

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

Агарков Александр Викторович

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ «МАТЬ-ПЛАЦЕНТА-ПОТОМСТВО»
И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ПРИПЛОДА**

**06.02.01 - диагностика болезней и терапия животных, патология,
онкология и морфология животных**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научный консультант:

Заслуженный деятель науки РФ
доктор биологических наук,
профессор Дмитриев А.Ф.

Ставрополь – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

	СТР.
ВВЕДЕНИЕ	5
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	19
1.1 Иммунопатогенетические аспекты формирования толерантности в системе «мать-плацента-потомство»	20
1.2 Индукция и динамика развития толерантности для иммуноадаптивного периода при возрастной иммунологической незрелости.....	36
1.3 Адаптивный потенциал новорожденных животных и его влияние на жизнеспособность в ранний постнатальный период развития.....	74
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	90
2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИИ	90
2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ	106
2.2.1 СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ИЗОИММУНИЗАЦИИ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ «МАТЬ-ПЛАЦЕНТА-ПОТОМСТВО»	111
2.2.1.1 Иммунологическая реактивность организма беременных животных.....	112
2.2.1.2 Оценка иммунобиологического состояния беременных свинок с признаками изоиммунизации.....	123
2.2.1.3 Закономерности формирования иммунологической реактивности у потомства, полученного от матерей при изоиммунизации.....	133
2.2.1.4 Гематологические и биохимические показатели поросят при изоиммунизации.....	138
2.2.2 ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ ПРИ ИЗОИММУНИЗАЦИИ	149
2.2.2.1 Передача специфических антител потомству у свиней при беременности, осложненной изоиммунизацией.....	149

2.2.2.2	Характеристика нарушений в иммунном статусе новорожденных поросят.....	152
2.2.2.3	Мониторинг популяций Т- и В-лимфоцитов.....	158
2.2.2.4	Рост и развитие потомства свиноматок в постнатальный период.....	161
2.2.2.5	Зависимость между эффектами изоиммунизации в фетальный период развития и естественной резистентности у поросят в постнатальном периоде.....	166
2.2.3	ОЦЕНКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПЛАЦЕНТЕ СВИНЕЙ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ИЗОИММУНИЗАЦИЕЙ.....	169
2.2.3.1	Макрокартина структурно-функционального состояния плаценты.....	169
2.2.3.2	Морфофункциональная особенность плацент свиноматок при изоиммунизации.....	174
2.2.4	ОЦЕНКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ОРГАНОВ НОВОРОЖДЕННЫХ ПОРОСЯТ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ, ОСЛОЖНЕННОМ ИЗОИММУНИЗАЦИЕЙ.....	182
2.2.4.1	Морфофункциональное состояние органов иммуногенеза поросят в постнатальном онтогенезе при изоиммунизации...	182
2.2.4.2	Морфофункциональные изменения в легких поросят в постнатальном онтогенезе при изоиммунизации	186
2.2.4.3	Морфофункциональные изменения кишечника поросят в постнатальном онтогенезе при изоиммунизации.....	190
2.2.4.4	Морфофункциональные изменения почек и надпочечников поросят в постнатальном онтогенезе при изоиммунизации ...	194

2.2.5 РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ПОВЫШЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ НОВОРОЖДЕННЫХ ЖИВОТНЫХ.....	199
2.2.5.1 Построение алгоритма прогностических критериев осложненного течения беременности и неонатального периода новорожденности.....	199
2.2.5.2 Диагностика изоиммунизации у животных.....	200
2.2.5.3 Определение иммунологической реактивности животных...	207
2.2.5.4 Определение изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плацента-потомство» у свиней.....	210
2.2.5.5 Тестирование и определение уровня иммунологической толерантности у животных.....	213
2.2.5.6 Повышение репродуктивной способности беременных свиноматок крупной белой породы и жизнеспособности новорожденного потомства.....	217
2.2.5.7 Оценка функциональных резервов новорожденных поросят..	226
2.2.5.8 Мониторинг внутриутробного инфицирования с предотвращением ранних репродуктивных потерь и прогнозированием жизнеспособности у свиней	231
3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	240
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	243
5. ВЫВОДЫ.....	251
6. РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	254
7. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	256
8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	258
9. ПРИЛОЖЕНИЯ.....	316

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы и степень ее разработанности

Успешное развитие различных отраслей животноводства возможно при условии своевременной профилактики, диагностики и лечения заболеваний животных. В настоящее время животноводство имеет значительный экономический ущерб в результате болезней различной этиологии и гибели молодняка сельскохозяйственных животных. По статистическим данным 60-90% от общего падежа продуктивных сельскохозяйственных животных приходится на ранний неонатальный период развития. Самыми восприимчивыми к болезням и наиболее чувствительными к условиям среды обитания являются новорожденные животные (Володин, Н. Н., 2001; Кузнецов, Н. И., 2004; Резников, А. Г., 2008; Lu, L. F., 2009; Mestan, K. K., 2011).

Гибель новорожденных животных или рождение их с признаками пониженной жизнеспособностью наблюдается в связи с особыми иммунологическими взаимоотношениями организма матери и плода во время беременности (Шабалов, Н. П., 2006; Илизарова, Н. А., 2009; Шахов, А.Г., Алёхин, Ю.Н. и др., 2013; Шабунин, С. В., 2015; Wegmann, T. G., Lin, H., Guilbert, L., Mosmann, T. R., 2003).

Иммунобиологический статус новорожденных животных в большей степени зависит от материнского организма. Вместе с тем вопросы зависимости между состоянием иммунной системы материнского организма и здоровьем новорожденного животного пока не нашли полного отражения в научных исследованиях. В настоящее время практически не изучены аспекты, связанные с характером иммунного реагирования материнского организма при многоплодной беременности на антигены плода и развитием иммунологической толерантности у потомства животных с различными типами плацентации (Говалло, В. И., 1987; Дмитриев, А. Ф., 1995; Дубровин, М. М., 2001; Глуховец, Б. И., Глуховец, Н. Г., 2002; Джобава, Э. М., 2013; Дроздова, Л. И., 2010; Smith, J. T., Elkin, J. T., Reichert, W. M., 2006).

Познание закономерностей развития иммунных процессов, которые зависят от степени антигенного сходства и различия между организмом матери, и плода, может способствовать разрешению многих проблемных теоретических и практических аспектов иммунологии беременности (Милованов, А. П., 1999; Григорьев, В. В., 2004; Хаитов, Р. М., 2003; Risau, W., 2002; Фризе, К., 2003; Reynolds, L. P., 2005; Wang, S., 2014). Изучение теоретических основ иммунологии взаимоотношений в функциональной системе «мать-плацента-потомство» составит важную основу разработки практических мероприятий по получению здорового молодняка и научно-обоснованных методов повышения сохранности поголовья.

Михайленко, А. А., 2000; Souza, S.S., 2002; Formby, B., 2005; Robertson, S.A., 2009; Talayev, V.Yu., 2010 доказано, что по аналогии с явлениями иммунологической толерантности, индуцируемой в эмбриональном периоде по отношению к чужеродным антигенам, плод способен приобретать состояние толерантности к некоторым антигенам матери. Очевидно, что условием этого должен быть контакт плода с соответствующими антигенами материнского организма, обеспечиваемый достаточной проницаемостью плацентарного барьера. Вероятно, такая возможность при беременности существует не только по отношению к растворимым антигенам (например, гамма-глобулин), но и цельным клеткам. О возможности развития толерантности у плода к антигенам матери свидетельствуют как экспериментальные, так и клинические данные (Нежданов, А. Г., 2014; Tang, A.W., 2011).

На сегодняшний день не вызывает сомнения тот факт, что при беременности материнский организм имеет возможность отвечать на часть антигенов плода, полученных им от отцовского организма. Это проявляется образованием циркулирующих антител. Многочисленными исследованиями также установлено, что в лимфоидной ткани беременных животных и человека появляются лимфоциты, сенсibiliзипованные по отношению к антигенам плода, что выявляется различными тестами – цитотоксическое

действие *in vitro*, способность вызывать иммунобиологические реакции у потомства *in vivo* (Милованов, А. П., 2001; Савченков, Ю. И., 2001; Исаева, А. Г., 2004; Салов, И. А., Глухова, Т. Н., Чеснокова, Н. П., 2006; Tafuri, A. T., 1995; Caruso, A., 2007; Yang, H., 2009; Zarnani, A.H., 2015).

Учитывая эффект воздействия на материнский организм фетальных антигенов плода, следует отметить, что специфическая ареактивность во время беременности возникает не за счет сенсibilизации организма, а в результате становления параметров иммунологической толерантности в функциональной системе «мать-плацента-потомство». Вероятно, большую роль данные супрессорные реакции играют для относительного постоянства и сохранения жизнеспособности плода, являющегося «физиологическим аллогенным трансплантатом» в организме матери (Березовский, Ю. С., 2001; Баймишев, Х. Б., 2013; Mulayim, N., Savlu, A., Guzeloglu-Kayisli, O., Kayisli, U.A., Arici, A., 2004; Rajagopalan, S., Bryceson, Y. T., Kuppusamy, S. P., Geraghty, D. E., Joosten, I., Long, E. O., 2006; Murray, C. F., 2013).

На основании анализа ретроспективного изученного материала можно сделать вывод о том, что для иммунологических взаимоотношений между организмом матери и плода характерны многочисленные противоречия, а степень антигенных различий материнского организма и плода является фактором, благоприятствующим протеканию беременности и рождению жизнеспособного потомства.

В связи с этим особый интерес в исследовании иммунологического статуса функциональной системы «мать-плацента-потомство» представляет роль принципов и механизмов, обеспечивающих, как правило бесконфликтное формирование плода в организме матери с объяснением принципов аллогенной стимуляции при беременности, поэтому теоретическое и практическое значение установленной проблемы требует разрешения для научного определения эффективных аспектов полноценного иммунного ответа при инфекционной, инвазионной и незаразной патологии у животных.

Область и объект исследования – функциональная система «мать-плацента-потомство» при многоплодной беременности свинок и жизнеспособность их потомства.

Предмет исследования – влияние особенностей иммунобиологических взаимоотношений в функциональной системе «мать-плацента-потомство» на жизнеспособность потомства.

Гипотеза исследования – иммунологическая реактивность в процессе беременности оказывает существенное влияние на формирование адаптивного потенциала потомства.

Проблема исследования – в период беременности имеет место изоиммунизация организма матери, которая является фактором риска развития иммунологической толерантности у потомства.

Концепция исследования – при беременности все иммунобиологические реакции системы «мать-плацента-потомство» у свиной характеризуются усилением ранее существующих и появлением новых функциональных признаков.

Цель исследования: изучить механизмы становления иммунологических взаимоотношений функциональной системы «мать-плацента-потомство» при физиологической и осложненной изоиммунизацией беременности у свиной.

Задачи исследования:

1. Изучить закономерности формирования иммуноопосредованных реакций функциональной системы «мать-плацента-потомство» при беременности.
2. Установить критерии оценки нарушения иммунорегуляции и иммунологической толерантности свиной при беременности, осложненной изоиммунизацией.
3. Определить механизмы формирования иммунного статуса у новорожденных, полученных от матерей с признаками изоиммунизации.
4. Разработать способ повышения иммунобиологического статуса новорожденных животных.

5. Разработать способ повышения репродуктивной способности беременных свинок и жизнеспособности их новорожденного потомства.
6. Доказать взаимосвязь между процессом ранней адаптации у новорожденного потомства и параметрами иммунобиологического статуса материнского организма при физиологической и патологически протекающей беременности.
7. Разработать способы оценки функциональных резервов новорожденного организма и определения иммунологической реактивности животных.
8. Разработать способы диагностики изоиммунизации, определения и тестирования иммунологической толерантности животных.
9. Разработать способ определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плацента-потомство» у свиней.
10. Установить прогностические критерии осложненного изоиммунизацией течения беременности и неонатального периода новорожденности.

Научная новизна.

Впервые для оценки иммунологических взаимоотношений в функциональной системе «мать-плацента-потомство» разработаны и апробированы высокоэффективные способы: определения жизнеспособности новорожденных животных (патент на изобретение №2555550, от 08.06.2015 г.); приготовления кормовой смеси для профилактики гипотрофии в плодный период (патент на изобретение №2581663, от 28.03.2016 г.); повышения иммунобиологического статуса новорожденных поросят (патент на изобретение №2614733, от 28.04.2017 г.); определения жизнеспособности новорожденных животных (Евразийский патент на изобретение №025833, от 28.02.2017 г.); повышения репродуктивной способности беременных свиноматок и жизнеспособности новорожденного потомства (патент на изобретение №2654563, от 21.05.2018 г.); оценки функциональных резервов новорожденного организма (патент на изобретение №2685273, от 17.04.2019 г.); способ определения иммунологической реактивности организма животных (патент на изобретение №2737336, от 20.05.2020 г.); тестирования

иммунологической толерантности животных (патент на изобретение №2743363, от 03.06.2020 г.); диагностики изоиммунизации животных (патент на изобретение №2749026, от 03.06.2020 г.); определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный» (патент на изобретение №2750787, от 31.08.2020 г.); определения иммунологической толерантности у животных (заявка с положительным решением по патенту на изобретение №2020137035, от 10.11.2020 г.); определения антигенной нагрузки животных (заявка по патенту на изобретение №2020144359, от 12.01.2021 г.); иммунологического мониторинга животных (заявка по патенту на изобретение №2020144360, от 12.01.2021 г.); оценки адаптивного потенциала новорожденного организма (заявка по патенту на изобретение №2021100742, от 18.01.2021 г.); оценки функционального состояния лимфоцитов периферической крови (заявка по патенту на изобретение №2021103860, от 15.02.2021 г.); определения степени толерантного состояния у животных (заявка по Евразийскому патенту на изобретение №202190262/65, от 15.12.2021 г.).

Применение в условиях производства разработанных программ мониторинга и прогнозирования жизнеспособности потомства сельскохозяйственных животных (свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ №2018660665, от 28.08.2018 г.) и оценки внутриутробного инфицирования у продуктивных животных (свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ №2018665662, от 06.12.2018 г.), позволило снизить уровень пренатальных потерь у сельскохозяйственных животных на ранних этапах постнатального развития.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Впервые выполнена оценка аллогенной стимуляции при многоплодной беременности у свиней, что позволило раскрыть фундаментальные механизмы формирования иммунологической толерантности при беременности, осложненной изоиммунизацией. Доказана взаимосвязь эффекта изоиммунизации материнского организма во время беременности и

патоморфологическими изменениями у полученного потомства в период пренатального и раннего постнатального развития.

На основании комплексности проведенных исследований построен алгоритм прогностических критериев осложненного течения беременности и неонатального периода новорожденности с использованием иммунологических критериев и алгоритма повышения жизнеспособности новорожденных поросят.

Выявлены патогенетические механизмы развития иммунологической толерантности, позволяющие прогнозировать характер и интенсивность иммунного ответа организма животного на антигенное воздействие, а также определен тип иммунной реактивности потомства, полученного от матерей при изоиммунизационном эффекте в период многоплодной беременности.

Подтверждено, что ведущая роль развития изоиммунизации в функциональной системе «мать-плацента-потомство», независимо от кратности опросов и числа многоплодных беременностей, принадлежит нарушению гистогематического звена плацентарного барьера.

Установлено, что у свиноматок с низкой кратностью опросов патологии в период беременности и нарушение иммунносупрессорного состояния встречаются чаще, при этом потомство рождается со специфическими нарушениями постнатального развития иммунобиологического статуса, признаками низкой жизнеспособности, гипотрофией.

Исследования динамики развития толерантности выявили ряд опорных пунктов для анализа механизмов индукции ареактивности, что в практическом аспекте дают предпосылки для активного вмешательства с целью направленного изменения иммунной реакции организма.

Полученные экспериментальные данные в виде 11 патентов на изобретение (Пат. № 2555550 от 08.06.2015 г.; Пат. № 2581663, от 28.03.2016 г.; Пат. №2614733, от 28.04.2017 г.; Евразийский пат. № 025833, от 28.02.2017 г.; Пат. №2654563, от 21.05.2018 г.; Пат. №2685273, от 17.04.2019 г.; Пат. №2737336, от 20.05.2020 г.; Пат. № 2743363, от 03.06.2020 г.; Пат. № 2749026,

от 03.06.2020 г.; Пат. №2750757, от 31.08.2020 г.; заяв. положительным решением по выдаче патента на изобретение № 2020137035, от 10.11.2020 г.); двух свидетельств для программы ЭВМ (свидетельство программы ЭВМ №2018660665, от 28.08.2018 г.; свидетельство программы ЭВМ №2018665662, от 06.12.2018 г.) и 5 заявок по получению патента на изобретение (заяв. № 2020144359, от 12.01.2021 г.; заяв. № 2020144360, от 12.01.2021 г.; заяв. № 2021100742, от 18.01.2021 г.; заяв. № 2021103860, от 15.02.2021 г.; заяв. Евразийский патент № 202190262/65, от 15.12.2021 г.) используются для успешной профилактики болезней молодняка в животноводческих хозяйствах и являются новым направлением иммунологического мониторинга для функциональной системы «мать-плацента-потомство», что подтверждено актами внедрения.

Методология и методы исследования.

Методологической основой явились принципы комплексной оценки динамической характеристики иммунобиологического статуса функциональной системы «мать-плацента-потомство» при многоплодной беременности свинок осложненной изоиммунизацией с проявлением иммунологической толерантности их потомства. Научные данные получены с использованием клинических, гематологических, биохимических, иммунологических, морфологических, гистологических методов, а также компьютерной микротомографии и вариационной статистики.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Соотношение степени изоиммунизации материнского организма при многоплодной беременности и уровня иммунологической толерантности у потомства, определяют жизнеспособность и сохранность поголовья животных.
2. Изоиммунизация в процессе беременности характеризуется у потомства ограниченным числом В-лимфоцитов, способных продуцировать антитела и приводит к активации Т-лимфоцитов супрессорного типа в ранний постнатальный период.

3. Ареактивность, возникающая у новорожденных животных, при изоиммунизации материнского организма во время беременности, носит фазовый характер и зависит от степени изоантигенной нагрузки.
4. Иммунологическая толерантность в функциональной системе «мать-плацента-потомство» возникает не только при гипериммунизации, но и при его дробном введении антигена в минимально иммуногенных (субиммуногенных) количествах.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность проведенных исследований подтверждена результатами, проведенными на достаточно большом по численности поголовье животных и количестве отобранного материала с использованием апробированных иммунологических, морфометрических, гистологических методик и применением специального оборудования в сертифицированных лабораториях. Объективность научных положений и выводов подтверждается применением биометрической обработки экспериментальных данных с применением методов вариационной статистики.

Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на научных конференциях: Международная научно-практическая конференция «Воспитание и обучение: теория, методика и практика» (12 сентября 2016 г., в г. Воронеж); Международная научно-практическая конференция научных сотрудников и преподавателей «Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве» (16 декабря 2016 г., в г. Ставрополь); Международная научно-практическая интернет-конференция «Инновационные подходы в ветеринарной и зоотехнической науке и практике» (1 февраля - 5 февраля 2016 г., в г. Ставрополь); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и перспективы развития ветеринарной медицины, зоотехнии и аквакультуры» (22-24 марта 2016 г., в г. Саратов); Международная научно-практическая конференция «Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве - основа модернизации агропромышленного комплекса России» (28 мая 2016 г., в г.

Саратов); 82-я Международная научно-практическая конференция «Аграрная наука – Северо-кавказскому федеральному округу» (26 апреля 2017 г., в г. Ставрополь); Международная научно-практическая конференция «Современные научные исследования» (17 апреля 2017 г., в г. Пенза); Международная конференция «Инновационные технологии в сельском хозяйстве, ветеринарии и пищевой промышленности» (26 апреля 2017 г., в г. Ставрополь); III Международная научно-практическая конференция «Научные достижения и открытия» (5 октября 2017 г., в г. Пенза); V Международной научно-практической конференции «European Research» (7 мая 2018 г., в г. Пенза); Международной научно-практической конференции научных сотрудников и преподавателей «Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве - основа модернизации агропромышленного комплекса России» (25 декабря 2019 г., в г. Ставрополь); XII International scientific conference on agricultural machinery industry – INTERAGROMASH 2019 (27 февраля – 1 марта 2019 г., в г. Ростов-на-Дону); Международной научно-практической конференция «Современные тенденции машиностроения и техносферной безопасности» (СТМТБ 2020), посвященная 90-летию опорного вуза Ростовской области (20 октября 2020 г. в г. Ростов-на-Дону); XIII Международной научно-практической конференции «Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса» в рамках XXIII Агропромышленного форума юга России (INTERAGROMASH 2020) (26 по 28 февраля 2020 г., в г. Ростов-на-Дону); XVI Международной научно-практической конференции «Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса» (INTERAGROMASH 2021) (24 по 26 февраля 2021 г., в г. Ростов-на-Дону).

Материалы комплексных исследований диссертационной работы вошли в методические рекомендации: «Оценка иммунологических критериев ранней адаптации у новорожденного потомства животных и сельскохозяйственной птицы» - утверждены комиссией научно-технического совета секции животноводства Министерства сельского хозяйства Ставропольского края и

«Иммунологические принципы оценки и прогнозирования жизнеспособности новорожденных поросят» - рассмотрены и одобрены на заседании научно-методической комиссии Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиала ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской Академии Наук».

