi prozánětlivou a protizánětlivou fází reakce. Z tohoto důvodu mohou mít význam nejen v objasnění patofyziologických mechanismů mastitidy, ale také jako potenciální biomarkery pro její diagnostiku a jako cíle terapeutických intervencí.



MATERIÁL A METODIKA

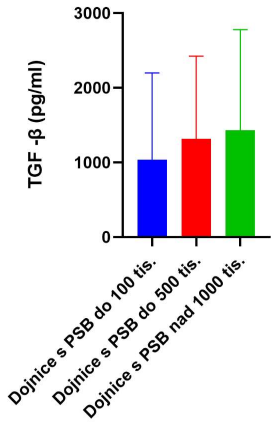
Odběr vzorků proběhl na rodinné farmě při ranním dojení. Do experimentu bylo zařazeno 20 dojnic. Z každé čtvrtě vemene bylo asepticky odebráno 20 ml mléka do sterilních zkumavek, celkem tedy 80 vzorků. Bezprostředně po odběru byly vzorky transportovány v chladicím boxu do laboratoře a následně centrifugovány při 2 000 ot./min po dobu 10 minut za účelem separace buněčné složky. Supernatant byl poté aliquotován a skladován při -80 °C až do laboratorní analýzy. Údaje o počtu somatických buněk (PSB) byly získány z pravidelné kontroly užitkovosti poskytované farmou. Na základě PSB byly dojnice rozděleny do tří skupin:

≤ 100 000 buněk/ml (n = 8),

≤ 500 000 buněk/ml (n = 8),

≥ 1 000 000 buněk/ml (n = 4).

Koncentrace prozánětlivého cytokinu IL-1α a protizánětlivého cytokinu TGF-β byly stanoveny pomocí sendvičové metody ELISA s využitím komerčních kitů Bovine IL-1α ELISA Kit a Bovine TGF-β ELISA Kit dle protokolu výrobce.



ZÁVĚR

Cílem této práce bylo stanovit koncentrace vybraných cytokinů, které se významně podílejí na imunitní odpovědi mléčné žlázy, a posoudit jejich vztah k počtu somatických buněk (PSB). Pro ověření této souvislosti byla využita metoda ELISA, pomocí níž byl detekován prozánětlivý cytokin IL-1α a protizánětlivý cytokin TGF-β. Do experimentu bylo zahrnuto 20 dojnic z rodinné farmy. Od každé dojnice bylo odebráno 20 ml mléka z každé čtvrtě vemene, celkem tedy 80 vzorků. Zvířata byla rozdělena do tří skupin podle hodnot PSB: do 100 tis./ml (fyziologický stav), do 500 tis./ml a nad 1 mil./ml, což může odpovídat probíhajícímu, případně chronickému zánětu mléčné žlázy. Pomocí metody ELISA byly stanoveny koncentrace sledovaných cytokinů. Výsledky ukazují na rostoucí trend koncentrací obou cytokinů se zvyšujícím se PSB, což odpovídá aktivaci imunitní odpovědi při zánětlivém procesu. Cytokiny jsou v současnosti intenzivně studovány v souvislosti s diagnostikou a možnostmi imunomodulační terapie mastitid skotu. Přestože existuje rozsáhlé množství studií zaměřených na zánět mléčné žlázy, komplexní síť cytokinové regulace, zejména v podmínkách chronické zánětlivé odpovědi, dosud není plně objasněna. Detailní poznání těchto mechanismů na molekulární úrovni je nezbytné pro lepší pochopení efektivní antibakteriální odpovědi organismu.

Acknowledgement: The study was conducted as part of the Visegrad Fund project no. 22430046 „Control of antimicrobial resistance by the Integrated Farm System within "Farm to Fork" strategy". The project is co-financed by the governments of Czechia, Poland and Slovakia through Visegrad Grants from the International Visegrad Fund. The mission of the fund is to advance ideas for sustainable regional cooperation in Central Europe