Экспериментальные данные апробированы в условиях Московской испытательной лаборатории Федерального государственного бюджетного учреждения «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория» (ФГБУ ЦНМВЛ), ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория», лабораторий ветеринарных станций по борьбе с болезнями животных подведомственных Управлению ветеринарии по Ставропольскому краю, Научном-диагностическом и лечебном ветеринарном центре Ставропольского ГАУ (НДиЛВЦ СтГАУ), ООО «Эконива-АПК Холдинг» (г. Воронеж), специализированного товарного свиноводческого комплекса ООО «Гвардия», СПК колхоза-племзавода «Казьминский», СПК «Племзавод Вторая Пятилетка», ООО СХП «Полярная звезда», ООО «Добровольное», ООО «СХП «Победа», ООО «Хлебороб», ЗАО «Октябрьский», ООО «ВетПрофи», ветеринарного центра имени Пирогова, ветеринарных клиник «Колибри», «Виктория» и позволяют улучшить диагностику иммунологической незрелости с прогнозированием жизнеспособности у новорожденных животных с точностью не менее 90,6%.

Установленные закономерности формирования иммунологического статуса в функциональной системе «мать-плацента-потомство» при изоиммунизации реализуются в учебном процессе для проведения лекций, лабораторно-практических занятий по дисциплинам «Иммунология», «Гистологии с основами эмбриологии», «Акушерство», «Клиническая диагностика», «Внутренние незаразные болезни», «Лабораторная диагностика», а также для научно-исследовательской работы студентов,

аспирантов и молодых ученых в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина», ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет», Всероссийского НИИ овцеводства и козоводства – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный аграрный университет имени М.М. Джамбулатова», ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет имени В.М. Кокова», ФГБОУ ВО «Карачаево-Черкесский государственный университет», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

Государственные контракты НИОКР Министерства сельского хозяйства Ставропольского края в период с 2016 по 2021 год, выполненные согласно темы диссертационного исследования: № 156/19 от 06.08.2019 г.; № 156/19 от 12.08.2019 г.; № 157/19 от 12.08.2019 г.; №199/18 от 20.08.2018 г.; № 201/18 от 20.08.2018 г.; №230 от 23.08.2018 г.; № 232/18 от 23.08.2018 г.; № 161/17 от 08.09.2017 г.; № 166/17 от 08.09.2017 г.; № 245/17 от 05.12.2017 г.; № 247/17 от 05.12.2017 г.; № 1231 от 22.03.2016 г.

Государственные контракты НИОКР Министерства сельского хозяйства Российской Федерации в период с 2016 по 2021 год, выполненные согласно темы диссертационного исследования: № 056-17-2019-154 от 18.01.2019 г.; № 082-03-2020-248 от 21.01.2020 г.

Результаты исследований поддержаны Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (Фондом содействия инновациям) по программам «СТАРТ-16-1» (договор № ГС1/26854 от 24.04.2017 г.) и «УМНИК-17» (договор № 12578ГУ/2017 от 18.04.2018 г.).

Полученные данные позволили внедрить технологические принципы в образовательный процесс факультета ветеринарной медицины по контракту с Фондом инфраструктурных и образовательных программ РОСНАНО на разработку дополнительной профессиональной образовательной программы повышения квалификации по теме «Применение современных SNP технологий генотипирования для улучшения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных» (договор № 01/041 от 16.01.2017 г.).

Выполненная диссертационная работа подержана в конкурсном отборе для государственной поддержки молодых российских ученых грантом Президента Российской Федерации в номинации «Биология и наука о жизни» (договор №14.W01.18.1770-МК от 17.01.2018 г.) по теме «Разработка программно-аппаратного комплекса для мониторинга и прогнозирования внутриутробного инфицирования с предотвращением ранних репродуктивных потерь у продуктивных животных».

Личный вклад соискателя

Диссертация является результатом исследования автора в период с 2015-2021 гг., выполнена в рамках утвержденного тематического плана проведения научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», протокол № 1 от 29 января 2016 года. Работа является частью плана исследований научной школы факультета ветеринарной медицины «Иммунологические основы прогнозирования жизнеспособности молодняка сельскохозяйственных животных и профилактики инфекционных болезней».

Диссертантом самостоятельно установлена проблема, определены гипотеза, область, объект, предмет, цель и задачи исследований, самостоятельно проведен ретроспективный анализ научной литературы по

теме диссертации, осуществлен отбор материала и его фиксация, освоены современные и классические гематологические, иммунологические, гистологические, морфометрические методики исследования, проведена статистическая обработка цифровых данных и подготовлен иллюстративный материал. Доля участия соискателя при выполнении работы составляет 85%.

Интерпретация данных собственных исследований, методологические основы, выводы и предложения сформулированы при методической помощи научного консультанта, Заслуженного деятеля науки Российской Федерации, доктора биологических наук, профессора Дмитриева Анатолия Федоровича.

Публикации результатов исследований

Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в 50 работах, из них 15 статей в российских журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации («Известия Горского государственного аграрного университета», «Международный вестник ветеринарии», «Вестник КрасГАУ», «Ветеринарная патология». «Известия Оренбургского государственного аграрного университета», «Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии», «Иппология и ветеринария») и 10 научных работах, входящих в международную базу цитирования Scopus, 5 научных работах Web of Science («Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences», «International Journal of Veterinary Science», «IOP Conference Series: Earth and Environmental Science», «Ecology, Environment and conservation», IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (MSE), «Engineering for Rural Development Proceedings», «E3S Web of Conferences»).

Опубликованы 1 монография, 3 учебно-методических пособия, 3 методических рекомендаций, 11 патентов на изобретение, 2 свидетельства о государственной регистрации программы ЭВМ.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 333 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Работа иллюстрирована 59 таблицами, 33 рисунками и 11 формулами. Список литературы содержит 475 источников, в том числе 274 зарубежных авторов.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Иммунопатогенетические аспекты формирования толерантности в системе «мать-плацента-потомство»

Началом исследования иммунологической толерантности живых организмов следует считать рубеж 60-70-х годов. С ним совпало становление трансплантологии как науки, поскольку в те годы только трансплантология была областью медицины, где реализовались задачи клинической иммунологии. В современных условиях определено приоритетное направление в клинической иммунологии, которое именуется сейчас иммунологическим мониторингом. Это направление как раздел включает также и мониторинг осложнений иммунодепрессивной терапии.

Открытие Ландштейнера (1900), Medawar (1956), Billingham с соавт. (1956), положившего начало учению об изоантигенах тканей стало основным вектором для изучения иммунологической толерантности.

В наши дни специализация науки, с одной стороны, и бурное развитие «пограничных» областей, с другой, привели к значительному дроблению многих «классических» дисциплин и формированию в их недрах быстро прогрессирующих новых направлений, имеющих свою специфику. Одной из таких «точек роста» является изучение явления иммунологической толерантности.

Накопившийся фактический материал заставляет внести в это определение ряд поправок. Прежде всего специфичность толерантности (как и некоторых иных иммунологических феноменов, например, иммунологической памяти) не является абсолютной. Так, например, при толерантности хелперов, вызванной носителем или комплексом гаптен-носитель, животное не способно продуцировать антитела не только к данному, но и к другому гаптену, конъюгированному с тем же носителем. Наоборот, толерантность В-клеток является строго гаптеноспецифической, т.е. распространяется на конъюгаты данного гаптена с иными носителями. В результате введения антигена, содержащего различные эпитопы, в популяции

В-клеток может возникнуть иммунный ответ к одним клеткам и толерантность – к другим (Тютюнник, В. Л., 2003; Leibovich, S. J., Polverini, P. J., Shepard, H. M., Wiseman, D. M., Shively, V., Nuseir, N., 2007; Cherif, A., 2008; Сидорова, И. С., 2010; Azar, Y., 2013; Mutinati, M., 2014).

Значительно сложнее обстоит дело с последним пунктом определения Medawar. Выдвигая его, Medawar имел в виду отграничить толерантность от реальных и возможных феноменов типа «афферентной блокады» (связывание антигена продуцируемыми антителами, его изоляция от иммунокомпетентных клеток) и «эфферентной блокады» (связывание продуцируемых антител избытком антигена, а также маскировка антителами чужеродных антигенов на клетках-мишенях, предохраняющая отторжение последних эффекторными лимфоцитами). Это противопоставление толерантности афферентной или эфферентной блокаде, на наш взгляд, остается справедливым и в настоящее время. Действительная трудность состоит в ином.

Это связано с тем, что, специфическая ареактивность, сопровождающаяся продукцией блокирующего фактора или Т-супрессоров, существенным образом отлична от той толерантности, которую имел в виду Medawar: способность популяции лимфоидных клеток к иммунному ответу здесь не утрачена, но ослаблена и видоизменена – сдвинута в сторону аутосупрессии. В связи с этим в современной литературе возник терминологический хаос. Многие авторы оговаривают, что употребляют термин «толерантность» чисто условно (Володин, Н. Н., 2001; Кузнецов, Н. И., 2004; Резников, А. Г., 2008; Lu, L. F., 2009; Mestan, K. K., 2011).

Иногда противопоставляют «ареактивность» (unresponsiveness) к белковым антигенам «толерантности» к аллогенным клеткам. Некоторые авторы (Somerset, D.A., 2004; Bertolino, P., Deckers, M., Lebrin, F., Chest, P. D., 2005; Борисенко, Е. А., 2008; Bartel, G., 2011; Уша, Б. В., 2013) находят возможным называть толерантностью некоторое продление жизни аллогенного трансплантата под влиянием иммунодепрессивных воздействий или незначительное ослабление продукции антител.

Группа экспертов (Mayhew, T. M., 2001; Baviera, G., 2002; Шкуратова, И. А., 2004; Стрижаков, А. Н., 2015; Lee, S.K., 2013) определяют толерантность как специфическую иммунологическую ареактивность, индуцированную антигеном. Петров, Р. В., 1982-1988; Пасман, Н. М., 2002; Осина, Л. М., 2008; Duckitt, K., 2011; Lashley, E. E., 2013; Путилова, Н. В., 2017 считают, что «толерантность не есть отсутствие реагирующих на данный антиген клеток. Это активное состояние, обеспечиваемое специальными тимуспроизводными лимфоцитами – супрессорами». Оба этих определения нельзя считать удовлетворительными, поскольку каждое из них применимо лишь к некоторым формам толерантности.

Мы, как и ряд других авторов (Chisolm, G.M., 2000; Odegard, R. A., 2001; Steinborn, A., 2001; Frater-Schroder, M., Risau, W., Hallmann, R., Gautschi, P., Bohlen, P., 2007; Момот, А.П., 2014) будем употреблять термин «толерантность» во всех случаях, когда отсутствие или существенная недостаточность иммунного ответа обусловлена изменением специфической реактивности популяции лимфоидных клеток в результате их предварительного контакта с антигеном. В зависимости от формы толерантности указанные популяционные изменения могут заключаться либо в убыли определенного клона лимфоцитов, либо в его неспособности к дифференцировке, либо, наконец, в диспропорции между численностью клонов одинаковой специфичности, но принадлежащих к разным субклассам лимфоцитов (например, между хелперами и супрессорами). Однако в любом из этих вариантов коренная причина отсутствия иммунного ответа лежит в специфическом изменении популяционной структуры лимфоидной ткани, а не в особых условиях ее функционирования.

Основные отличительные черты иммунологической толерантности и некоторых других феноменологически сходных состояний объединяет отсутствие видимых проявлений иммунного ответа (отторжение чужеродного трансплантата, приобретение иммунитета к инфекционному агенту и т.п.) и антигенная специфичность. Первые два состояния (толерантность и

периферическая нейтрализация антител) индуцируются только антигеном или комбинированным воздействием на клетки антигена и иными агентами. Периферическая блокада иммунного ответа антителами может быть индуцирована как антигеном, так и экзогенными антителами (Фонталин, Л.Н., 1978; Волчегорский, И. А., 2000; Павлов, О. В., 2002; Долгих, В. Т., 2000; Михин, Г. Г., 2010).

Между толерантностью и другими сходными состояниями обнаруживаются глубокие различия. При толерантности отсутствует иммунный ответ, несмотря на наличие антигена. Напротив, при трех других состояниях либо отсутствует повод для иммунного ответа (афферентная блокада антителами), либо иммунный ответ замаскирован избытком антигена (периферическая нейтрализация), либо он неэффективен вследствие защиты клеток-мишеней антителами (эфферентная блокада) (Тотолян, А. А., Фрейдлин, И. С., 2000; Дорош, М. В., 2002; Дроздова, Л. И., 2003; Slukvin, I. I., 2002; Hall, V.M., 2013).

Промежуточное положение между толерантностью и периферической нейтрализацией занимает феномен блокады, когда антиген вызывает прекращение «синтеза антител и реэкспрессии «клеточных рецепторов (Zhao, J. X., 2007; Ройт А., 1991, 2000; Agrawal, S., 2000; Ito, K., 1999; Bondjers, G., Wiklund, O., Fager, G., Camejo, E.H., Camejo, G., 2010).

Иммунологическая толерантность может характеризоваться либо отсутствием или обратимой блокадой антигеном иммунокомпетентных клеток соответствующей специфичности, либо активной супрессией последних Т- и В-клетками или их продуктами (Paul, W. E., 1999; Agrawal, A. A., 2001; Жучаев, К. В., 2005; Frank, J. S., 2009; Тао, Y., 2015). Первая из этих форм толерантности в значительной мере соответствует третьему критерию Medawar и именуется различными авторами «истинной», «негативной», «рецессивной», «пассивной».

Многие авторы (Besser, T. E., 1990; Aluhivare, V. R., 2004; Murphy, S. P., Tayade, S., Ashkar, A. A., Hatta, K., Zhang, J., Croy, B. A., 2009; Реброва, О. Ю.,

2008; Айламазян, Э. К., 2013) различают обратимую и необратимую толерантность. Для обратимой толерантности характерно прекращение состояния ареактивности в сроки, заведомо меньшие, чем требуется для формирования новых клонов иммунокомпетентных клеток. Иммунореактивность клеточной популяции быстро восстанавливается либо при ее адаптивном переносе облученным реципиентам, либо в культуре отмытых клеток *in vitro*, либо в результате предварительной кратковременной обработки клеток трипсином. С течением времени обратимая толерантность может перейти в необратимую.

Приходится констатировать известную расплывчатость термина «обратимая толерантность». Hunt, J. S., 2004; Серов, В. Н., 2005; Wang, W.J., 2010 Comba, C., 2015 объединяют этим термином как одну из форм клонально-дефицитной толерантности (краткосрочная центральная блокада антигеном В-клеток), так и супрессорную толерантность (центральная блокада иммунокомпетентных клеток продуктами Т- и В-клеток). Объединение этих весьма различных феноменов единым термином вряд ли целесообразно.

Супрессорную толерантность в свою очередь можно подразделить на три основные формы: толерантность, обусловленную Т-супрессорами или комплексами IgG-антиген; толерантность, обусловленную В-супрессорами или центральной блокадой иммунокомпетентных клеток комплексом антиген-антитело; толерантность, обусловленную антирецепторными или антиидиотипическими антителами или Т-клетками. (Besser, T. E., 1990; Aluhivare, V. R., 2004; Murphy, S. P., Tayade, C., Ashkar, A. A., Hatta, K., Zhang, J., Croy, B. A., 2009; Реброва, О. Ю., 2008; Айламазян, Э. К., 2013). Предлагаемая классификация различных форм толерантности имеет следующий вид. Как будет показано ниже, фактически во многих конкретных ситуациях различные формы толерантности сосуществуют или сменяют друг друга. При иммунологическом параличе, вызванном полисахаридом пневмококка, в зависимости от дозы антигена может преобладать либо периферическая нейтрализация, либо центральная блокада антигеном В-

клеток (Пестряева, Л. А., 2002; Benian, A., 2002; Медвинский, И. Д., 2004; Kaufmanna, P., Mayhewb, T. M. Charnock-Jonesc, D. S., 2004; Caruso, A., 2007; Co, E. C., 2013). Обратимая блокада В-клеток белковыми антигенами может переходить в необратимую.

Комплекс антиген-антитело может одновременно ингибировать иммунокомпетентные клетки и защищать клетки-мишени от цитотоксического действия эффекторных Т-клеток (Милованов, А. П., 1999; Risau, W., 2002; Фризе, К., 2003; Григорьев, В. В., 2004; Хаитов, Р. М., 2003; Reynolds, L. P., 2005; Wang, S., 2014). При толерантности к аллогенным клеткам наблюдается одновременно клонально-дефицитная и супрессорная (обусловленная продукцией блокирующих антител) толерантность к различным трансплантационным антигенам в зависимости от «силы» последних (Robertson, S.A., 2009; Talayev, V.Yu., 2010; Tang, A.W., 2011).

На некоторых стадиях толерантности, индуцированной ксеногенными эритроцитами с помощью иммунодепрессанта циклофосфида, наблюдаются одновременно специфический дефицит иммунокомпетентных клеток и продукция «блокирующих» антител (Глуховец, Б. И., Глуховец, Н. Г., 2002; Smith, J. T., Elkin, J. T., Reichert, W. M., 2006; Джобава, Э. М., 2013). При толерантности, индуцированной дезагрегированными белками, транзитная Т-супрессия сменяется стойким дефицитом хелперов (Distler, J. H., Hirth, A., 2003; Abrahams, V. M., Straszewski-Chavez, S. L., Guller, S., Mor, G., 2004; Талаев, В. Ю., 2005). Комплексность реально получаемых в эксперименте и клинике ареактивных состояний представляет существенные трудности для исследователя.

Приспособительное значение многообразия различных форм толерантности и сходных с ней состояний особенно наглядно выступает при рассмотрении механизмов ауто толерантности. Большинство экспериментально получаемых состояний специфической ареактивности характеризуется той или иной степенью неполноты – количественной или качественной. В первом случае наблюдается сильно редуцированная

способность к разнообразным иммунным реакциям на данный антиген. Во втором случае избирательно поражается определенный класс иммунных реакций на данный антиген, тогда как способность к иным иммунным реакциям на тот же антиген сохраняется. Этому феномену был присвоен термин «расщепленная» (split) толерантность» (Peters H. M., 2001; Zusterzeel, P. M., Rutten, H., Roelofs, H. J., 2001; Ушаков, И. Б., 2004; Фёдоров, Ю. Н., 2005; Колгушкина, Т. Н., 2006; Zhy, B. T., 2010; Matthiesen, L., 2012).

К сожалению, термин «расщепленная толерантность» одновременно был употреблен в совершенно ином смысле: Formby, B., 2005; Robertson, S.A., 2009; Talayev, V.Yu., 2010; Tang, A.W., 2011 назвали так отторжение кожи мышей одной из родительских линий при толерантности, индуцированной кроветворными клетками гибридов F₁. Последующие исследования данного феномена показали, что причиной его являются антигенные различия между кожей и кроветворными клетками (Wegmann, T. G., Lin, H., Guilbert, L., Mosmann, T. R., 2003).

В настоящей работе термин «расщепленная толерантность» будет употребляться только в смысле избирательного подавления какого-либо класса иммунных реакций на данный антиген или его эпитоп при сохраненной или ослабленной, но не усиленной общей иммунореактивности на тот же антиген или эпитоп.

Чаще всего при расщепленной толерантности поражается формирование ГЗТ (Зудова, Т. А., 1999; Галактионов, В. Г., 2000; Ефанова, Л. И., 2004; Глуховец, Б. И., 2007; Chernyshov, V.P., 2014) Однако при толерантности, индуцированной у сенсibilизированных животных малыми-дозами дезагрегированного чужеродного гамма-глобулина, а также при толерантности, вызванной *in vitro* сингенными (клетками, обработанными гаптенем, сохраняется способность к ГЗТ, но нарушается способность к продукции антител. Исчезновение способности продуцировать антитела к флагеллину и одновременно формирование ГЗТ наблюдали Park, M. I., 1990; Agrawal, S., 1994; Allport, J. R., Muller, W. A., Luscinskas, F. W., 2000; Терехов

В.И., 2001; Сухих, Г. Т., 2003; Distler, J. H., Hirth, A., 2003; Abrahams, V. M., Straszewski-Chavez, S. L., Guller, S., Mor, G., 2004; Талаев, В. Ю., 2005; Тихонов, В. Н., 2005 Longtine, M.S., 2011, используя в качестве толерогена химически модифицированный флагеллин.

При низкозонной толерантности продукция IgG-антител поражается сильнее, чем IgM-антител (Abrahams, V. M., Kim, Y. M., Straszewski, S. L., Romero, R., Mor G., 2004), что, видимо, связано с большей Т-зависимостью продукции IgG-антител.

Своеобразную расщепленную толерантность наблюдали Цигулева, О. А., 2003; Kaufmanna, P., Black, S., Huppertz, B., 2003; Quehenberger, O., 2005; Sargent, I.L., Borzychowski, A. M., Redman, C. W., 2006; Стрижаков, А. Н., 2013, 2015 у мышей, получивших большую дозу Vi-антигена *S. typhi* или Vi-антиген в комбинации с циклофосфамидом: в первом случае в сыворотке животных отсутствовали антитела, выявляемые в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА), но имелись превентивные (защищавшие реципиентов от смертельной инфекции) антитела; во втором случае животные в ответ на тест-инъекцию стандартной дозы Vi-антигена продуцировали антитела, выявляемые в РПГА, но отсутствовало формирование АТОК, выявляемых в реакции локального пассивного гемолиза в геле. Возможной причиной этой разновидности расщепленной толерантности является гетерогенность Vi-антигена или формирование толерантности лишь к некоторым его детерминантам (Milasinovic, L., 2002; Michaelsson, J., Mold, J. E., McCune, J. M., Nixon, D. F., 2006; Moldenhauer, L. M., 2010). При анализе конкретных случаев расщепленной толерантности необходимо учитывать различную чувствительность иммунологических методов, применяемых для идентификации иммунного ответа.

В последние годы появилась тенденция подчеркивать относительный характер толерантности к разнообразным антигенам, противопоставляя расщепленную толерантность «устарелой концепции абсолютной иммунологической толерантности» (Савченков, Ю. И., 2001; Исаева, А. Г.,

2004). В действительности нет оснований абсолютизировать ни полную, ни расщепленную толерантность.

Иммунологическая толерантность является, как правило, системным понятием, затрагивающим иммунокомпетентные клетки всех уровней организации и специфичности. Это естественно, поскольку распространение лимфоцитов от центральных к периферическим лимфоидным органам и обуславливает локальные изменения специфической иммунореактивности (Фонталин, Л.Н., 1978; Волчегорский, И. А., 2000; Павлов, О. В., 2002; Долгих, В. Т., 2000; Михин, Г. Г., 2010).

Часто различают естественную и искусственно индуцированную толерантность. К естественной толерантности относится прежде всего толерантность к ряду аутоантигенов, приобретаемая в ходе нормального онтогенеза. Сюда же относятся относительно редкие случаи взаимной толерантности к трансплантационным антигенам у дизиготных близнецов и частичная толерантность в функциональной системе «мать-плод» (Говалло, В. И., 1987; Дмитриев, А. Ф., 1995; Дубровин, М. М., 2001; Глуховец, Б. И., Глуховец, Н. Г., 2002; Smith, J. T., Elkin, J. T., Reichert, W. M., 2006; Джобава, Э. М., 2013; Дроздова, Л. И., 2010). Особую группу составляет ареактивность, индуцированная в условиях патологии, толерантность к опухолевым, микробным и вирусным антигенам.

К середине 40-х годов стало ясно, что антигены тканевой совместимости обуславливают процессы отторжения трансплантата и играют немаловажную роль в противоопухолевом иммунитете. С момента реализации проектов клинической трансплантации аллогенных органов законы иммунологической толерантности имеют клиническое воплощение, на основе чего возникает новое направление науки изучающие иммунологические аспекты взаимоотношения и взаимосвязи в функциональной системе «мать-плацента-потомство» (Федюк, В. В., 2003; Сухих, Г. Т., 2003-2005; Wold, A.S., 2005; Филиппов, О. С., 2009; Yagel, S., 2009; Щербаков, В. И.; 2012)

Иммунологические аспекты взаимоотношения в функциональной системе «мать-плацента-потомство» осознанно важны как в научном, так и практическом направлении жизнедеятельности живых организмов. Становление основных параметров естественной толерантности является равнозначным аспектом по отношению к основам формирования механизмов искусственной толерантности (Lauritsen, J.G., 1976; Каиров, Г. Т., 1999; Исмагилова, А. Ф., 2001; Блощинская, И. А., 2003; Zenclussen, A.C., 2006; Leber, A., 2011).

По данным многих исследователей (Березовский, Ю. С., 2001; Mulayim, N., Savlu, A., Guzeloglu-Kayisli, O., Kayisli, U. A., Arici, A., 2004) патологическое течение беременности связано с нарушением во взаимоотношенном комплексе «мать-плод» и приводит к специфическим клиническим последствиям на молекулярно-клеточном, тканевом, органном, организменном и популяционном уровнях организации.

Большинство авторов (Rajagopalan, S., Bryceson, Y. T., Kuppusamy, S. P., Geraghty, D. E., Joosten, I., Long, E. O., 2006; Murray, C. F., 2013; Баймишев, Х. Б., 2013) утверждают, что факт снижения функциональной активности иммунной системы материнского организма в ограничении длительности иммунного реагирования и последовательности его форм обусловлен антигенными детерминантами отцовского гаплотипа. Особенности функционирования лимфоцитов у беременных особей не изменены, а в некоторых случаях даже повышены. Однако все же имеются различия между лимфоцитами беременных и небеременных животных в реакциях на митогены. Поэтому иммунологические отношения на популяционном уровне следует рассматривать как последствия действия антигенов материнского организма на плод, так и эффекты аллогенного действия плода на организм матери.

Проявление таких особенностей организма, как выносливость и продуктивность, является основной сущностью животного, по ним должна определяться их хозяйственная ценность (Wegmann, T. G., 1993; Цхай, Б. В.,

2002; Abrahams, V. M., Straszewski-Chavez, S. L., Guller, S., Mor, G., 2004). Человечество достигло больших успехов в повышении продуктивности животных. Однако эти успехи могли бы быть значительно выше, если бы наряду с повышением продуктивности совершенствовались устойчивость животных к заболеваниям и приспособляемость к условиям внешней среды.

При нарушении плацентации (плацентарного барьера) возникает состояние иммунного конфликта, характеризующегося реакцией антиген–антитело и осуществляющегося через плаценту (по отношению к плоду), либо через молозиво после рождения (по отношению к новорожденному потомству) (Weber, C., Erl, W., Weber, P. C., 2005; Черешнев, В. А., 2006; Aw, D., 2010; Wu, L., 2011; Vassiliadou, N., 2019).

Иммунологическую взаимосвязь и иммунобиологическое взаимодействие следует рассматривать в двух вопросах: иммунологические эффекты со стороны матери у плода и иммунологические эффекты со стороны плода у матери, так как данные процессы взаимообусловлены и равнонаправлены.

В первом случае по аналогии с явлениями иммунологической толерантности, индуцируемой в эмбриональном периоде по отношению к чужеродным антигенам, можно думать, что плод способен (приобретать состояние толерантности по крайней мере к некоторым антигенам матери. Очевидно, что условием этого должен быть контакт плода с соответствующими антигенами материнского организма, обеспечиваемый достаточной проницаемостью плацентарного барьера (Voisin, G. A., 2002; Черданцева, Г. А., 2003; Redman, C. W., Sacks, G. P., Sargent, I. L., 2003). Вероятно, такая возможность при беременности существует не только по отношению к растворимым антигенам (например, гамма-глобулину, несущему Gm-антиген), но и цельным клеткам.

Holliday, Barnes (2001) в опытах на мышах показали, что при совместимой беременности введенные самкам меченые сингенные эритроциты обнаруживаются у плодов в 100% случаев. Авторы считают

трансплацентарный переход клеток нормальным физиологическим явлением, которое может происходить и у животных других видов.

О возможности развития толерантности у плода к антигенам матери свидетельствуют как экспериментальные, так и клинические данные. Трунова, Л. А., (1975); Таранов, А. Г., (2004); Yan, С. Н., (2007); Бузлама, В. С., (2007) показали, что продолжительность жизни кожного трансплантата, пересаженного новорожденным кроликам от матери, значительно больше, чем срок жизни кожи отцовского происхождения. Было установлено, что воздействия, направленные на повышение проницаемости плацентарного барьера (введение гиалуронидазы, гистамина), способствуют развитию толерантности эмбриона к антигенам матери (Щербаков, Г. Г., 2009; Ярилин, А. А., 2010 Williams, Z., 2012). Такой же эффект оказывало облучение неинбредных беременных крыс (Lengerova, 1997): пересаженная крысятам через 28 дней после рождения кожа матери в 65% случаев жила более 9 мес, тогда как кожа других доноров отторгалась в гораздо меньшие сроки. Lengerova (1997) полагает, что эффект облучения также связан с повышением проницаемости плацентарного барьера.

В клинике известен факт, что при несовместимости по Rh-антигену между матерью и плодом частота эритроblastоза у новорожденных сравнительно невелика. Это позволяет предполагать определенной степени толерантность у беременной женщины (Rh-), приобретенную ею в результате прежнего эмбрионального контакта с Rh + эритроцитами ее матери.

Подобной ситуации можно было бы ожидать и в отношении групп крови системы АВО, однако работы (Arcuri, F., 2001; Aggarwal, В. В., 2003; Левкович, М. А., 2003) показали, что содержание изогемагглютининов в крови исследуемых лиц не зависит от группы крови матери. Тем не менее при иммунизации людей группы 0 столбнячным токсинидом, содержащим компонент, сходный по антигенным свойствам с субстанцией А эритроцитов, титры анти-А-антител были более высокими в том случае, когда матери вакцинируемых имели группу крови 0, но не А.

Наряду с приведенными фактами, свидетельствующими о возникновении толерантности у эмбриона к антигенам матери, имеются данные о том, что даже при благоприятных условиях трансплацентарной передачи некоторых антигенов матери толерантность к ним у потомства не возникает. Это относится, в частности, к упомянутому выше антигену Gm человека, который, свободно проникая в организм плода вызывает толерантность. Наоборот, в течение первого года жизни у детей зарегистрировано образование антител к чужому антигену (Кулаков, В. И., 2004; Abrahams, V. M., Kim, Y. M., Straszewski, S. L., Romero, R., Mog G., 2004; Васильев, Ю. Г., 2007; Barnea, E. R., 2007-2010).

Причина данного явления неясна, и можно лишь предполагать, что Gm-антиген либо является плохим толерогеном, либо его количество, передающееся плоду, недостаточно для индукции толерантности (Кульберг А.Я., 1985; Black, C. A., 2000; Agrawal, A. A., 2001; Кузнецова, А. В., 2005).

Второй аспект иммунобиологических отношений между организмом матери и плода относится к реакции матери на антигены плода. Установлен тот факт, что при беременности материнский организм реагирует иммунологическими реакциями на фетальные антигены, унаследованные им от отца (Armulik A., Abramsson A., Betsholtz C., 2005). Это проявляется как образованием циркулирующих антител к трансплантационным антигенам и антигенам групп крови (Rh), так и развитием реакций клеточного иммунитета.

Toyoda, M., (2010) отмечено, что у человека в 25% случаев происходит изоиммунизация матери аллоантигенами плода при первой беременности, а при последующих беременностях эта величина возрастает до 50%. Многочисленными исследованиями также установлено, что в лимфоидной ткани беременных животных и человека появляются лимфоциты, сенсibilизированные по отношению к антигенам плода, что выявляется различными тестами – цитотоксическое действие *in vitro*, способность вызывать РТПХ у потомства *in vivo* (Bevilacqua, E., 2014; Hunt, J. S., 2019.).

Вместе с тем существуют данные, показывающие, что повторные беременности могут приводить к уменьшению реактивности самок к антигенам плода при антигенной несовместимости родителей. Это было установлено по удлинению жизни кожного трансплантата, пересаженного высокой кратности плодоношений мышам-самкам от самцов, различающихся по H-2-комплексу гистосовместимости, которые были взяты для скрещивания, а также по приживлению опухолей, имеющих генотип мышей-самцов (Salvucci, O., Basik, M., Yao, L., Bianchi, R., Tosato, G., 2004). Установлено, что подавление реакции мышей-самок к Y-антигену самца развивается не только в результате беременности как таковой, но и под влиянием введения эякулята (Salmon, H., 1999; Voisin, G. A., 2002).

Значительную роль в этом обеспечении представляют другие супрессорные механизмы обеспечивающие полноценное функционирование плода, являющегося «физиологическим аллогенным трансплантатом» в организме матери). Одним из таких механизмов может быть изменение гормонального баланса при беременности – повышение продукции кортикостероидов и половых гормонов. Установлено, в частности, что хорионический гонадотропин человека является фактором, ингибирующим реакции клеточного иммунитета *in vivo* и *in vitro* (Сотникова, Н. Ю., 2001-2005; Сорокина, С. Э., 2015; Wang, J., 2017). Возможно, что именно этот фактор обуславливает снижение иммунологической реактивности при беременности не только по отношению к антигенам плода, но и другим, экзогенным антигенам (Lindner, V., Majack, R.A., Reidy, M. A., 2000; Mahmoud, F., 2003).

Следует отметить, что такое снижение реактивности часто носит фазный характер. Так, было показано, что способность лимфоцитов беременных мышей-самок вызывать РТПХ у потомства F₁ (при несовместимости родителей по H-2-комплексу) существенно снижается во второй половине (Кириллов, Н. К., 2005; Пальцев, М. А., 2009) или втором триместре беременности, а в конце беременности эта способность вновь возрастает (В.С.

Смирнов, П. Н., 2010; Степанова, Е. О., 2013). Уровень цитотоксических антилейкоцитарных антител в сыворотке крови человека значительно снижен в последнем триместре беременности (Makarenko, M. V., 2014).

Другим фактором, который может играть существенную роль в предупреждении иммунологического конфликта между организмом матери и плода, является продукция блокирующих агентов. При беременности этот феномен был впервые описан у мышей К. Hellstrom и соавт. (1969), которые обнаружили, что сыворотка беременных мышей линии, специфически блокирует цитотоксическое действие лимфоцитов в отношении эмбриональных клеток.

Эти данные были подтверждены рядом авторов, в том числе и в исследованиях на людях (Wood, G. W., 2000; Безмен, В. А., 2002). Следует отметить, что блокирующие факторы (антитела класса IgG или комплекс антиген-антитело) могут обладать защитным действием в отношении не только самого плода, но и антигенов трофобласта, если учесть присутствие этих антигенов в сыворотке беременных женщин.

Наконец, в защите плода от иммунокомпетентных клеток матери могут играть роль и не иммунологические факторы, в частности структурные особенности трофобласта, препятствующие трансплацентарному проникновению лимфоцитов матери (Бакшеев А.Ф., 2003; Tachi, C., Tachi, S., 2006).

Представленный материал показывает, что иммунологические отношения в функциональной системе «мать-плацента-потомство» значительно варьируемы. Ситуация представляется еще более сложной в свете данных последних лет, показывающих, что различие в антигенном состоянии является гомеорезисным фактором для обеспечения полноценной беременности. В частности, установлено (Vigano, P., 2007; Van Wijk, F., 2009), что при аллогенном скрещивании мышей численность потомства была выше, чем в случае скрещивания сингенных самцов и самок.

В связи с этим невозможно однозначно оценить роль толерантности в функциональной системе «мать-плод». Можно полагать, что у человека при несовместимости по антигенам одной группы (например, Rh-антигену, антигенам АВО) развитие толерантности предупреждает возможные осложнения, в то время как при различиях матери и плода по антигенам другой группы (HLA) возникновение толерантности может иметь отрицательные последствия (Белкина Н. Н., 1992; Баринова, И. В. 2015; Straszewski-Chavez, S. L., Abrahams, V. M., Mog, G., 2004). Однако у животных с различным типом плацентации данный факт является лишь предполагающим и требующий научного подтверждения и практического разрешения.

1.2 Индукция и динамика развития толерантности для иммуноадаптивного периода при возрастной иммунологической незрелости.

Исследованиями установлено, что толерантность той или иной напряженности и длительности можно получить практически к любым антигенам – как естественным, так и искусственно синтезированным. Однако легкость ее возникновения и методы индукции, в частности необходимость использования вспомогательных средств, определяются рядом факторов, среди которых основным являются свойства используемого антигена. Одно из таких свойств – так называемая сила антигена. Она может быть охарактеризована количественно по продукции антител, числу антителообразующих клеток или интенсивности реакций клеточного иммунитета после иммунизации (Wood, G. W., 2000; Безмен, В. А., 2002; Бакшеев А.Ф., 2003; Tachi, C., Tachi, S., 2006; Vigano, P., 2007; Van Wijk, F., 2009).

По данным наблюдений отдельных ученых (Straszewski-Chavez, S. L., Abrahams, V. M., Mog, G., 2004; Watanabe, M., Iwatani, Y., Kaneda, T., Hidaka, Y., Mitsuda, N., 2007) для некоторых природных антигенов сходной химической структуры (например, сывороточных альбуминов или глобулинов млекопитающих и птиц), их сила может прямо коррелировать со степенью чужеродности, т.е. филогенетического родства по отношению к животным, которых иммунизируют данным антигеном.

В исследованиях по индукции толерантности к сывороточным белкам было установлено, что степень и длительность возникающей специфической ареактивности во многих случаях тесно связаны с рассматриваемым свойством антигенов: чем более чужероден (т.е. филогенетически отдален) белок, тем труднее вызвать по отношению к нему толерантность (предполагая одинаковые условия ее индукции – доза антигена, степень его очистки, кратность введения и т. п.). Подобные данные были получены в самый ранний период исследования толерантности к гомо- и гетерологичным эритроцитам, индуцированной в эмбриональном или раннем постнатальном периоде и у

взрослых животных (Stevens, T., 2000; Thaete, L. G., 2006; Xiong, H., 2010; Vickery, B. P., 2011)

Особенно наглядно проявляется соотношение между силой антигена и его толерогенностью при индукции толерантности к трансплантационным антигенам. Так, у мышей при различиях по антигенам главного комплекса гистосовместимости (H-2) получить стойкую толерантность к кожному трансплантату значительно труднее, чем при различиях по антигенам других локусов (Werfel, T., 1997; Veenstra, A. L., Heineman, M. J., Faas, M. M., 2003). Еще более сложным оказалось получение толерантности (химеризма) в ксеногенной системе, где лишь крайне интенсивная иммунодепрессивная обработка может привести к успеху (Авруцкая, В. В., Орлов В.И., Пономарева А.Ю., Крукиер И.И., 2007; Артымук, Н. В., 2012).

Однако подобного рода соотношение между чужеродностью антигена и его иммуногенной (соответственно толерогенной) активностью справедливо лишь для определенных групп антигенов. Сила бактериальных антигенов, оцениваемая по величине минимальной иммунизирующей дозы для теплокровных, варьирует в крайне широких пределах (Nossal, Ada, 1971). Разумеется, вряд ли можно говорить о том, например, что дифтерийный анатоксин менее чужероден для организма млекопитающих, чем О-антиген тифозных бактерий, основываясь лишь на различии их иммунизирующих доз. Столь же вариабельна и толерогенная активность антигенов бактериального происхождения, среди которых есть и мощные толерогены (пневмококковый полисахарид, флагеллин сальмонелл), и антигены, обладающие слабыми толерогенными свойствами (дифтерийный анатоксин).

Другим примером, иллюстрирующим сказанное, являются синтетические полипептиды. Антигены, состоящие из D-аминокислот, можно рассматривать как более чужеродные по сравнению с полипептидами из соответствующих L-аминокислот, однако первые менее иммуногенны и вместе с тем обладают более выраженными толерогенными свойствами. Принадлежащий к этому классу соединений кополимер D-глутаминовой

кислоты и D-лизина, будучи использованным в качестве носителя, придает уникальные толерогенные свойства конъюгированному с ним (Charnock-Jones, S., 2004; Wilczynski, J. R., 2006; Kuhnert, M., 2008; Ширшев, С. В., 2009; Kwak-Kim, J., 2009-2014).

Из сказанного следует, что чужеродность не есть признак, позволяющий сделать априорное заключение об иммуногенной или толерогенной активности антигена. Результаты исследований Криворучко, А. Ю., (2000); Sasaki, Y., Sakai, M., Miyazaki, S., Higuma, S., (2004) дают возможность отметить более общую закономерность: независимо от природы антигена существует обратная связь между его иммуногенностью и способностью вызывать толерантность. Так, некоторые антигены, не иммуногенные при использовании без адьюванта, обладают хорошими толерогенными свойствами. К их числу относятся синтетические полипептиды из D-аминокислот и полисахарид капсулы *B. anthracis*. Динитрофенол как гаитен не вызывает у мышей ни иммунитета, ни толерантности, будучи введенным в чистом виде, но является хорошим иммуногеном при введении в виде конъюгата с гетерологичным белком. Однако если в качестве носителя использован изоэлогичный (т.е. неиммуногенный) иммуноглобулин, то такой конъюгат является высокотолерогенным (Van den Boogaardt, D. E., 2006; Tomura, M., 2010).

Рядом авторов было показано, что некоторые воздействия, снижающие иммуногенность антигена, одновременно усиливают его толерогенные свойства. Классическим примером являются опыты по использованию дезагрегированных белков или белков, подвергнутых «биологической фильтрации» (Thornbury, J. C., 1993; Жаров, А. В., 2009; Umaphathy, S., 2011).

Аналогичный результат был получен при уменьшении величины молекул некоторых антигенов. Активный компонент флагеллина обладает более слабой иммуногенной активностью, чем мономерный или полимеризованный флагеллин, однако он является сильным толерогеном *in vivo* (Barta, O., 1981; Иванова, Л. А., 2003; Козлов, Н. А., 2007; Sotnikova, N.,

2014; Игнатко, И. В., 2015). Другой пример описан Bell, S. C., (1981); Sorg, R. V., (2009), которые исследовали толерогенные свойства левана и продуктов его деполимеризации.

Весьма наглядно соотношение между иммуногенными и толерогенными свойствами антигена продемонстрировано (Solano Aguilar, G. I., 2001). Было установлено, что ацетоацетилирование флагеллина *S. adelaide*, не изменяя антигенной специфичности, снижает его способность вызывать образование антител у крыс, причем это зависит от числа введенных в молекулу ацетоацетильных групп: чем оно больше, тем более выражено снижение иммуногенности по данному тесту. Одновременно с этим возрастала толерогенность препарата. Сходный эффект давало также йодирование флагеллина. Следует, однако, отметить, что в опытах Parish отмеченная закономерность касалась лишь образования гуморальных антител: сильно замещенные препараты флагеллина обладали значительно более высокой способностью вызывать реакции клеточного иммунитета. Это соответствует полученным ранее данным (Кравцова Е. И., 2004; Berliner, J. A., Territo, M. C., 2009), которые исследовали иммуногенные и толерогенные свойства различных конъюгатов арсаниловой кислоты у морских свинок по тесту кожной гиперчувствительности. Авторы показали, что толерантность у новорожденных свинок вызвали лишь те конъюгаты, которые обладали иммуногенностью (т.е. были способны давать ГЗТ у взрослых свинок).

Тем не менее для тех форм толерантности, где критерием является подавление способности продуцировать антитела, снижение иммуногенности, как правило, сопровождается возрастанием толерогенной активности антигена.

Значение величины дозы антигена для индукции толерантности частично уже рассмотрено нами выше при описании отдельных ее форм. Для многих антигенов условием для получения к ним стойкой толерантности является применение доз, значительно превосходящих иммуногенные, причем с повышением дозы толерантность становится не только более глубокой, но и

более продолжительной (Beer, A. E., 1977-1986; Barakonyi, A., 1999; Barden, A., 2001; Титченко, Л. И., 2005; Beta, J., 2011). Применение высокой дозы антигена является одним из главных условий для возникновения лекарственно индуцированной толерантности к антигенам, обладающим сильными иммуногенными свойствами.

Однако дробное (а в некоторых случаях и однократное) введение небольших (субиммуногенных) доз антигена также может вызвать состояние ареактивности. Это феномен низкозонной толерантности, описанный для ряда антигенов: белков, клеточных антигенов, липолисахарида *E.coli*, пневмококкового полисахарида, гаптен (Dosiou, C., Giudice, L. C., 2005; Lanier, L. L., 2007).

Низкозонная толерантность может быть индуцирована как у новорожденных, так и у взрослых животных, причем необходимые для этого дозы антигена могут быть чрезвычайно малыми. Так, толерантность к флагеллину у новорожденных крыс возникала после 2-недельного курса инъекций (Рецкий, М. И., 2010; Родин, П. В., 2015).

Флагеллин является наиболее эффективным из известных толерогенов, если судить по его количеству, необходимому для индукции низкозонной толерантности. Близко к нему стоит лишь пневмококковый полисахарид, который даже при однократном введении в дозе 0,005 мкг на мышь способен вызвать состояние сниженной реактивности. Для сывороточных белков необходимые дозы существенно выше. Так, при использовании бычьего сывороточного альбумина взрослым мышам необходимо вводить по 1-10 мкг белка 1-3 раза в неделю в течение 5-10 недель (Barta, O., 1981; Иванова, Л. А., 2003; Козлов, Н. А., 2007; Sotnikova, N., 2014; Игнатко, И. В., 2015).

Величина дозировок для индукции низко- и высокозонной толерантности отличается на 3-4 порядка (Bell, S. C., 1981; Sorg, R. V., 2009). Интересно отметить, что такой же диапазон характеризует различия в чувствительности Т- и В-клеток к индукции толерантности. Промежуточные дозы, вводимые взрослым животным, вызывают обычную иммунную

реакцию. При введении новорожденным животным они могут вызвать состояние сенсibilизации, либо никак не влияют на реактивность при последующей иммунизации (Lauritsen, J. G., 1975; Петрищев, Н. Н., 2001-2003; Lanzavecchia, A., 2001).

Способность вызывать толерантность в двух зонах присуща тем антигенам, которые обладают как иммуногенными, так и толерогенными свойствами. У неиммуногенных препаратов, подобно дезагрегированным белкам в опытах на мышах, отсутствует область промежуточных доз, дающих иммунную реакцию. Частичную ареактивность вызывают однократно вводимые дозы в пределах 10-100 мкг, для получения полной толерантности необходимы большие количества 1-2,5 мг (Пол У., 1987; Dejana, E., 2001; Павлов, О. В., 2004; Davis, G. E., Senger, D. R., 2005; Петров, О. И., 2007).

В противоположность белкам, не подвергнутым дезагрегации, дальнейшее увеличение дозировки очищенных ультрацентрифугированием препаратов белков может приводить к развитию иммунной реакции. Своеобразная зависимость между иммуногенными и толерогенными свойствами, определяемая дозировкой препарата, отмечена для пневмококкового полисахарида (Dejana, E., 2004; Small, J. V., 2005). Этот антиген вызывает частичную толерантность мышей в очень низких, неиммуногенных дозах (0,005 мкг) и полную толерантность при введении высоких доз (250-1000 мкг). Доза 0,5 мкг вызывала максимальный первичный иммунный ответ при подсчете числа антителообразующих клеток в селезенке. Однако при повторном введении мышам иммуногенной дозы полисахарида было обнаружено, что какова бы ни была первая доза, реакция оказывалась в той или иной степени сниженной.

Следовательно, пневмококковый полисахарид ведет себя как нативный белок (например, бычий сывороточный альбумин), не вызывая первичной реакции при инъекции малых или высоких доз и иммунизируя в области промежуточных. В то же время этот антиген, подобно дезагрегированным белкам, обуславливает специфическое снижение иммунореактивности,

будучи примененным в любых дозах выше пороговой (0,005 мкг), что выявляется при последующем тестировании (Smith S. C., 2007; Палиева, Н. В., 2016; Cooke, R. F., 2019).

Удовлетворительное объяснение феномена низкозонной толерантности в течение ряда лет по существу отсутствовало и сводилось просто к констатации факта, что иммунокомпетентные клетки инактивируются в результате воздействия на них антигена в субиммуногенной концентрации (см. Mitchison, 1964; Dresser, Mitchison, 1968). Лишь полученные в 70-х годах результаты позволили приблизиться к пониманию механизмов этого явления. Исследование клеточного субстрата толерантности, индуцированной низкими и высокими дозами Т-зависимых антигенов (белков и конъюгатов гаптен-белок), показало, что при низкозонной толерантности избирательно поражаются Т-хелперы, тогда как при использовании высоких доз ареактивными становятся и Т- и В-клетки (Odegard, R. A., 2001; Сельков, С. А., 2003; Schwulst, S. J., 2008). Это соответствует данным о большей чувствительности Т-клеток к толерогенному действию антигенов (Kanai, T., Fujii, T., Kozuma, S., Yamashita, T., 2013).

В связи с этим необходимо отметить, что при использовании Т-независимых антигенов (полимеризованный флагеллин, пневмококковый полисахарид) для индукции толерантности в популяции В-клеток достаточны очень небольшие количества антигена. Одной из причин этого явления может быть опосредованность толерогенного действия антигена. Установлено, в частности, что введение низких доз некоторых антигенов-пневмококкового полисахарида, бактериофага, бруцелл приводит к активации специфических Т-клеток супрессоров. По-видимому, такой механизм отсутствует при низкозонной толерантности к Т-зависимым антигенам, поскольку генерация Т-клеток супрессоров обычно требует применения высоких доз этих антигенов (Сердюк, Г. Н., 2000; Ormerod, M. G., 2000; Palmer, G. W., 2002; Keever, C. A., 2003; Nakashima, A., 2012; Osorio, J. S., 2013; Sharma S., 2014).

Сравнительно высокая чувствительность В-клеток к действию низких доз Т-независимых антигенов может явиться следствием отсутствия Т-хелперной функции, поскольку было установлено, что в случае Т-зависимых антигенов хелперы в определенных условиях защищают В-лимфоциты от толерогенного эффекта (Сергиенко, В. И., 2001; Сельков, С. А., 2000).

Наконец, в развитии низкозонной толерантности следует учитывать возможность участия антител (естественных или образующихся после инъекции антигена), которые даже в ничтожных дозах могут резко усиливать толерогенное действие антигенов в результате образования комплекса антиген-антитело. Это относится как к Т-зависимым, так и Т-независимым антигенам (Ozenci, C. C., Korgun, E. T., Demir, R., 2001; Khong, T. Y., 2007; Shojaeian, J., 2007; Nielsen, H. S., 2010).

Изложенные выше данные показывают, что разнообразные по своему качеству антигены могут вызвать либо иммунитет, либо толерантность в зависимости от дозы и схемы.

В целом можно сказать, что корпускулярные антигены (бактерии, эритроциты) обладают обычно сильными иммуногенными и слабыми толерогенными свойствами в противоположность растворимым антигенам. Примером может служить сопоставление эритроцитов с растворимым антигеном, полученным из них (Simms, P. E., 1996; Rupp P. A., Little C. D., 2001; Pabst, R., 2002). По-видимому, это связано с легкой фагоцитируемостью клеток, что приводит к образованию высокоиммуногенных продуктов, а также с комплексностью их антигенной структуры. В последнем случае толерантность, возникающая к одному из антигенов-комплекса, может сопровождаться антителообразованием по отношению к другому, в результате чего суммарная реакция проявляется в виде иммунного ответа, хотя, может быть, и сниженного (Polverini, P. J., 2003; Серова, О. Ф., 2007; Сидоркин, В. А., 2007; Guerin, L. R., 2009; Khonina, N. A., 2013).

Агрегатное состояние препаратов сывороточных белков (гамма-глобулин лошади, быка, человека) весьма существенно для проявления их

толерогенных свойств. Собственно, толерогеном является неагрегированная (мономерная) фракция, тогда как агрегаты высокоиммуногенны. Присутствие агрегированного белка в препарате даже в ничтожных количествах может полностью предотвратить его толерогенное действие при однократном введении (Gentile, T., 1992; Robertson, S. A., 2009; Blidaru, I., 2010). Поэтому удаление агрегатов при помощи ультрацентрифугирования (с предварительной тепловой обработкой или без нее) делает белок выеокотолерогенным.

Предполагается, что высокая иммуногенность агрегированной фракции белка обусловлена ее эффективным фагоцитозом и быстрое развитие иммунной реакции, следующее за этим начальным этапом, исключает возможность возникновения толерантности. Такая точка зрения подтверждается работами, где были показаны конкурентные отношения между способностью антигена подвергаться фагоцитозу и его толерогенными свойствами в различных системах *in vivo* и *in vitro* (Borel, I. M., 1991; Galan, A., 2000; Sargent, I., 2004; Литвицкий, П. Ф., 2009; Kovac, M., 2011; Chernyshov, V. P., 2014).

Как было указано выше, иммуногенность или толерогенность препаратов обусловлены не агрегатным состоянием белка, а зависят от содержания в нем малого компонента. Однако было бы закономерным для любых систем, что наследственная способность к более интенсивному иммунному ответу означает вместе с тем (повышенную «резистентность» к индукции толерантности и наоборот. В этом случае можно было бы говорить об общности генетических механизмов, определяющих тип реакции на антиген (Петров, Р. В., 1982; Gill, T. J., 1999; Vodnar, R. J., Yates, C. C., Wells, A., 2006).

Некоторые данные действительно показывают, что у животных, относящихся к высокореагирующему типу, труднее получить толерантность, чем у низкореагирующих на данный антиген (Giacomucci, E., 1994; Kudo, T., Izutsu, T., 2000). Установлено, что у мышей низкореагирующей сублинии

можно было получить толерантность к пневмококковому полисахариду, применяя значительно меньшие дозы антигена, чем у мышей, реагирующих на полисахарид более быстрым и интенсивным образованием антител. Ряд исследователей полагают, что у мышей высокореагирующей сублинии антиген нейтрализуется образующимися антителами до развития состояния ареактивности, в связи с чем необходимо вводить его в больших дозах.

Однако имеются наблюдения и другого рода, в частности Dunk, С., (2003); Check, J. H., (2010) были исследованы различные параметры иммунной реакции на пневмококковый полисахарид III типа у рекомбинантно-инбредных мышей, полученных на основе скрещивания мышей высоко- и низкореагирующих линий. Согласно их данным, мыши-рекомбинанты различных типов отличались по способности формировать антителообразующие клетки в ответ на оптимальную иммунизирующую дозу антигена. Исследование чувствительности к индукции низкозонного паралича показало, что не существует корреляции между высотой иммунного ответа и степенью, развивающейся ареактивности при использовании малых доз полисахарида. Поскольку низкозонный пневмококковый паралич обусловлен генерацией Т-клеток супрессорного типа, авторы считают, что процессы формирования антителообразующих клеток и клеток-супрессоров регулируются различными генетическими факторами, действующими независимо. Данные этих исследований вместе с результатами, полученными другими авторами ранее (Folkman, J., Shing, Y., 2002; Gluckman, P. D., 2004; Koch, S. A., 2007), показывают, что продукция антителообразующих клеток определяется геном, присутствующим в Х-хромосоме, в то время как способность к продукции Т-клеток супрессоров контролируется как минимум двумя аутосомными генами. И та и другая функциональная активность не сцеплена с H-2-комплексом или аллотипами тяжелых цепей иммуноглобулинов (IgG).

Независимость развития толерантности от уровня иммунологической реактивности мышей по отношению к данному антигену была показана и другими авторами.

Ройт, А., (2000); Ferrara, N., (2001); Red-Horse, K., (2004) исследовали межлинейные различия у мышей в степени толерантности к эритроцитам барана, индуцируемой при помощи циклофосамида. Было установлено, что иммунный ответ мышей разных линий на данный антиген после толерогенной обработки подавляется не в одинаковой степени. Обнаруженные различия не были связаны с H-2-генотипом животных и не коррелировали с высотой иммунной реакции при иммунизации оптимальной дозой антигена. Было также установлено. Певницкий Л.А. и др., (2007), было также установлено наличие определенной связи между котолерогенными свойствами циклофосамида и его иммунодепрессивной активностью у мышей разных линий, причем последнее свойство, по его мнению, в значительной степени зависит от наследственных особенностей метаболизма циклофосамида в организме.

Две группы работ были посвящены исследованию генетического контроля иммунологической толерантности к белковым антигенам. В работах Sargent, I. L, (2006); Fest, S., (2007) описывается зависимость развития толерантности у мышей к лошадиному гамма-глобулину от уровня комплемента в крови. По данным авторов, мыши, обладающие наследственным дефицитом компонента C₅-комплемента, оказываются более резистентными к индукции толерантности при помощи дезагрегированного белка, чем мыши с нормальным содержанием комплемента. Эти результаты ученые объясняют, исходя из гипотезы о том, что специфическая деструкция клона клеток при развитии толерантности происходит в результате взаимодействия рецепторов клетки с антигеном и литической активности комплемента. В подтверждение гипотезы авторы показали, что введение мышам агентов, снижающих уровень комплемента в крови, незадолго до инъекции толерогена приводит к развитию иммунной реакции (образование

антител) вместо индукции толерантности (Gabbiani, G., 2003; Chaichian, S., 2007; Gao, L., 2014).

Данное объяснение трудно принять безоговорочно в связи с некоторыми недостаточно изученными аспектами. Не совсем ясно, действительно ли участие комплемента необходимо для индукции толерантности *in vivo* на клеточном уровне, поскольку толерантность можно получить *in vitro* и в отсутствие комплемента. Кроме того, в отдельных случаях удавалось индуцировать толерантность у мышей резистентных линий при использовании более интенсивного режима ультрацентрифугирования препарата белка. Некоторые из использованных авторами агентов, повышающих резистентность мышей к индукции толерантности, могут осуществлять подобный эффект не за счет снижения уровня комплемента, а благодаря иным свойствам. По крайней мере, для одного из них (витамин) показано, что он обладает адьювантным эффектом, по-видимому, активируя фагоцитарную функцию.

Вторая группа исследований связана с попыткой объяснить существующие различия в степени возникающей толерантности у мышей разных линий особенностями их фагоцитарной функции. Работами ряда авторов было установлено, что резистентными к индукции толерантности по отношению к белкам являются мыши тех линий, (которые обладают свойством эффективно фагоцитировать антиген, в частности So агрегированную фракцию (Hammon, H. M., 1998; Groot J., 2001; Goasduf, B., 2009). Выше уже было указано на существование конкурентных отношений между толерогенным эффектом дезагрегированного белка и иммуногенным действием его агрегированной фракции.

Cowing с соавт. (1994) показали, что гибриды F_1 от скрещивания мышей линии резистентны к индукции толерантности по отношению к бычьему гамма-глобулину при развитии толерантности подобно мышам линии DBA/2. В потомстве, полученном в результате обратного скрещивания, 50% животных реагируют на толерогенную обработку подобно BALB/c, 50% –

подобно DBA/2. Поэтому процесс индукции толерантности или иммунитета к бычьему сывороточному гамма-глобулину у мышей контролируется одиночным геном и развитие толерантности определяется доминантным аллелем.

В одной из своих последующих работ Cowing и соавт. (1977) высказывают мнение, что отличительным свойством макрофагов мышей линии BALB/c является наличие рецепторов к малому компоненту бычьего гамма-глобулина, который определяет иммуногенность данного белка. Макрофаги мышей линии DBA/2 лишены подобных рецепторов. Это и определяет различную степень чувствительности мышей двух линий к индукции толерантности.

Fujiwara, K.C. (1997) было установлено, что мыши линии, у которых состояние толерантности к гамма-глобулину человека развивается плохо, характеризуются крайне низкой чувствительностью Т-клеток к толерогенному действию белка. По-видимому, это является основной причиной резистентности мышей к индукции толерантности, так как биологическая фильтрация белка не повышает его толерогенности для мышей этой линии.

Еще полвека тому назад было известно, что эмбрионы и новорожденные животные некоторых видов неспособны продуцировать антитела после инъекции антигена (Carole R., 2009; Fu, Q., 2014; Che, L., 2015). Но лишь в эмбриональном периоде под покровом «иммунологической безответности» закладываются основы распознавания «своего» и «чужого», возникает естественная толерантность к аутоантигенам и сравнительно легко может быть индуцирована искусственная толерантность к разнообразным клеточным, вирусным, белковым и другим антигенам. Фаза онтогенеза, в течение которой лимфоидная ткань более склонна к формированию толерантности, чем к обычному иммунному ответу, получила название иммуноадаптивного периода (Borel, I. M., 1991; Brandes R. P., Fleming I., 2005; Saito, S., 2011; Баймишев, X. Б., 2013).

Границы иммуноадаптивного периода достаточно расплывчаты: они зависят от вида животного, от применяемого антигена и его дозы, а также от характера исследуемого иммунного ответа и способа его регистрации.

Процессы созревания иммунологической реактивности в онтогенезе лучше всего прослежены у мышей. Иммуноглобулин содержащие и 0-позитивные клетки появляются впервые у 15-дневного эмбриона; к 20-му дню иммуноглобулин содержащие клетки составляют уже около трети общего числа клеток эмбриональной селезенки. В последние дни эмбриональной и в первые дни постнатальной жизни общее число Т- и В-клеток увеличивается с колоссальной скоростью. Так, число 0-позитивных клеток в селезенке в течение последних трех дней эмбрионального периода увеличивается со 10^4 до 10^5 и в течение последующих 7 дней до 10^7 (Edelman, 1974, и др.). Число иммуноглобулин-содержащих клеток в те же сроки возрастает соответственно со 10^3 до 10^5 и 10^7 (Nossal, Pike, 1973; Edelman, 1974). Клетки, обладающие рецепторами к антигенам эритроцитов барана, эритроцитов кролика и к ТНФ, появляются, по данным Edelman (1974), на 16-й день эмбрионального развития; в дальнейшем число этих клеток быстро увеличивается вплоть до 7-го дня постнатального периода. Предшественники функционально активных В-клеток появляются уже с 13-го дня эмбрионального развития (Nossal, Pike, 1973; Y. Rosenberg, Cunningham, 1976).

Raff et al., (1975); Kearney et al., (1988) отмечена повышенная чувствительность незрелых В-клеток к действию антител против иммуноглобулинов. IgD-рецепторы и рецепторы появляются на цитоплазматической мембране В-клеток мышей значительно позже, чем IgM-рецепторы, – обычно в первые две недели после рождения (M. Gelfand et al., 1994; Vitetta et al., 1995).

В культуре *in vivo* или *in vitro* В-клетки новорожденных мышей способны к иммунному ответу на тимусзависимые антигены в присутствии активированных Т-клеток (Y. Rosenberg, Cunningham, 2005, и др.).

Данные о сроках созревания Т-клеток менее однозначны. Клетки тимуса и селезенки новорожденных мышей уже способны к бласттрансформации в MLC, но цитотоксическая активность формируется не ранее 7 дней после рождения (Wu et al., 2005; Mosier et al., 2006).

По данным Edelman (2004) и Spear, Edelman (2004), лишь через 2-8 недель постнатальной жизни появляются функционально полноценные хелперы. Mosier, Johnson (1995) показали наличие в селезенке новорожденных мышей Т-супрессоров, ингибирующих иммунный ответ на Т-зависимые антигены.

Иммунологическая ареактивность новорожденных мышей отчасти связана также с функциональной неполноценностью макрофагов (Argyris, 2001; Hardy et al., 2003) и с высоким содержанием в крови естественного иммунодепрессанта альфа-фетопротеина (Murgita, Tomasi, 2005).

Таким образом, становление иммунной системы у мышей по различным тестам протекает в основном в течение последних 5 дней эмбрионального периода и первой недели после рождения.

Оптимальный период для индукции толерантности аллогенными клетками начинается с 13-14-го дня эмбриональной жизни и заканчивается к 1-2-му дню после рождения (Billingham et al., 2005, и др.), хотя в случае применения слабых антигенов этот срок может быть увеличен. Дезагрегированный чужеродный сывороточный белок наиболее эффективно индуцирует толерантность, будучи применен на 14-15-й день беременности (Shinka et al., 2014).

В-клетки эмбриональной печени или селезенки новорожденных мышей весьма чувствительны к индукции толерантности конъюгатами гаптена с гомологичным (Metcalf, 2006) или гетерологичным белком (Stocker, 2007; Szewczuk, Siskind, 2007), либо тринитрооульфоновой кислотой (Fidler, 2001). Напротив, толерогенность таких тимуснезависимых антигенов, как леван или декстрин, одинакова для новорожденных и взрослых мышей (Howard, Hale, 2007).

У крыс иммунологическую толерантность к аллогенным клеткам можно индуцировать как в пренатальном периоде, так и в течение последующих 5-7 дней, а иногда и в более поздние сроки. Неоднократно отмечалась функциональная неполноценность макрофагов новорожденных крыс (J. Mitchell, Nossal, 2006, и др.).

У кроликов наиболее эффективна толерогенная инъекция аллогенных клеток в эмбрион не позже 22-24-го дня беременности. У новорожденных кроликов катаболизм чужеродного белка протекает медленно. Их ареактивность может быть преодолена путем введения макрофагов в смеси с антигеном (Castellucci M., Kosanke G., Verdenelli F., Huppertz B., 2007; Brunton, P., 2008).

Плоды обезьян *M. rhesus* на последней трети беременности способны образовывать 19S-антитела к эритроцитам барана, бактериофагу и ферритину, формировать иммунологическую память и отторгать. В то же время некоторые чужеродные сывороточные белки индуцируют частичную толерантность даже у новорожденных обезьян (Cardaropoli, S., 2014).

Многочисленные наблюдения свидетельствуют, что при трансплацентарной инфекции возбудителями краснухи, сифилиса, токсоплазмоза, цитомегаловирусом и некоторыми другими плод человека продуцирует IgM-антитела, отвечает на инфекцию плазмноклеточной реакцией, лимфоидной пролиферацией, формированием гиперчувствительности замедленного типа и иммунологической памяти (Caruso, A., 1997; Бакшеев, А. Ф., 2008).

Таким образом, для иммуноадаптивного периода характерны следующие основные черты: 1) меньшая общая численность лимфоидных клеток; 2) высокие темпы пролиферации лимфоидных клеток и их предшественников и соответственно относительное преобладание незрелых лимфоидных клеток и бластов; 3) относительный дефицит рециркулирующих Т-клеток (Spear, Edelman, 1974); 4) высокая активность Т-супрессоров (Morse et al., 1976, и др.); 5) функциональная неполноценность макрофагов; 6)

повышенная проницаемость, гематотимического барьера (Burlacu A., Jinga V. V., Gafencu A.V., Simionescu M., 2001).

Хотя способность к иммунному ответу возникает весьма рано, однако иммунореактивность лимфоидной ткани в течение иммуноадаптивного периода обладает рядом особенностей.

Здесь нужно отметить:

а) высокую чувствительность иммунного аппарата к антигенной перегрузке. Иммунный ответ на несовместимый по H-2-антигенам аллотрансплантат может быть получен только в случае использования малых доз клеток; большие дозы индуцируют толерантность (Michie, Howard, 1962, и др.);

б) более раннее созревание иммунологической компетенции к сильным трансплантационным и к тимуснезависимым антигенам. В некоторых случаях иммунный ответ может быть замаскирован более длительной персистенцией антигена у новорожденных животных.

Относительная ареактивность новорожденных животных и повышенная способность к возникновению толерантности могут быть устранены трансплантацией зрелых лимфоцитов либо путем введения экстракта тимуса (Sakaguchi, S., 2008; Carbone, J., 2016).

Изучение динамики развития толерантности принципиально важно, поскольку соответствующие данные имеют прямое отношение к вопросу о механизмах толерантности и их особенностях при различных формах ареактивности. Относящиеся сюда исследования можно разделить на 3 категории, сохраняя при этом в известной мере хронологическую последовательность их проведения: 1) изучение динамики развития толерантности *in vivo*; 2) изучение скорости развития толерантности *in vitro*; 3) определение времени, в течение которого толерантность индуцируется в популяциях иммунокомпетентных клеток разных типов (Medavar, P. B., 1953; Жаров, А. В., 2007; Борисенко, Е. А., 2008).

Методические исследования скорости возникновения толерантности *in vivo* проводились по одной из двух схем. Согласно первой схеме, у животных индуцировали толерантность и производили тест-инъекцию антигена в иммуногенной форме в различные сроки после индукции. Отличие второй схемы состояло в том, что после толерогенной обработки реактивность клеток различных органов (обычно селезенки) определяли в системе адоптивного - переноса. Большинство такого рода работ проведено на взрослых мышах с применением растворимых антигенов (сывороточные белки, пневмококковый полисахарид и некоторые другие) (Rebmann, V., Pfeiffer, K., Passler, M., Ferrone, S., Maier, S., Weiss, E., Grosse-Wilde, H., 2009; Mazzatenta, A., 2013).

Ramu, S. (2013) было установлено, что однократное введение мышам 100 мг бычьего сывороточного альбумина (с последующим переносом клеток облученному реципиенту, которому затем вводили тест-антиген) парализует лимфоциты крови уже через 2 ч, тогда как клетки селезенки становились частично нереактивными через 24 ч.

В аналогичных опытах других авторов в качестве антигена были применены дезагрегированные при помощи ультрацентрифугирования белки, вводимые однократно. Dresser (2002) установил, что после введения 50 мкг бычьего гамма-глобулина мышам для развития состояния толерантности, тестируемого *in situ*, требуется 3-4 дня. В опытах Das, Leskowitz (2000) значительное ослабление реакции на тест-антиген было отмечено уже через 4 ч после введения мышам бычьего гамма-глобулина (изучение в системе адоптивного переноса).

Точные количественные исследования динамики индукции толерантности к дезагрегированному гамма-глобулину человека у мышей были проведены Chiller, Weigle (2002). В различные сроки после введения 2,5 мг антигена клетки селезенки мышей переносили облученным реципиентам и после тест-инъекции (введение агрегированного гамма-глобулина) определяли число АТОК в селезенке реципиентов, выражая его в процентах к контролю (число антителопродуцентов при переносе клеток интактных

мышей с тест-антигеном). Оказалось, что в течение первых 3 ч после введения толерогена реактивность клеток существенно не меняется, а в последующие 3 ч способность к иммунному ответу снижается на 75%. Дальнейшее падение реактивности происходит медленнее – через 24 ч она снижается на 85%, а полная (100%) толерантность устанавливается через 5 сут.

Срок развития состояния толерантности, совпадающий с таковым для белковых антигенов, был зарегистрирован при параличе, вызванном введением высокой дозы пневмококкового полисахарида (Matangkasombut, Seastone, G.F. 2008). В течение 4-5 дней после введения антигена клетки селезенки мышей были способны сообщать состояние иммунитета при адаптивном переносе интактным животным.

Напротив, введение мышам детоксицированного эндотоксина *E. coli* в дозах, приводящих к развитию толерантности, вызывало определенное уменьшение способности к иммунному ответу клеток селезенки уже через 1 ч после инъекции (Britton, 2009), и падение реактивности достигало максимума через 72 ч.

Как показывают вышеизложенные данные, сроки развития толерантности в опытах разных авторов варьируют в довольно широких пределах. Можно полагать, что это зависит от большого числа факторов: природы антигена, схемы его применения и дозировки, метода тестирования иммунного ответа.

Howard, Mitchison (1995) пришли к выводу, что при использовании метода адаптивного переноса фиксируются более ранние сроки наступления толерантности, чем при тестировании *in situ*. Однако Weigle, Holub (1997) показали, что введение мышам дезагрегированного гамма-глобулина человека даже через 2 дня после иммунизирующей инъекции (тот же антиген в неполном адъюванте Фрейнда) вызывает состояние толерантности, тогда как в опытах с адаптивным переносом для ее развития требовалось 4 дня. Причины подобных расхождений неясны.

Метод тестирования иммунной реакции также может быть источником различий регистрируемых сроков наступления толерантности. Так, Dresser (1974) установлено, что по тесту связывания антигена сывороткой мышей, получивших дезагрегированный гамма-глобулин и в различные сроки после этого тест-инъекцию антигена, животные становятся толерантными быстрее, чем это определяется по скорости элиминации тест-антигена из кровотока. Автор полагает, что это может быть связано с участием антител разных классов в той и в другой реакции.

В целом большинство данных, полученных в опытах *in vivo*, позволяет считать, что состояние частичной толерантности может развиваться уже через несколько часов после введения антигена, однако для полного развития толерантности, за немногими исключениями, требуется период, исчисляемый несколькими (3-5 и более) сутками.

В одной из первых работ по индукции толерантности *in vitro* Britton (2003) установил, что инкубация клеток селезенки интактных мышей в присутствии высоких концентраций липополисахарида *E. coli* в течение 2 ч делает клетки полностью нереактивными к данному антигену при адоптивном переносе. Кратковременная инкубация (12 мин.) не оказывала подобного влияния.

Высокие дозы полимеризованного флагеллина в подобных условиях уже через 15 мин вызывали определенное торможение реакции на последующее воздействие антигена в иммуногенной концентрации (Diener, Armstrong, 2000). Максимальное подавление иммунного ответа (на 80—90%) происходило через 3 ч инкубации.

Racadot E. (2003) использовал в своих опытах не прилипающие клетки лимфатических узлов мышей, инкубируя их с бычьим гамма-глобулином, взятым в неиммуногенной форме. Оказалось, что для индукции толерантности требовалась по меньшей мере 6-часовая инкубация (6-18 ч). Несколько больший срок (16-24 ч) был необходим для получения толерантности при культивировании клеток селезенки мышей с врожденным отсутствием тимуса

с куриным гамма-глобулином (Schrader, 1975). В противоположность этому в опытах Sieckman и соавт. (1974), проведенных с клетками селезенки мышей, примированных гамма-глобулином индюка, реактивность клеток уменьшалась на 72% уже после часовой инкубации с антигеном *in vitro*; полное подавление реактивности происходило после 8-часового воздействия антигена.

Сроки развития толерантности к различным антигенам *in vitro* исследованы (Meyer, D. M., Dustin, M. L., Carron, C. P., 1995; Hayashi, M., 2002) в опытах, где был использован комплекс антиген-антитело. Инкубация клеток селезенки с флагеллином в присутствии специфических антител в течение 15 мин. была достаточной для снижения иммунного ответа на 40%, а через 4-6 ч реактивность оказывалась подавленной на 90%. Для эритроцитарного антигена и куриного гамма-глобулина этот срок удлинялся до 16 ч.

Используя ту же систему, (Miekisch, W., 2004; Gutierrez, G., 2005) нашли, что инкубация клеток селезенки мышей *in vitro* с растворимым эритроцитарным антигеном в присутствии оптимальной концентрации антител уже через 1 ч обуславливает значительную супрессию иммунного ответа клеток после их трансплантации облученным реципиентам вместе с антигеном.

Сопоставление сроков, необходимых для развития толерантности *in vivo* и *in vitro*, показывает, что в большинстве случаев *in vitro* эти сроки меньше. Вместе с тем различия выражены неодинаково для разных антигенов, что позволяет разделить их на 3 категории: 1) антигены, для которых эти сроки совпадают; 2) антигены, толерантность к которым *in vitro* развивается несколько быстрее, чем *in vivo*; 3) антигены, вызывающие полную толерантность *in vitro* значительно быстрее, чем *in vivo*. Такое деление в определенной степени условно, поскольку часто приходится сопоставлять данные, полученные в опытах *in vivo* и *in vitro* разными авторами в неодинаковых условиях. Тем не менее, учитывая отмеченные свойства антигенов вместе с другими их характеристиками, можно сделать некоторые

заклучения об особенностях механизмов индукции толерантности к этим антигенам.

После того как было установлено, что для осуществления иммунной реакции требуется кооперация клеток различных типов, возник вопрос о том, какие клетки поражаются при индукции толерантности. В данном случае следует ограничиться лишь рассмотрением вопроса о динамике развития толерантности в различных клеточных популяциях при введении мышам дезагрегированного гамма-глобулина человека, иммунная реакция на который требует взаимодействия Т- и В-клеток.

Исследования, результаты которых изложены в ряде публикаций (Huppertz, B., Frank, H. G., Kingdom, J. C., Reister, F., Kaufmann, P., 2005-2008), проводились по следующему плану. Мышам вводили дезагрегированный гамма-глобулин человека (обычно в дозе 2,5 мг) и через различные сроки исследовали кооперативную функцию клеток их тимуса, костного мозга, селезенки в сочетании с соответствующими клетками интактных животных (различные комбинации).

Полученные данные показали следующее. Клетки тимуса и костного мозга теряют способность к кооперации в разные сроки: тимус становится нереактивным менее чем через 1 день, тогда как костный мозг – лишь через 8-15 дней после индукции толерантности. В-клетки селезенки утрачивают реактивность значительно раньше (уже к исходу 2-4 сут.), чем костномозговые клетки. Подобные данные получены также Сароян М. Ю. (2014).

Отсюда очевидно, что ранняя потеря реактивности клеток селезенки в целом (на 75% через 6 ч. после введения антигена) обусловлена поражением Т-клеток. Динамика изменения реактивности отдельных клеточных популяций не изменялась при 10-кратном повышении дозы толерогена (25 мг на мышь). В контрольных опытах было установлено, что найденные различия не обусловлены преимущественным накоплением антигена в тех или иных органах (в частности, в костном мозге концентрация меченого гамма-глобулина была вдвое выше, чем в тимусе и селезенке). Поэтому можно

полагать, что обнаруженные особенности кинетики развития толерантности отражают истинную чувствительность различных клеток к толерогенному воздействию.

Прежде чем сделать некоторые общие заключения по материалу, изложенному выше, необходимо остановиться еще на одном факте, имеющем отношение к процессам, развивающимся в ранние сроки после индукции толерантности. Речь идет о фазе антителообразования, которая нередко предшествует установлению ареактивного состояния после введения антигена. Такие данные были получены при использовании разных антигенов: белков, ксеногенных эритроцитов, пневмококкового полисахарида, флагеллина (Hung, T. H., Skepper, J. N., Burton, G., 2001). Подобное явление наблюдалось при введении главным образом высоких доз антигена, хотя могло быть отмечено и при индукции низкодозной толерантности. Кроме того, установлено, что при многократных инъекциях антигена имеет место не только образование антител, но может происходить сенсibilизация клеток, сменяющаяся позже состоянием ареактивности (Miller, Y. I., Chang, M. K., Binder, C. J., Shaw, P. X., Witztum, J. L., 2003).

Оценка значения фазы продукции антител для развития толерантности требует ответа на два вопроса: является ли эта фаза неотъемлемым атрибутом процесса индукции толерантности и благоприятствует ли начальная продукция антител (в случае ее наличия) развитию толерантности?

Очевидно, что уже сам факт толерогенности антигенов, не обладающих иммуногенными свойствами (синтетические полипептиды, дезагрегированные белки, растворимый эритроцитарный антиген) показывает, что индукция толерантности не требует иммунной фазы. Экспериментальные доказательства этого положения были представлены Hickey D. K. (2011) в опытах на взрослых мышах, у которых вызывали толерантность дезагрегированным препаратом гамма-глобулина. Определяя содержание АТОК в лимфоидных органах в течение 20 дней после введения антигена (т. е. включая и тот период, когда ареактивными становились все типы

чувствительных клеток), авторы не смогли отметить; его увеличения ни в один из сроков исследования. Такой же результат был получен при индукции толерантности у новорожденных кроликов двукратным введением бычьего сывороточного альбумина и растворимого эритроцитарного антигена, вызывающего состояние частичной ареактивности у взрослых мышей (Hanlon-Lundberg, K. M., 2000). Иммунологический паралич, вызываемый пневмококковым полисахаридом, удается получить однократным введением крайне малых доз антигена, не вызывающих образования антител и продукции АТОК (Baker, 2005). В связи с высокой чувствительностью метода локального гемолиза в геле, использованного указанными авторами, эти результаты дают веское доказательство того, что индукция толерантности действительно может происходить вне зависимости от иммунной реакции. Это подтверждают и опыты *in vitro*, где развитие толерантности происходит часто чрезвычайно быстро и, кроме того, она может быть получена в условиях, исключающих возможность иммунной реакции (например, толерантность В-клеток в отсутствие Т-лимфоцитов и макрофагов).

Ответ на второй из поставленных вопросов не может быть столь однозначным. Инициальную иммунную реакцию можно рассматривать как сопутствующий индукции толерантности процесс в связи с гетерогенностью клеточной популяции и наличием в антигене разных компонентов (иммуногена и толерогена) (Gumbiner B. M., 2006; Hunt, J. S., 2007; Mor, G., 2010-2011). В этом случае антителообразование следует считать препятствующим развитию толерантности фактором. Это подтверждается многочисленными фактами о том, что различные воздействия, снижающие иммуногенность препаратов, а также подавляющие способность организма к иммунному ответу, могут способствовать развитию толерантности. Напротив, повышение иммуногенности антигена, а также применение некоторых агентов, стимулирующих иммунную реакцию организма, затрудняют или предотвращают индукцию толерантности. Об этом же свидетельствует факт

«антитолерогенного» действия антител, вводимых в раннюю фазу развития толерантности.

По-иному выглядит этот вопрос в свете концепции Makrydimas G. (1994), согласно которой продукция антител при толерантности рассматривается как отражение процессов терминальной истощающей дифференцировки.

Оценивать роль антител, продуцируемых в ходе развития толерантности, следует с большой осторожностью. Нельзя исключить того, что при некоторых формах толерантности продукция антител приводит к образованию комплексов антиген – антитело, которые могут быть значительно более толерогенными, нежели антиген сам по себе. В условиях *in vivo* подобный механизм описан при толерантности к тканевым антигенам.

В заключение данного раздела следует указать, что исследования динамики развития толерантности дали ряд опорных пунктов для анализа механизмов индукции ареактивности. Можно полагать, в частности, что установление состояния полной ареактивности к данному антигену через сравнительно долгий период указывает на участие супрессорных механизмов, требующих для своего полного развития определенного срока. И наоборот, короткий латентный период, не различающийся или мало различающийся *in vivo* и *in vitro*, свидетельствует в пользу механизмов прямой клональной инактивации.

Факт быстрого наступления ареактивности Т-клеток под влиянием антигена в толерогенной форме, по-видимому, объясняет те случаи, когда толерантность удается вызвать в начальной стадии иммунного ответа (Дорош, М. В., 2003; Jiang, S. P., Vacchio, M. S., 2008; Piccinni, M. P., 2010; Ефанова, Н. В. 2012). С другой стороны, сравнительно медленное развитие ареактивности В-клеток позволяет предупредить развитие толерантности применением некоторых неспецифических активаторов иммунной реакции в определенный период. Эти особенности кинетики индукции толерантности в практическом

аспекте дают предпосылки для активного вмешательства с целью направленного изменения иммунной реакции.

Наряду с факторами, способствующими развитию ареактивности, существует ряд условий, при которых индукция толерантности оказывается затрудненной. Эти условия могут быть связаны с иммунологическим статусом животных до индукции толерантности, а также создаваться в результате вмешательств, приуроченных к индуктивному периоду ее развития.

Исходный уровень иммунологической реактивности животных, зависящий от их возраста и генетических особенностей, как уже упоминалось выше, может влиять на возникновение толерантности ко многим антигенам. То же относится и к предшествующей иммунизации (сенсibilизации) соответствующим антигеном.

В одной из первых работ такого рода Kamron K. (2002) установил, что пневмококковый паралич можно получить у иммунных к полисахариду мышей, хотя для этого требуется в 4 раза большая доза антигена, чем для индукции паралича у неиммунных животных. Возникновение толерантности к пневмококковому полисахариду у предварительно- иммунизированных мышей установлено также Brooke, Kagnovsky (2001). Siskind (2003) указывает, что иммунизированные мыши оказались даже несколько более чувствительными к индукции паралича.

Возникновение толерантности к белковым антигенам у животных, уже имевших предварительный контакт с антигеном (иммуногеном), было исследовано многими авторами (Weigle, 2000). Большинству авторов удалось получить толерантность у сенсibilизированных животных, хотя степень и продолжительность подавления иммунологической реактивности далеко не всегда совпадали с соответствующими параметрами при индукции толерантности у интактных животных. Рядом авторов отмечена необходимость введения больших доз антигена или его многократное применение (Malassine, A., Fren dol, J. L., Evain-Brion, D., 2003; Pictruczuk, M., 2008). Чем более была выражена иммунная реакция в результате

предварительной иммунизации, тем большие количества антигена требовались для создания состояния ареактивности.

Наряду с этими данными имеются работы, где индукция толерантности у сенсibilизированных животных (или в опытах *in vitro* с иммунными клетками) не требовала особо интенсивной толерогенной обработки. Park M. I. (1990); Koch C. A. (2003) показали, что контакт клеток лимфатических узлов и селезенки мышей, иммунизированных бычьим сывороточным альбумином, с избытком этого антигена *in vitro* приводит к полному подавлению иммунного ответа, после того как клетки были трансплантированы облученным реципиентам. Столь же эффективной была индукция толерантности *in vitro* к гамма-глобулину индюка в популяции клеток селезенки мышей, получавших антиген за 30-100 дней до опыта (Sieckman et al., 2004). С другой стороны, Feldmann и соавт. (2001) установили, что для индукции толерантности Т-клеток предварительно иммунизированных мышей в культуру нужно добавить больше антигена (гамма-глобулин сыворотки птиц, гемоцианин, флагеллин-мономер), чем это требуется для клеток интактных мышей.

Толерантность может быть легко индуцирована у животных, сенсibilизированных некоторыми гаптенами. Mitchell и соавт. (2002) в опытах на мышах, получивших иммуногенный конъюгат с овальбумином, показали, что введение этим животным того же гаптена, конъюгированного с пневмококковым полисахаридом III типа, приводило к «десенсibilизации»: клетки селезенки мышей утрачивали способность продуцировать антитела в ответ на иммуногенный стимул, и это состояние сохранялось в течение 2 мес. и более.

Неудачной была попытка индуцировать толерантность к эритроцитам барана при помощи циклофосфамида у сенсibilизированных эритроцитами мышей (Parveen, Z., 2007; Kanai, T., Fujii, T., Kozuma, S., 2011). В этих опытах животные получили небольшую дозу эритроцитов барана, а через неделю им вводили: высокую дозу антигена и циклофосфамид. При доследующей тест-

инъекции эритроцитов оказалось, что толерантность у сенсibilизированных животных не развивалась: их реакция на антиген была такой же, как у интактных иммунизированных животных.

Иной результат был получен в опытах R. Gordon и соавт. (2001) на крысах, у которых толерантность вызывали введением эритроцитов человека и иммунодепрессанта – циклофосфамида или цитозин-арабинозида. Предварительная иммунизация крыс эритроцитами человека не препятствовала индукции толерантности, однако она возникала лишь после трехкратного курса инъекций эритроцитов в сочетании с иммунодепрессантами.

Рассматривая результаты исследований, проведенных различными авторами, можно сделать вывод о том, что предварительная иммунизация (сенсibilизация) в ряде случаев создает известные трудности при индукции толерантности. Это относится к большинству опытов, где в качестве антигенов применяли белки и ксеногенные эритроциты. Лишь для немногих антигенов (пневмококковый полисахарид, гаптены, конъюгированные с толерогенным носителем), данный фактор, по-видимому, не имеет значения. Вместе с тем предварительная иммунизация не является принципиальным препятствием для индукции толерантности, поскольку более интенсивная толерогенная обработка животных обычно приводит к возникновению ареактивности, хотя порой и не столь выраженной, как у интактных животных (Dresser, 1995; R. Gordon et al., 2001, и др.).

Эффект предшествующей иммунизации может быть связан с образованием циркулирующих антител, которые нейтрализуют антиген, вводимый при индукции толерантности. В результате для получения ареактивности требуется большая доза толерогена или его многократное введение. Это подтверждается результатами ряда авторов, показавших, что введение специфических антител в ранние сроки после инъекции толерогена, когда полная толерантность еще не возникла, предотвращала ее развитие. Такой результат был получен при воспроизведении толерантности к

дизентерийному антигену у мышей, а также в опытах по индукции толерантности к белкам у кроликов и мышей (Kapasi, K., Albert, S. E., 2000).

Основным фактором, который может затруднить индукцию толерантности у сенсibilизированных животных даже в отсутствие определяемого количества циркулирующих антител, является, по-видимому, повышенное содержание компетентных к данному антигену клеток (Фонталин, Л.Н., 1978; Волчегорский, И. А., 2000; Павлов, О. В., 2002), в связи с чем при обычной схеме индукции толерантности не происходит их инактивации. Не исключена возможность, что индукция толерантности в этих условиях включает механизм терминальной истощающей дифференцировки по Sterzl, что и требует более интенсивного применения антигена.

В начале мы уже останавливались на вопросе конкурентных отношений между толерогенными и иммуногенными свойствами антигенов и приводили данные о том, что присутствие в препаратах антигена компонентов, обладающих иммуногенным действием, препятствует развитию ареактивности. Подобный же эффект наблюдается при использовании некоторых неспецифических агентов, являющихся стимуляторами иммуногенеза.

Индуктивная фаза развития толерантности к белкам оказалась высокочувствительной к действию эндотоксина *E. coli* при его использовании в ранние сроки (до 3 сут.) после инъекции толерогена. Это явление впервые описано Claman (1983), который установил, что введение эндотоксина через 2 ч после инъекции толерогенного препарата бычьего гамма-глобулина предотвращает возникновение толерантности. Такие же данные были получены другими авторами (Golub, Weigle, 1997; Kawaguchi, 2000; Louis et al. 2003).

Анализ «антитолерогенного» действия эндотоксина, проведенный в серии работ Chiller, Weigle (1993), Louis и соавт. (2000), Chiller и соавт. (1994), показал, что эндотоксин предотвращает развитие толерантности В-клеток. Мыши, получившие толерогенную дозу дезагрегированного гамма-глобулина

человека и спустя 3 ч эндотоксин, реагировали на последующую тест-инъекцию антигена образованием большего числа АТОК, чем животные, получавшие ранее только эндотоксин или интактные. Вместе с тем клетки тимуса и Т-лимфоциты этих мышей были ареактивными. Полученные данные показывают, что в присутствии эндотоксина В-клетки не только не становятся толерантными, но происходит их сенсibilизация толерогеном. Кроме того, иммунная реакция на антиген протекает у них по Т-независимому типу. Введение эндотоксина в период существования толерантности обеих популяций клеток (Т и В.) не дает эффекта; лишь в более поздние сроки, когда В-клетки восстанавливают свою реактивность, применение эндотоксина вместе с антигеном вызывает иммунную реакцию (т.е. срыв толерантности), несмотря на то, что Т-клетки это время еще ареактивны.

Эндотоксин является мощным митогеном В-клеток (Coitinho; Moller, 1995) и, по-видимому, это свойство и определяет его способность препятствовать развитию толерантности в популяции В-клеток. Chiller и соавт. (1994), Skidmore и соавт. (1995) обнаружили, что у мышей, клетки селезенки которых не отвечают митогенной реакцией на эндотоксин, в противоположность мышам другой линии, предотвратить толерантность к гамма-глобулину человека введением эндотоксина не удастся. У мышей двух других линий развития толерантности в тех же условиях (т.е. при применении эндотоксина) не происходило. Кроме того, было показано, что другие типы митогенов В-клеток также обладают «антитолерогенным» действием.

Свойством препятствовать возникновению толерантности у мышей к белкам обладают синтетические полинуклеотиды, в частности кополимер полиадениловой и полиуридиловой кислот (Caranna, Kong, 1999; Rey, Azar, 2000).

В противоположность эндотоксину полинуклеотид давал эффект лишь при применении в ближайшие сроки после введения антигена (4-12 ч), и авторы полагают, что здесь речь идет о предотвращении толерантности в популяции Т-клеток.

Большой интерес представляют результаты, свидетельствующие о том, что некоторые иммунодепрессанты могут в определенных условиях препятствовать индукции толерантности. Подобным эффектом обладает актиномицин D, который обнаруживает иммунодепрессивные свойства при исследовании в различных системах (Утешев Б.С., Бабичев В.А., 2001). Claman, Bronsky (2005) установили, что его введение взрослым мышам за 24-48 ч до инъекции дезагрегированного бычьего гамма-глобулина препятствовало развитию толерантности, и на последующую инъекцию антигена (иммуногена) животные отвечали образованием антител.

Описаны факты конкурентного влияния различных иммунодепрессантов при индукции иммунологической толерантности. Dukor, Dietrich (1970) индуцировали толерантность к эритроцитам барана у мышей при помощи циклофосфамида и установили, что введение кортизона в относительно высокой (иммунодепрессивной) дозе за 24 ч до индукции толерантности ухудшало ее развитие. Авторы предположили, что такой эффект кортизона обусловлен его повреждающим действием на фагоцитирующие клетки. В результате этого не происходит накопления в организме достаточного количества продуктов разрушения эритроцитов (толерогена). Более вероятно, однако, что в результате нарушения функции макрофагов под влиянием кортизона (Makinodan et al., 1970) последующее введение антигена не приводит к достаточно полному вовлечению иммунокомпетентных клеток (Т- и В-лимфоцитов) в иммунный процесс, и остающиеся невовлеченными (непролиферирующие) клетки оказываются менее чувствительными к действию вводимого затем циклофосфамида. Наряду с этим можно думать о конкурентных отношениях между кортизоном и циклофосфамидом на уровне их взаимодействия с ферментными системами. Karasi K., Albert S. E., (2000) показали, что катаболизм введенного мышам кортизона, приводящий к его инактивации, и расщепление циклофосфамида, которое, напротив, ведет к образованию его активных метаболитов, осуществляются одними и теми же ферментными системами (НАДФ) клеток

печени. Поэтому вводимый предварительно кортизон тормозит процесс активации циклофосамида.

Введение кортизона оказывает также ингибирующий эффект на развитие толерантности к сывороточному альбумину человека у кроликов. В опытах отдельных исследователей (Pimentel-Muinos, F. X., Seed, B., 2001; Pittman, Q., 2008) после облучения кроликов в дозе 550 p (0,14 Кл/кг) введение соответствующих доз альбумина вызывало у животных состояние ареактивности к белку. Одновременное с облучением применение кортизона снижало число толерантных животных и уменьшало продолжительность толерантности. Авторы предполагают, что эффект кортизона связан с инактивацией предшественников клеток-супрессоров, которые могут играть роль при данной форме толерантности.

Определенный интерес представляют данные о влиянии агентов, снижающих уровень комплемента в крови, на индукцию толерантности. Выше уже были приведены данные, показывающие зависимость возникновения толерантности от исходного уровня комплемента у мышей (Makhseed, M., Raghupathy, R., Azizieh, F., Omu, A., 2001) препятствуют индукции толерантности к гамма-глобулину человека, если эти агенты вводить за сутки до инъекции антигена или через 8-24 ч после нее.

Как указано выше, участие комплемента в процессах, ведущих к развитию толерантности на клеточном уровне, сомнительно, и антитолерогенное действие примененных веществ может быть связано с иными их свойствами. В частности, В. Cohen, I. Cohen (2003) установили, что витамин А обладает адъювантным действием и значительно повышает иммунный ответ мышей на эритроциты барана. Авторы полагают, что этот эффект обусловлен уменьшением стабильности лизосомных мембран макрофагов, что может изменить деградацию и обработку антигена. Подтверждение этого они видят в том факте, что витамин А снимает иммунодепрессию, вызванную кортикостероидами, которые стабилизируют лизосомные мембраны. Не исключено поэтому, что витамин А в силу

подобных особенностей своего действия способствует проявлению иммуногенных свойств дезагрегированных белков.

Особого внимания заслуживают данные Matsubara K. (2002), Kinnunen, A. K. (2003), показавших, что кортикостероиды в концентрациях, близких к физиологическим, могут существенно менять порог чувствительности клеток к антигену, что определяет конечный результат антигенной стимуляции – развитие толерантности или иммунной реакции. Клетки селезенки мышей, получивших кортизон, дают оптимальную иммунную реакцию на полимеризованный флагеллин *in vitro* при воздействии значительно меньших (в 200 раз) доз антигена, чем клетки интактных мышей. Добавление кортизона в культуру клеток *in vitro* приводит к тому, что иммуногенные в обычных условиях дозы антигена вызывают толерантность. Наоборот, присутствие в культуре малых количеств преднизалона, соответствующих приблизительно концентрации глюкокортикоидов в крови, полностью предотвращает развитие толерантности при воздействии толерогенной дозы флагеллина, которая в этом случае оказывается иммуногенной.

Вероятно, начальный этап развития иммунологической толерантности представляет собой тонко сбалансированный процесс, и различные агенты и воздействия могут превратить толерогенный стимул в иммуногенный. Можно предположить, что такой эффект осуществляется не только в результате прямого воздействия на иммунокомпетентные клетки, но и опосредованно, при участии иных (в частности, гормональных) регуляторных механизмов.

Установление иммунологической толерантности – состояния, характеризующегося ареактивностью взрослых животных на антигены, которые были введены в эмбриональном периоде или в первые сутки после рождения, является важным открытием в биологии. Основы концепции об иммунологической толерантности показали, что при введение белым мышам возбудителей лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ) может сопровождаться пожизненным, бессимптомным вирусносительством без образования специфических антител (Smith, J. T., Elkin, J. T., Reichert, W. M.,

2006; Джобава, Э. М., 2013). Такая форма реакции организма развивалась только в тех случаях, когда животных заражали внутриутробно или в первые часы после рождения. Инфицирование взрослых животных вызывало тяжелое заболевание, которое обычно заканчивалось смертью. В случае выздоровления формировался стойкий иммунный ответ.

В настоящее время имеется много работ (Lauritsen, J.G., 1976; Каиров, Г. Т., 1999; Исмагилова, А. Ф., 2001; Блощинская, И. А., 2003; Zenclussen, A.C., 2006; Leber, A., 2011), посвященных характеристике иммунологической толерантности и воспроизведению этого феномена у различных животных. Удалось получить стойкое (такое, как и при аутотрансплантации) приживление у мыши одной инбредной линии гомотрансплантата кожи, взятого от животного другой линии (Weber, C., Erl, W., Weber, P. C., 2005; Черешнев, В. А., 2006). При этом мышам-реципиенту в эмбриональном периоде вводили живые клетки мыши-донора.

Характерным примером индукции иммунологической толерантности в эксперименте может служить введение бараньих эритроцитов новорожденным крысам. Rowley et al. 1987, детально изучавшие этот тип ареактивности, считают, что наиболее важным фактором, ответственным за утрату организмом животного способности к образованию антиэритроцитарных антител, является ингибирующее действие отдельных классов иммуноглобулинов и «тупиковый» характер плазматических клеток, основных продуцентов антител (Milasinovic, L., 2002; Michaelsson, J., Mold, J. E., McCune, J. M., Nixon, D. F., 2006;).

Состояние иммунологической толерантности свойственно не только эмбриону, но и взрослому организму. Ряд ученых (Зудова, Т. А., 1999; Галактионов, В. Г., 2000) полагают, что явление иммунологической толерантности идентично явлению, так называемого, иммунологического паралича, что согласуется с данными (Ефанова, Л. И., 2004; Глуховец, Б. И., 2007; Chernyshov, V.P., 2014) в отношении иммунологической толерантности, которую они разделяют на два типа: 1 - толерантность новорожденных к

эмбриональным антигенам и 2 - иммунологический паралич, развивающийся в результате значительных и повторных поступлений белковых или полисахаридных антигенов. А иммунологическая толерантность – это такое состояние организма, при котором он не может ответить иммунной реакцией на антигены, встречающиеся в период, когда его иммунокомпетентная система находится в незрелом состоянии, то есть в эмбриональном периоде развития. В процессе онтогенеза иммунокомпетентная система получает информацию о собственных антигенах, что позволяет организму в постэмбриональном периоде отличать свои антигенные компоненты от чужих, попадающих в организм извне.

Существует также предположение отдельных исследователей (Сухих, Г. Т., 2003; Distler, J. H., Hirth, A., 2003; Abrahams, V. M., Straszewski-Chavez, S. L., Guller, S., Mor, G., 2004), что все формы толерантности или ареактивности в основном сходны между собой и являются результатом перегрузки иммунокомпетентных клеток антигенами вследствие несоответствия между функциональной активностью иммунокомпетентных клеток и количеством введенного антигена. Так, в период эмбрионального развития организма, когда его иммунная система несовершенна, небольшие дозы антигена для него высоки и создается ареактивность в отношении этих антигенов. Малые и большие дозы антигена обычно вызывают толерантность, средние – иммунный ответ, который развивается только под влиянием бимолекулярного комплекса (антиген-антитело), стимулирующего пролиферацию и цитотоксическую активность лимфоцитов (Borzychowski, A. M., Redman, C. W., 2006; Стрижаков, А. Н., 2013). Введение антигена в малых дозах и комплекса антиген-антитело, требующего больших доз антигена, вызывает толерантность. Это объясняется тем, что незрелые клетки иммунной системы погибают при контакте с антигеном в отличие от зрелых, которые реагируют усиленной пролиферацией и продукцией специфических иммуноглобулинов.

В настоящее время постулируется, что иммунологическая толерантность связана с полной или частичной элиминацией линий клеток,

несущих структуры, способные реагировать с соответствующими антигенными детерминантами. Толерантность может развиваться на фоне иммунологической депрессии, если антиген вводится тогда, когда иммунокомпетентные клетки повреждаются, или их активность угнетается облучением, цитостатическими препаратами (алкилирующие соединения, антиметаболиты), вследствие чего происходит физиологическая элиминация этих клеток (Robertson, S.A., 2009; Talayev, V.Yu., 2010; Tang, A.W., 2011).

Точный механизм толерантности еще полностью не изучен. Возможно, причина этого явления – слабая активность макрофагов у эмбрионов и новорожденных животных (Фризе, К., 2003; Григорьев, В. В., 2004; Хаитов, Р. М., 2003). Гипотеза о существовании специальных клеток «супрессоров» для специфического блокирования синтеза антител, участвующих в толерантности, недавно опровергнута опытами (Caruso, A., 2007; Co, E. C., 2013). Согласно гипотезе Грабара субстанциями, задерживающими образование аутоантител в нормальных условиях, служат «толерогены», то есть частично деградированные антигены, которые способны реагировать с существующими на поверхности иммунокомпетентных клеток рецепторами. В нормальных условиях рецепторы для «своих» антигенов заняты деградационными продуктами нормального катаболизма, в то время как рецепторы для чужеродных антигенов остаются свободными и, таким образом, могут играть роль в индукции синтеза соответствующих антител. Отдельными авторами (Besser, T. E., 1990; Aluhivare, V. R., 2004; Murphy, S. P., Tayade, C., Ashkar, A. A., Hatta, K., Zhang, J., Croy, B. A., 2009) высказано предположение о том, что данное объяснение не противоречит механизму, предложенному на основе как инструктивных теорий, так и на основе селекционно-клональной теории иммунитета.

Исходя из инструктивных теорий иммуногенеза можно предположить, что антиген оказывает депрессивное влияние на лимфоидные клетки, предотвращая их пролиферацию и дифференцировку. Согласно селекционно-клональной концепции персистирующий в тканях антиген стимулирует

пролиферацию, но вызывает гибель ряда генераций специфических клонов лимфоидных клеток в момент их гиперчувствительности к данному антигену. Это приводит к истощению специфических клонов, чем и обуславливается состояние толерантности.

В последние годы были предложены довольно сложные гипотезы о механизмах толерантности и образования антител (Steinborn, A., 2001; Frater-Schroder, M., Risau, W., Hallmann, R., Gautschi, P., Bohlen, P., 2007; Момот, А.П., 201). Авторы полагают, что для формирования антител необходимо участие двух специфических клеток, в то время как одиночная клетка будет парализована, если окажется в контакте с антигеном. Принимая во внимание предложенный этими авторами механизм толерантности, можно допустить, что если молекула антигена имеет по меньшей мере две детерминантные группировки, то она может реагировать с двумя видами клеток; если при энзиматической деградации остались молекулы только с одной группой, то они блокируют рецепторы на клетках и могут вызывать толерантность. Подобный механизм может функционировать в случае определения организмом чужеродности антигена (ertolino, P., Deckers, M., Lebrin, F., Chest, P. D., 2005; Борисенко, Е. А., 2008; Bartel, G., 2011) и встречается в практике вакцинации животных в период беременности и период раннего постнатального онтогенеза.

Таким образом, индукция состояния иммунологической толерантности может быть полезна или вредна для организма в зависимости от конкретных условий. Естественная толерантность к собственным антигенам – явление физиологическое, способствующее обеспечению гомеостаза. При дальнейшем экспериментальном обосновании явление толерантности может оказаться полезным также при трансплантационном иммунитете. Что касается толерантности, возникающей в ответ на антигенную стимуляцию животных в раннем возрасте, то это явление для организма нежелательно. Следовательно, феномен иммунологической толерантности имеет важное значение для теории и практики, поскольку он должен учитываться при анализе результатов

профилактической иммунизации новорожденных животных. Дальнейшее изучение этой проблемы позволит сократить потери молодняка в предродовый и постнатальный периоды развития.

1.3 Адаптивный потенциал новорожденных животных и его влияние на жизнеспособность в ранний постнатальный период развития

Интенсификация животноводства обуславливает необходимость ускорения процесса совершенствования структуры стада животных, которое возможно только на основе объективной оценки продуктивных и племенных качеств, а также качеств, характеризующих их устойчивость по отношению к действию неблагоприятных факторов (Тютюнник, В. Л., 2003; Cherif, A., 2008; Сидорова, И. С., 2010).

Концепция местной устойчивости к вирусным и бактериальным инфекциям предполагает, что в процессе эволюции возник и закрепился естественным отбором сложный комплекс защитных приспособлений – адаптивный потенциал. Часть из них составляет анатомо-физиологические особенности тех или иных органов и систем. Важным аспектом устойчивости к вирусным и бактериальным инфекциям является факт поверхностного взаимодействия инфекта с поверхностями живых существ, сообщающихся со средой непосредственного обитания (Володин, Н. Н., 2001; Кузнецов, Н. И., 2004; Резников, А. Г., 2008).

Сюда могут быть отнесены: орган зрения, особенности строения носа, представляющего совершенный воздушный фильтр, барьерная функция клеток слизистых оболочек и роговицы, двигательная активность реснитчатого эпителия дыхательного тракта, слизь, синтезируемая бокаловидными клетками и железами пищеварительного тракта, действие ферментов, перистальтики (Check, J. H., 2010; Дроздова, Л. И., 2010; Ernerudh, J., 2011; Баймишев, Х. Б., 2013). Эта группа приспособлений носит неспецифический характер.

Более полувека тому назад были опубликованы первые сообщения о вируснейтрализующей и антибактериальной активности секретов кожи и слизистых оболочек. В последующие двадцать лет этот факт не привлек внимания исследователей. Представление об особом значении механизмов, защищающих входные ворота организма от возбудителей вирусных

инфекций, получило развитие лишь во второй половине 30-х годов. Однако истинная природа этих механизмов оставалась неизвестной.

Представление о секреторном противовирусном иммунитете впервые начало складываться под влиянием работ (Ройт, А., 2000; Ferrara, N., 2001; Red-Horse, K., 2004; Sargent, I. L, 2006; Fest, S., 2007; Баймишев, Х. Б., 2013; Шахов, А.Г., Алёхин, Ю.Н. и др., 2013). Они отметили действенность введения противогриппозных специфических антител непосредственно в дыхательные пути, а затем провели изучение лечебного и профилактического эффекта интраназального введения гипериммунной сыворотки.

С 40-х годов текущего столетия А. А. Смородинцев в нашей стране, Francis, Fazekas de Groth за рубежом приступили к изучению активного секреторного иммунитета. Толчком к этому послужили затруднения, возникающие при попытках объяснить устойчивость к гриппу лишь наличием циркулирующих антител. Было доказано, что накопление секреторных антител представляет одно из проявлений реакции организма на инфицирование вирусом, вируснейтрализующая активность секрета не может быть объяснена присутствием в этом материале лизоцима (Ефанова, Л. И., 2004; Глуховец, Б. И., 2007).

Ряд исследователей (Зудова, Т. А., 1999; Галактионов, В. Г., 2000) доказали возможность искусственной стимуляции формирования секреторного иммунитета введением аттенуированного вируса непосредственно на слизистую оболочку верхних дыхательных путей. Была установлена также относительная автономность секреторного иммунитета. Однако для более глубокого понимания закономерностей и механизмов местного иммунитета необходимы были систематические исследования в условиях эксперимента.

Учеными выявлено определяющее значение секреторных антител в устойчивости животных к экспериментальной гриппозной инфекции (Ушаков, И. Б., 2004; Фёдоров, Ю. Н., 2005; Колгушкина, Т. Н., 2006). Только эти антитела оказались способными контролировать интенсивность репродукции

вируса в легочной ткани, а, следовательно, и интенсивность его выделения из организма. В то же время антитела сыворотки крови обеспечивали лишь нейтрализацию токсических проявлений экспериментальной инфекции (Matthiesen, L., 2012). Удалось изучить и некоторые иммунобиологические свойства секреторных антител (Талаев, В. Ю., 2003; Тихонов, В. Н., 2005).

Побудительными причинами к становлению современного этапа учения о специфическом местном иммунитете явилось, углубление знаний о природе антител и клеточных механизмах их образования.

Все изученные факты указывали на существование в организме особой системы местного специфического иммунитета (Milasinovic, L., 2002; Moldenhauer, L. M., 2010). Помимо изучения секреторного противогриппозного иммунитета, была подвергнута анализу невосприимчивость к другим респираторным инфекциям. Несколько позднее опубликованы результаты исследований (Стрижаков, А. Н., 2013, 2015), посвященных местному иммунитету при полиомиелите и некоторых энтеровирусных инфекциях.

В 70-х годах выяснилось, что местная специфическая устойчивость к вирусным инфекциям связана не только с антителами. Появились данные, свидетельствующие о возможности избирательной сенсibilизации вирусными антигенами Т-клеток (Waldman, Henney, 1971).

Примерно та же хронологическая последовательность характеризует накопление информации о местном антибактериальном иммунитете. Исследования в этой области начались с работ Lauritsen J.G. (1976), обнаружившего в фекалиях больных дизентерией антитела еще до их появления в сыворотке крови. Данный факт, в дальнейшем многократно подтвержденный, свидетельствовал о возможности местного синтеза специфических антител. Поскольку они по своим физико-химическим свойствам и точно установленному источнику образования в течение почти 30 лет (вплоть до конца 50-х годов) не могли быть отграничены от сывороточных, то антибактериальная иммунологическая активность пищеварительных и ряда

других внешних секретов трактовалась как частный случай общего иммунитета.

Опровержению этой точки зрения способствовали классические исследования Vignows и соавт. (2007). Они показали, что пероральная иммунизация ведет к образованию копроантител, с которыми связана резистентность к данным возбудителям. Одновременно были получены доказательства независимости синтеза местных и сывороточных антител.

Коренной сдвиг в представлениях о местном антибактериальном иммунитете произошел лишь после выяснения иммунохимической природы секреторных антител и констатации их существенных отличий по механизму синтеза и физико-химическим свойствам от сывороточных. На этой основе были подвергнуты анализу местнообразующиеся антитела к ряду энтеропатогенных агентов (шигеллы, салмонеллы, холерные вибрионы, эшерихии), возбудителям патологических состояний в полости рта (*Str. mutans*), пневмококкам, гонококкам (Исаева, А. Г., 2004; Салов, И. А., Глухова, Т. Н., Чеснокова, Н. П., 2006). Оказалось, что большая часть этих антибактериальных антител принадлежит к секреторному IgA.

В период эмбриогенеза формируются зачатки центральных образований клеточного и гуморального иммунного генеза. Периферическая лимфоидная ткань – орган специфического и неспецифического иммунитета и обильно представлена в стенках дыхательного и пищеварительного трактов, в придаточном аппарате глаз и в мочеполовых путях (Исмаилова, А. Ф., 2001; Блощинская, И. А., 2003; Zenclussen, A.C., 2006; Leber, A., 2011).

Деятельность всех иммунозависимых клеток находится в тесном взаимодействии. Важную роль в реализации различных форм этого взаимодействия имеют биологически активные вещества – медиаторы иммуногенеза. В настоящее время наиболее хорошо изучены из них лимфокины, или медиаторы, синтезируемые Т-клетками, в том числе фактор, ингибирующий миграцию макрофагов, фактор, усиливающий хемотаксис, лимфотоксический фактор и т.д.

Сложнее решить вопрос об участии в иммуногенезе лимфоидной ткани пейеровых бляшек. Анализ, проведенный Veldkamp и соавт. (2004), показал, что у мышей 66% клеток пейеровых бляшек относится к В-лимфоцитам и 19% к Т-лимфоцитам. В опытах на грызунах Bienenstock и Dolesel (2001) ни при пероральной, ни при парентеральной иммунизации не выявили антителопродуцирующих клеток в ткани пейеровых бляшек, тогда как в слизистой кишечника и лимфатических узлах такие клетки определялись регулярно.

Для понимания отмеченных различий следует вспомнить, что, по мнению ряда исследователей, пейеровы бляшки относятся к центральным лимфоидным органам, для которых характерна иммунологическая незрелость содержащихся в них лимфоидных клеток. Возможно, иммунологическая неполноценность пейеровых бляшек объясняется отсутствием в них клеток-помощников, необходимых для подготовки антигена. В культуре клеток пейеровых бляшек мыши удалось воспроизвести синтез антител к эритроцитам барана лишь в том случае, когда в эту систему были внесены перитонеальные макрофаги (Weber, C., Erl, W., Weber, P. C., 2005).

Помимо дыхательной и пищеварительной систем, местная продукция антител выявлена и в других тканях организма (глаза, среднее ухо, грудная железа, влагалище) (Черешнев, В. А., 2006; Aw, D., 2010; Wu, L., 2011).

При изучении специфического местного иммунитета привлекает внимание его относительная автономность от общего специфического индуцированного иммунитета. В этой связи важное значение имеет вопрос о происхождении клеток, синтезирующих секреторные антитела.

Селективную миграцию лимфоцитов в тонкий кишечник мышей выявили в своих опытах Parrott и Ferguson (1974). Такая миграция присуща прежде всего клеткам, ориентированным на синтез IgA.

Впервые детальное изучение динамики секреторных антител и накопления предикторов специфического иммунного ответа провели (Филиппов, О. С., 2009; Yagel, S., 2009; Щербаков, В. И.; 2012). Выяснилось,

что интенсивность развития плазмоцитарной реакции в первую очередь зависит от условий, в которых находились животные. Плазмоцитов было очень мало, если животных содержали в стерильных боксах. Число иммунокомпетентных клеток быстро возрастало, когда животных переносили в обычную среду. Это определялось действием антигенов, содержащихся в воде и пище. Интенсивное накопление антителопродуцирующих клеток в стенках кишечника вызывала также энтеральная иммунизация.

У мышей, иммунизированных внутривенным введением эритроцитов барана, выработка антител происходила в селезенке, но не в кишечнике. Напротив, в случае пероральной иммунизации уже с третьего дня в стенках кишок документировать увеличение числа клеток, синтезирующих гемолизины (Werner C.W., 2002). Аналогичные результаты получили (Redman, C. W., Sacks, G. P., Sargent, I. L., 2003) в опытах на крысах, у которых внутрикишечная иммунизация вызывала преимущественное накопление клеток, синтезирующих антитела класса IgA, в стенке кишки, брыжеечных лимфатических узлах и селезенке.

Влияние дозы антигена на ответную реакцию показано опытами (Бузлама, В. С., 2007; Ушакова, Г. А., 2008). При внутриминдаликовой иммунизации собак малыми дозами эритроцитов барана формирование антител ограничивалось этим участком лимфоидной ткани. С увеличением дозы антигена в процесс иммуногенеза вовлекалась селезенка. Thomas и соавт. (2007) при внутритрахеальной иммунизации мышей бараньими эритроцитами также наблюдали формирование активных клеток лишь в легочной ткани.

Ответная реакция на антиген, развивающаяся после подкожной или внутривенной иммунизации в регионарных месту его введения лимфатических узлах или селезенке, характеризуется несколькими фазами накопления клеток-продуцентов антител. Первая из них (скрытая, или индуктивная, фаза) продолжается от 10-15 ч до 1-2 сут. В этот период не удается выявить антителопродуцирующие клетки. В логарифмический

период, занимающий 4-5 дней, количество активных клеток быстро возрастает. После непродолжительной стационарной фазы их число начинает снижаться. Иногда небольшое количество активных клеток сохраняется в течение нескольких месяцев. Известны также случаи, когда формирование продуцентов имеет волнообразный характер, что объясняется регулирующим воздействием циркулирующих антител на развитие этих клеток. Повторное введение многих антигенов – чужеродных сывороточных белков, бактериальных анатоксинов, вирусов и т.д. вызывает вторичную реакцию антителообразования. Она характеризуется ранним и активным накоплением клеток-продуцентов. Напротив, частые повторные антигенные раздражения сопровождаются, особенно у мелких животных (мышей, крыс), угнетением способности к иммунному ответу, документируемому не только снижением уровня антител, но и подавлением процесса антителопродуцирующих клеток (Arcuri, F., 2001; Aggarwal, B. B., 2003; Левкович, М. А., 2003; Кулаков, В. И., 2004; Abrahams, V. M., Kim, Y. M., Straszewski, S. L., Romero, R., Mof G., 2004; Васильев, Ю. Г., 2007; Barnea, E. R., 2007-2010).

Приведенные материалы показывают, что многочисленные широко распространенные инфекции, коренным образом отличающиеся между собой природой возбудителя, механизмами патогенеза и клиническими проявлениями, объединяет одна общая особенность, заключающаяся в том, что взаимодействие вирусов и бактерий этиологических агентов с организмом во всех случаях начинается на слизистых оболочках, т. е. поверхностях, сообщающихся с внешней средой. В этой связи принципиальное значение имеет изучение иммунологических событий, которые развиваются непосредственно в месте внедрения возбудителя и представляют собой первый этап ответной реакции организма, направленной на сохранение его структурной и функциональной целостности (Сотникова, Н. Ю., 2001-2005; Сорокина, С. Э., 2015; Wang, J., 2017; Криштофорова, Б. В., 2018).

С позиций современной теоретической иммунологии наличие таких данных позволяет наиболее полно познать судьбу антигена в организме,

изучить механизмы формирования материальной основы специфического клеточного и гуморального иммунитета и развития различных неспецифических защитных реакций, причины различий в структуре некоторых иммуноглобулинов (Петров, О. И., 2007; Smith S. C., 2007; Палиева, Н. В., 2016). Эти данные имеют и непосредственное практическое значение. Без понимания роли местного иммунитета нельзя понять особенностей патогенеза и клиники заболеваний, возбудители которых передаются через воду, пищу или воздух. Проведение исследований в установленном направлении помогают понять причины развития и угасания эпидемий многих заразных заболеваний. Исследование, помимо сывороток крови, внешних секретов значительно расширяет возможности лабораторного подтверждения диагноза инфекционного заболевания.

Таким образом, составляя по своему происхождению и функциям неразрывную и соподчиненную часть общего иммунитета, адаптивный потенциал представляет в то же время достаточно хорошо очерченную и в определенных пределах автономную систему. Подобно общему местный иммунитет имеет сложную комплексную природу и включает специфические и неспецифические, клеточные и гуморальные (секреторные) факторы.

Глубокое познание процессов адаптивного потенциала невозможно без исторического подхода к его изучению. Поэтому одна первостепенных задач дальнейшего развития учения о местном иммунитете состоит в исследовании его фило- и онтогенеза. Необходимо выяснить, на каких этапах эволюции возникают и как совершенствуются в дальнейшем различные механизмы специфической и неспецифической местной устойчивости, как происходит становление тех же механизмов в процессе индивидуального развития плода и новорожденного. Получение таких данных имеет выдающееся научное и практическое значение (Пол У., 1987; Dejana, E., 2001; Павлов, О. В., 2004). На их основе можно будет лучше понять причины возрастных различий патогенеза и клиники ряда распространенных инфекций, возбудители которых проникают в организм через дыхательные и пищеварительные пути, и более

целенаправленно проводить профилактические и лечебные мероприятия при этих заболеваниях (Дроздова, Л. И., 2010; Coulam, С. В., 2012).

В свете достижений современной иммунологии эта задача особенно актуальна. В настоящее время не вызывает сомнений определяющее значение клеточного иммунитета в поддержании структурной и функциональной целостности организма.

Основная (но не единственная) точка приложения этой формы иммунитета – клетки с измененными генетическими качествами. Поскольку вирусы и многие бактерии изменяют структуру антигенных рецепторов клеток, то Т-лимфоциты способны воздействовать и на инфицированные клетки. Резкое увеличение числа пренатально значимых заболеваний, однозначно указывают на важное значение специфического клеточного иммунитета в защите новорожденного организма от ряда инфекций (Сергиенко, В. И., 2001; Сельков, С. А., 2000; Ozenci, С. С., Korgun, Е. Т., Demir, R., 2001; Khong, T. Y., 2007; Shojaeian, J., 2007; Nielsen, H. S., 2010).

В результате многочисленных исследований (Серова, О. Ф., 2007; Сидоркин, В. А., 2007; Guerin, L. R., 2009; Khonina, N. A., 2013) было установлено, что клеточная устойчивость к этим инфекциям сопровождается специфической сенсibilизацией лимфоцитов к возбудителям соответствующих заболеваний. При взаимодействии с возбудителями и зараженными ими клетками сенсibilизированные лимфоциты реализуют широкую гамму биологически активных веществ, регулирующих функциональную активность других лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов (макрофагов), а также воздействующих непосредственно на инфицированные клетки.

Не вызывает сомнений определяющее значение таких специфически сенсibilизированных лимфоцитов местной устойчивости. Хорошо обосновано также участие хелперной и супрессорной субпопуляций Т-лимфоцитов в регуляции аутоиммунитета к вирусам. В то же время проблема местного клеточного иммунитета при ряде широко распространенных

инфекций изучена еще недостаточно. Первоочередное значение здесь имеет вопрос о доле участия механизмов клеточного иммунитета в устойчивости организма (Folkman, J., Shing, Y., 2002; Gluckman, P. D., 2004; Koch, C. A., 2007; Рецкий, М. И., 2010; Erlebacher, A., 2013). Не ясно, например, при каких условиях клеточный иммунитет повышает устойчивость организма, а при каких оказывает неблагоприятное воздействие; всегда ли разрушение клеток эпителия, зараженных вирусом, лимфотоксином, благоприятно для организма или иногда приводит к генерализации инфекции и т.п.

Выяснение этих вопросов не только углубит знания о механизмах иммунитета органов, сообщающихся с внешней средой, но и позволит получить новые критерии для оценки профилактических препаратов, выбора доз и методов их введения, т.е. позволит более рационально и эффективно предупреждать, и лечить заболевания инфекционной природы и аллергические состояния (Ройт, А., 2000; Ferrara, N., 2001; Red-Horse, K., 2004; Sargent, I. L, 2006; Fest, S., 2007; Жаров, А. В., 2007; Chen, Q., 2016)

Конечная цель исследования любого проявления жизнедеятельности состоит в создании методов его направленной регуляции (Терехов В.И., 2001; Gabbiani, G., 2003; Chaichian, S., 2007; Gao, L., 2014). Это в полной мере относится и к местному иммунитету. Поэтому поиски методов направленной регуляции различных проявлений адаптивного потенциала представляют собой еще одну первоочередную задачу. Дальнейшее развитие исследований в этом направлении существенно поможет улучшению методов профилактики, диагностики и лечения многих заболеваний.

Однако эти успехи могли бы быть значительно выше, если бы наряду с повышением продуктивности совершенствовались устойчивость животных к заболеваниям и приспособляемость к условиям внешней среды. Необходимо учитывать такие важные признаки, как мертворождаемость, жизнеспособность новорожденных животных, заболеваемость и продолжительность продуктивного долголетия.

Важным аспектом работы по оценке устойчивости животных к заболеваниям и внедрения (использования) полученных результатов является наличие автоматизированных систем сбора, хранения и обработки информации. Ряд ученых (Witztum, J. L., 2003; Жучаев, К. В., 2005; Hickey, D. K., 2011) указывают на необходимость в подробном, почти научном, ведении племенных книг и записей, в которых, наряду с показателями продуктивности, четко регистрировать заболеваемость и смертность животных (отдельных видов, пород, особей). Таким образом, при совершенствовании продуктивных и племенных качеств животных необходимо учитывать особенности конституции, характеризующие устойчивость к различным неблагоприятным воздействиям и заболеваниям.

В адаптации организма к изменяющимся условиям внешней среды значительная роль принадлежит симпатoadреналовой системе (САС). Функциональное состояние организма в любой стрессовой ситуации зависит от соотношения гормона и медиатора, т.е. адреналина и норадреналина.

При исследовании синдромов адаптации у крупного рогатого скота (Шахов, А.Г., Алёхин, Ю.Н. и др., 2013; Шабунин, С. В., 2015) в качестве критериев оценки стрессового состояния организма служили следующие показатели в крови: лейкоциты, лимфоциты, эозинофилы, нейтрофилы, гликоген и сахар. Авторы считают, что эозинофилы и нейтрофилы, как и общие лейкоциты, являются основными критериями оценки стрессового состояния организма крупного рогатого скота. Такие факторы, как взятие крови, формирование групп, обезроживание, взвешивание и вакцинация, вызывают стрессовые явления в организме.

Некоторые исследователи (Глуховец, Б. И., 2007; Chernyshov, V.P., 2014) использовали изменение показателей после введения сравнении с таковыми высвобождения кортизола под влиянием стресс-факторов. Сходство с показателями высвобождения кортизола после введения АКТГ позволяет определить состояние острого стресса в единицах, эквивалентных АКТГ. Данные о влиянии нагрузки АКТГ на концентрацию кортизола в крови

животных (Smith, J. T., Elkin, J. T., Reichert, W. M., 2006; Джобава, Э. М., 2013) свидетельствуют о значительном отличии по этому признаку чистопородного молодняка от помесного. Реакция на АКТГ была выше у калмыцкого скота как у новорожденных, так и в 7-месячном возрасте. Выработка кортизола в большем количестве у чистопородных по сравнению с помесными животными обеспечивала большую адаптационную способность их к изменяющимся условиям среды.

Для контроля за проявлением реакции рекомендуется брать не менее 5 основных показателей: количество лейкоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов и глюкозы, степень изменения которых после нагрузки АКТГ наиболее объективно отражает адаптивную реакцию организма и функциональное состояние гипофизарнонадпочечниковой системы. Уменьшение основных показателей после нагрузки АКТГ ниже нормы указывает на истощение адаптационных возможностей организма, в т.ч. и способности его нейроэндокринной системы противостоять действию того или иного стресс-фактора (Милованов, А. П., 1999; Risau, W., 2002; Фризе, К., 2003; Григорьев, В. В., 2004; Хайтов, Р. М., 2003; Reynolds, L. P., 2005; Wang, S., 2014)

В качестве показателя крепости конституции отдельными учеными предлагается использовать устойчивость продуктивности (Кузнецова, А. В., 2005; Armulik A., Abramsson A., Betsholtz C., 2005; Липатова, О. А., 2007; Литвицкий, П. Ф.; 2009; Toyoda, M., 2010). Чем устойчивее, ровнее удои коровы на протяжении лактации и в разрезе разных лактаций, тем крепче животное. Повторяемость удоев достоверно возрастала с увеличением крепости конституции. Наивысшей продуктивностью отличаются коровы крепкого типа конституции. Они на 10-15% превышают по этому показателю другие сравниваемые группы. Животные с беспокойным ходом кривой лактации статистически достоверно отличаются худшими результатами плодовитости от животных, кривая лактации которых имеет плоскую форму.

Постоянство типа кривой составляет 80%. По окончании первой лактации можно сделать вывод о типе животного, его адаптационных способностях.

Заслуживает внимания также методика оценки наследственных показателей резистентности по жизнеспособности приплода, предложенная (Смирновым, П. Н., 2010; Степановой, Е. О., 2013; Makarenko, M. V., 2014). Наследственную естественную резистентность определяют по трем основным показателям: жизнеспособности родившихся поросят, заболеваемости и сохранности поросят в гнезде от рождения до отъема, жизнеспособности поросят при отъеме от маток. По результатам оценки отдельных показателей резистентности выводится суммарный балл по каждому животному. Наряду с жизнеспособностью приплода определяют активность сыворотки и фагоцитоза лейкоцитов крови, характеризующих интерьерные показатели резистентности. Животные получают по 1 баллу за каждые 5 процентов бактериальной активности и за каждые 5 тысяч микробных клеток, фагоцитированных лейкоцитами 1 мм³ крови. По количеству набранных баллов естественной резистентности, а также с учётом хозяйственно полезных признаков и физиологического статуса дается оценка пригодности животных для воспроизводства в условиях комплекса. Естественную резистентность маток оценивают по средним показателям всех учтенных к моменту исследования опоросов, а хряков по потомству от 10-15 маток, проверенных по этим качествам. Для воспроизводства отбирают маток и хряков, у которых суммарный балл по наследственным показателям естественной резистентности выше среднего балла по стаду. Не подвергая сомнению большое значение многообразных специальных методов исследования, широко применяемых в настоящее время, необходимо отметить комплексную оценку всех сторон иммунологического процесса, изучаемого на организменном уровне.

В последнее время для определения иммунной реактивности организма предложены фитогемагглютининовые тесты (ФГА) (А.А. Khalil, В.А. Votroc , М.Керкор , О.Лотейи982, Х.М.Векслер и др., 2003). Сущность этого теста

заключается в том, что животному внутрикожно вводят фитогемагглютинин. Его инъекция вызывает через несколько часов заметную воспалительную реакцию, которая достигает пика к 24 часам.

При постановке этого теста на жеребьях было установлено, что у взрослых лошадей толщина кожной складки до введения ФГА составила 1 мм, через 4 часа после инъекции 2,4 мм, через 24 часа - 4,6 мм и к 48 часам - 1,4 мм; у жеребят 3-месячного возраста соответственно 0,42; 2,72; 3,72; 1,5 мм (Жаров, А. В., 2009; Umaphy, S., 2011; Гужвина, Е. Н., Мамиев О.Б., 2012). У контрольных животных, которым внутрикожно вводили фосфатный буфер, заметной реакции не наблюдалось. Реакция была очень выраженной при введении ФГА взрослым животным в нижнее веко. Оптимальное время для развития кожной реакции составило 24 часа после инъекции ФГА. Применение этого способа на животных показало возможность выявления коров с пониженной активностью иммунной системы по неспецифическому ответу на митоген ФГА. Постановка этой реакции значительно легче и быстрее осуществима по сравнению с методом спонтанного розеткообразования.

Стрессоустойчивость животных. Оценка конституциональных особенностей животных по показателям, характеризующим их адаптационные способности, имеет большое значение, особенно в условиях промышленной технологии ведения животноводства. Всяких А.С., Родионов Г.В., (2004) установлено, что тип устойчивости коров к стрессу является важным технологическим признаком, определяющим пригодность их к промышленной технологии и характеризующий способность животного реализовать генетический потенциал продуктивности. Отбор по этому признаку позволяет одновременно улучшить воспроизводительную способность коров и повысить скорость молокоотдачи. По данным отдельных авторов научных работ (Bell, S. C., 1981; Sorg, R. V., 2009; Криштофорова, Б. В., 2011; Калаева, Е. А., 2016), высокой продуктивностью обладают животные, быстро адаптирующиеся к новой обстановке.

Стресс-устойчивые телки отличались от стресс-чувствительных более высоким исходным количеством эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, более высоким показателем гематокрита и пониженным содержанием сахара в крови. Стресс вызывает статистически достоверное возрастание температуры тела, частоты пульса и дыхания. Для оценки и прогноза устойчивости животных к стрессам рекомендовано много различных тестов. Наиболее широко используется оценка стресс-устойчивости в свиноводстве по галотановому тесту (Thornburg, K. L., 1999-2010).

Надежным методом оценки устойчивости свиней к стрессу является определение активности фермента креатинфосфокиназы. По результатам специальных исследований (Mabgu, 2003) установлено, что показатели этого теста соответствуют результатам метода с галотаном в 87-91% случаев. Адаптационные механизмы к стресс-факторам могут характеризовать некоторые гемодинамические показатели. При внутривенных инъекциях адреналина в различных концентрациях наблюдалось быстрое нарушение гемодинамики уже через 23-25 сек. У стресс-устойчивых животных изменения гемодинамики и электрокардиограммы (ЭКГ) восстанавливались до нормы через 3-5 мин. При введении адреналина в дозах, имитирующих стресс-синдром, установлено резкое перераспределение крови к различным органам (Степанов В. И. и др., 2001). Известны способы оценки устойчивости свиней к стресс-факторам по биохимическим показателям, характеризующим уровень ферментативной активности сыворотки крови или тканей (креатинфосфокиназы, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, аспартатаминотрансферазы и глутаминтрансферазы). Изменение уровня активности по сравнению с нормой указывает на функциональные возможности организма. Для выявления животных, устойчивых к шоковой травме Шепотиновский В. И., Микашинович З. И., (2000) предложен способ оценки стрессустойчивости путем определения в лейкоцитах и эритроцитах активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, гексокиназы, цитохромоксидазы и уровня лактата. При увеличении этих показателей после

иммобилизационного стресса в лейкоцитах на 50-55, 60-65, 60-70, 70-100 процентов; в эритроцитах на 70-80 , 60-100 , 40-50, 180-300 процентов по сравнению с исходным уровнем животных считают стресс-устойчивыми (Solano Aguilar, G. I., 2001; Кравцова Е. И., 2004; Berliner, J. A., Territo, M. C., 2009).

Анализируя вышесказанное, можно сделать вывод о том, что для оценки состояния защитных сил организма (адаптивного потенциала) используют реакции двух типов (в организме животного - *in vivo* и в пробирке - *in vitro*). При постановке реакций в организме животного после введения антигена определяют напряженность иммунитета, состояние гиперчувствительности и клеточных иммунных реакций, а также скорость выведения антигенов из организма.

Большой процент гибели новорожденных в первые дни жизни обусловлен снижением функциональных возможностей организма. Молодняк с пониженной жизнеспособностью рождается при заражении вирусами, бактериями и их токсинами у новорожденных животных с морфофункциональной незрелостью (гипотрофией) заторможены сосательные и двигательные рефлексы, имеет место дефицит пластических, энергетических и биологически активных веществ, в том числе и иммуноглобулинов. Таким образом, существующие подходы к оценке жизнеспособности новорожденных животных должны быть основаны на известной зависимости между уровнем их морфофункционального развития и степенью приспособляемости с раннего постнатального периода и как следствие устойчивостью организма.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились в период с 2016-2021 гг. на базе свиноводческих предприятий и крестьянско-фермерских хозяйств Ставропольского края (СПК «Восток», СХП «Крусский», КФХ «Великородный»). Методика исследований отрабатывалась в лабораторных условиях Московской испытательной лаборатории Федерального государственного бюджетного учреждения «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория» (ФГБУ ЦНМВЛ), ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория», Научно-диагностического и лечебного ветеринарного центра, лаборатории кариотипирования на кафедре терапии и фармакологии факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» в соответствии с утвержденной тематикой диссертационного исследования.

Экспериментальными животными служили свиноматки, хряки, поросята крупной белой породы принадлежащие на праве собственности СПК «Восток», СХП «Крусский», КФХ «Великородный» (Ставропольский край, Курской район, п. Балтийский) всего в количестве 1096 животных.

Оценку функциональных резервов новорожденного организма проводили путем исследования крови с проведением биологического теста, в качестве которого использовали реакцию лейкоцитолита крови материнского организма с присутствием сыворотки крови новорожденного животного. Данный результат осуществлялся за счет выявления состояния повышенной чувствительности материнского организма к антигенам плода реакцией лейкоцитолита клеток в присутствии специфических белков новорожденного организма. Белки сыворотки крови изоиммунизированных новорожденных, вызывают специфические повреждения сенсibilизированных лейкоцитов крови материнского организма и не действуют на лейкоциты, которые по отношению к ним не проявляют повышенной чувствительности. Благодаря этому представлялось возможным по установленной формуле вычислить

процент лизированных лейкоцитов материнского животного под воздействием сыворотки крови новорожденного животного, после чего провести оценку выполненной реакции и установить прогноз функциональных резервов новорожденного организма.

Техническое исполнение: В две пробирки вносят по 0,3 мл слабо подкрашенного метиленовой синькой раствора ацидин-пепсина в концентрации 25 мг/мл. В первую (опытную) добавляют 0,1 мл сыворотки крови новорожденного, а во вторую (контрольную) – 0,1 мл стерильного физиологического раствора. Затем в каждую пробирку добавляют по 0,02 мл крови материнского животного организма. Пробы тщательно перемешивают и помещают в термостат на 2 часа при температуре 37,5 °С. Кислая среда раствора ацидин–пепсина создает условия для осмотического разрушения эритроцитов исследуемой крови, лейкоциты при этом остаются не разрушенными.

Белки сыворотки крови новорожденных, содержащиеся в опытной пробе, вызывают специфические повреждения сенсibilизированных лейкоцитов крови материнского организма и не действуют на лейкоциты, которые по отношению к ним не проявляют повышенной чувствительности. Выявить повреждения лейкоцитов путем подсчета возможно лишь в том случае, если они будут полностью разрушены. Разрушение поврежденных лейкоцитов осуществляется ферментом пепсином, который в кислой среде действует только на поврежденные клетки и не действует на неповрежденные. Такое избирательное действие пепсина на поврежденные лейкоциты обеспечивает разницу при их подсчёте. После инкубирования содержимым обеих пробирок поочередно заполняют камеру Горяева и подсчитывают количество лейкоцитов в 25 больших квадратах по общепринятой тривиальной методике, принятой для подсчета лейкоцитов.

Для вычисления процента лизированных лейкоцитов материнского животного под воздействием сыворотки крови новорожденного животного используют формулу:

$$\text{ПАА} = \frac{L_{\text{контроль}} - L_{\text{опыт}}}{L_{\text{контроль}}} \times 100\% \quad (\text{формула 1})$$

где, ПАА – показатель аллергической альтерации лейкоцитов;
Л – количество лейкоцитов.

Определение иммунологической реактивности животных осуществлялось путем оценки адсорбирующей способности эритроцитов при инкубации в растворе Хэнкса. (80 % раствор смеси). Инкубацию проводят с интервалом времени от 30 минут до 3 часов. Показатели адсорбционной способности устанавливали по степени угнетения НСТ-теста (спонтанный тест с нитросиним тетразолием) компетентными клетками (нейтрофилами). Наиболее активное подавление иммуносупрессорных свойств установлено при падении биологической активности в НСТ-тесте до 40%, что связано с пределом рецепторной емкости данных клеток.

Техническое исполнение: Проводят исследование крови путем проведения биологического теста, в качестве которого используют биологическую активность эритроцитов в НСТ-тесте и по показателям их сорбционной активности – более 40%, животных относят к особям со сниженной иммунологической реактивностью среди однородной выборки.

В качестве объекта исследования использовали эритроцитарные клетки 42 супоросных свиноматок (за 30 суток до предполагаемого опроса) 3-х групп, 4 группа служила контролем.

У животных отбирали 500 мкл капиллярной крови в пробирку, содержащую 45 мкл консерванта ЭДТ. После центрифугирования и удаления супернатанта к 200 мкл эритроцитарной массы добавляли 1,4 мл 100 мкМ раствора нильского голубого. Пробу центрифугировали при 3 тыс. об/мин 10 мин и супернатант удаляли. К 200 мкл эритроцитарной массы добавляли 1,4 мл 100 мкМ нильского голубого, приготовленного на физиологическом растворе с рН 7,4. Смесь перемешивали инкубировали при комнатной температуре 20 мин, затем центрифугировали 5-10 мин при 3 тыс.об/мин и измеряли оптическую плотность в супернатанте при 630 нм. Чтобы исключить концентрационное снижение оптической плотности красителя, отобранную

пробу супернатанта разводили в 2 раза дистиллированной водой и измеряли поглощение в кювете толщиной 0,5 см.

Опытные группы подвергались гипериммунизации (использовали вакцину Болезни Ауэски) во время беременности, а контрольная группа особей оставалась на тривиальной (принятой в хозяйстве) антигенной нагрузке. В первой группе проводили инъекцию вирусвакциной однократно в дозе $2,0 \cdot 10^8$ ЛКД₅₀. Второй группе вирусвакцину вводят двукратно в дозе $3,0 \cdot 10^{12}$ ЛКД₅₀ на одно введение, третья группа служила контролем, которой вводили дозу $2,0 \cdot 10^4$ ЛКД₅₀. Полученные данные при двукратном и трехкратном введении вируса свидетельствуют об изменении иммунологической реактивности.

Адсорбирующую способность проводили при инкубации отмытых эритроцитов (три раза) в растворе Хэнкса. (80 % раствор смеси). Инкубацию проводили с интервалом времени от 30 минут до 3 часов. Показатели адсорбционной способности устанавливали по степени угнетения НСТ-теста компетентными клетками (нейтрофилами). По показателям их сорбционной активности – более 40%, животных относили к особям со сниженной иммунологической реактивностью.

Оценку иммунологической реактивности животных осуществляли по методике, основанной на цитотоксическом действии тестирующей биологической жидкости на клетки мишени в пробирке. Цитотоксическое действие тестирующей биологической жидкости зависело от чувствительности клеток и их функциональной активности и учитывалось по скорости оседания эритроцитов и степени цитолиза клеток. Эффективность способа определения иммунологической реактивности устанавливалась на поголовье условно-больных (опытные группы) и условно-здоровых (контрольная группа) свиноматок по 10 голов в каждой группе.

При контакте клеток крови с тестирующей биологической жидкостью происходит реакция антиген-антитело на их поверхности. Растворимые антигены плазмы крови также вступают в реакцию с антителами, а

образующийся комплекс антиген-антитело адсорбируется на поверхности клеток. Все это приводит к агглютинации и цитолизу клеточных элементов крови. Цитотоксическое действие тестирующей сыворотки зависит от адсорбционной способности эритроцитов и учитывается, но скорости оседания эритроцитов и степени цитолиза клеток. Интенсивность иммунологических реакций зависит от клеточного пула и организма в целом – его реактивности.

Диагностика изоиммунизации животных при помощи лабораторного исследования (неинвазивного пренатального скрининга изоиммунизационных эффектов у плода по крови беременной) за счет выявления состояния повышенной чувствительности материнского организма к антигенам плода реакцией эритрогемолиза в присутствии специфических белков новорожденного организма.

Техническое исполнение: достигается при помощи исследования крови с дополнительным проведением биологического теста, в качестве которого используют реакцию эритрогемолиза, а по показателям СОЭ и гемолиза – более 20%, исследуемых животных относят к особям с повышенной иммунологической толерантностью среди однородной выборки.

В качестве объекта исследования использовали 42 супоросных свиноматки крупной белой породы (вторая половина беременности за 30 суток до предполагаемого опроса), с кратностью опросов более 2-х. Антигеном служила вирус вакцина против болезни Ауэски (штамм «ГНКИ») с интервалом 12-21 день в дозе 10^4 ЛКД₅₀ – 10^{12} ЛКД₅₀/см³ на 1 кг массы тела. Для исследования иммунного ответа на антигены штамма вирус вакцины Ауэски вводят также двукратно одновременно с этими антигенами в обозначенной дозировке и интервале. Иммунологическую реактивность на вводимые антигены оценивали путем кратного повышения суммарной дозы вирусного антигена 10^4 ТЦД₅₀, а введение осуществляли одно, двух или трехкратно с интервалом 20 дней.

Инъекцию производят всем опытным группам свиноматок смесью равных объемов, по 1,0 см³, 25 мкг антигена в физиологическом растворе внутримышечно за основанием ушной раковины. Через 7 дней у животных первой группы проводят забор крови, отделяют сыворотку, а для оценки динамики накопления гуморальных антител используют твердофазный иммуноферментный метод, индивидуальные пробы сывороток исследуют в разведениях с двукратным шагом, начиная с разведения 1:100, после завершения реакции и аппаратного учета результатов реакции производят статистическую обработку данных для каждой группы животных, определяют достоверность отличий показателей между группами, группа животных с наивысшими показателями титров антител к антигену является той группой, которая получила оптимальную дозу, эффективно стимулирующую выработку гуморальных антител.

Оценка изоиммунного эффекта в биологической системе «мать-плацента-потомство» осуществляется за счет выявления состояния повышенной чувствительности материнского организма к антигенам плода реакцией эритрогемолиза клеток в присутствии специфических белков новорожденного организма. Белки сыворотки крови изоиммунизированных новорожденных, вызывают специфические повреждения сенсibilизированных эритроцитов крови материнского организма и не действуют на эритроциты, которые по отношению к ним не проявляют повышенной чувствительности. Благодаря этому представляется возможным по установленной формуле вычислить процент лизированных эритроцитов материнского животного под воздействием сыворотки крови новорожденного животного. После чего провести оценку выполненной реакции и установить прогноз иммунологической толерантности у потомства.

Все образцы сывороток крови тестируют одновременно с соблюдением одинаковых условий постановки опыта, что позволяет объективно определить динамику накопления гуморальных антител в крови животных, получивших различные суммарные дозы антигена, а также предельно допустимую

антигенную нагрузку на одно животное, превышение которой может привести к толерантности.

В две пробирки вносят по 0,5 мл слабо подкрашенного метиленовой синькой раствора ацидин-пепсина в концентрации 30 мг/мл. В первую (опытную) добавляют 0,2 мл сыворотки крови новорожденного, а во вторую (контрольную) – 0,2 мл стерильного физиологического раствора. Затем в каждую пробирку добавляют по 0,04 мл крови материнского организма. Пробы тщательно перемешивают и помещают в термостат на 2 часа при температуре 37,5 °С. Кислая среда раствора ацидин–пепсина создает условия для осмотического разрушения эритроцитов исследуемой крови.

Белки сыворотки крови новорожденных, содержащиеся в опытной пробе, вызывают специфические повреждения сенсibilизированных эритроцитов крови материнского организма и не действуют на эритроциты, которые по отношению к ним не проявляют повышенной чувствительности. Выявить повреждения эритроцитов путем подсчета возможно лишь в том случае, если они будут полностью разрушены. Разрушение поврежденных эритроцитов осуществляется ферментом пепсином, который в кислой среде действует только на поврежденные клетки и не действует на неповрежденные. Такое избирательное действие пепсина на поврежденные эритроциты обеспечивает разницу при их подсчёте. После инкубирования содержимым обеих пробирок поочередно заполняют камеру Горяева и посчитывают эритроциты в 5 больших квадратах, разделенных на 16 малых (т.е. в 80 малых квадратах) по общепринятой тривиальной методике, принятой для подсчета эритроцитов.

Для вычисления процента лизированных эритроцитов материнского животного под воздействием сыворотки крови новорожденного животного используют формулу 2:

$$\text{ПАЭ} = \frac{\text{Э контроль} - \text{Э опыт}}{\text{Э контроль}} \times 100\% \quad (\text{формула 2})$$

где, ПАЭ – показатель аллергической альтерации эритроцитов;
Э – количество эритроцитов.

Тестирование иммунологической толерантности у животных за счет выявления состояния реакции агглютинации между полученной иммунной сывороткой крови потомства и семенем биологического самца производителя.

Техническое исполнение: с целью оценки иммунологической ареактивности в раннем возрасте у новорожденного потомства, производят иммунизацию производителей их же семенем, затем ставят реакцию агглютинации семени с специфической сывороткой крови потомства в разведении 1:50-1:500, а по степени схожести белков соматических клеток крови и семени тестируют степень толерантного состояния иммунной системы животных.

От проверяемого производителя берут семя и накапливают его путем глубокого замораживания в жидком азоте. Для иммунизации семя центрифугируют, осадок сперматозоидов трехкратно промывают физиологическим раствором и снова центрифугируют. Осадок разводят физиологическим раствором в соотношении 1:1 и вводят производителю подкожно. Интервал между 1-й и 2-й инъекциями 5 дней, между 2-й и 3-й – 7 дней, через 10 дней после последней инъекции у производителя берут кровь, из которой готовят иммунную специфическую сыворотку, затем ставят реакцию агглютинации семени со специфической иммунной сывороткой в разведении 1:50-1:500, и по степени схожести белков соматических клеток крови и семени тестируют степень толерантного состояния иммунной системы.

Для постановки реакции агглютинации между активными сперматозоидами и сывороткой крови потомства в 10 пробках делают разбавления сыворотки физиологическим раствором в кратных соотношениях от 1:50 до 1:500, в одиннадцатой – контрольной – физиологический раствор. Затем сыворотку семенной жидкости центрифугируют с последующей трехкратной промывкой его физиологическим раствором. Каплю отмытого семени разбавляют 1,5 мл физиологического раствора для получения рабочей смеси. В каждую из 10 проб к сыворотке добавляют одну каплю рабочей смеси

и помещают в термостат при 37°C на 30 мин, после чего производят читку реакции. По выраженности реакции устанавливают степень схожести между белками соматических клеток крови и семени, а, следовательно, и степень передачи свойств производителя своему потомству.

Определение иммунологической толерантности у животных заключается в следующем, производят смешивание спермы животного (самца-производителя) с сывороткой крови новорожденного животного, по снижению подвижности спермиев судят о наличии изоантител, находящихся в организме новорожденного организма, а также дают прогноз жизнеспособности новорожденного животного и объеме предстоящей терапии.

У новорожденного животного проводят отбор крови для получения сыворотки. Полученную сыворотку крови смешивают в пропорции 1:1 с нативной спермой самца-производителя, подвижность спермиев которой предварительно оценена по 10 бальной шкале. Подвижность спермиев не должна быть менее 8 баллов. Через 5 минут после смешивания определяют подвижность спермиев вновь. Контроль проводят по сыворотке, смешанной 1:1 с физиологическим раствором. При снижении активности спермиев на один балл относительно контроля соответствует первой степени изоиммунизации, на 2 балла - второй степени, на три бала 3 степени и так далее по 5 степеням. 5-я степень изоиммунизации у потомства - очень тяжелая с вероятным летальным исходом.

Определение изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плацента-потомство» в качестве биологического теста используют скорость оседания эритроцитов в реакции с пробами крови материнского организма во взаимодействии с сывороткой крови потомства и крови новорожденного животного в присутствии сыворотки крови матери, а также о контрольных пробах крови матери и новорожденного животного с физиологическим раствором, после чего вычисляют коэффициент прогноза по формуле 3:

$$K = \frac{COЭ\ 01 - COЭ\ K1}{COЭ\ 01} \times 100 \quad (\text{формула 3})$$

где K – критерий изоантигенной нагрузки;

COЭo1, COЭo2 - скорость оседания эритроцитов материнской крови в присутствии сыворотки крови новорожденного и скорость оседания эритроцитов крови новорожденного в присутствии сыворотки крови матери. COЭк1, COЭк2 - скорость оседания эритроцитов материнской крови в присутствии изотонического раствора хлористого натрия и скорость оседания эритроцитов крови новорожденного в присутствии изотонического раствора хлористого натрия и при значении коэффициента не более 29 считают поросят без антигенной изоиммунизации, а при повышении коэффициента выше 43 с нарушением фетоплацентарного комплекса.

Техническое исполнение: У 20 свиноматок после родов и от них полученных 180 поросят для оценки антигенного влияния на иммунную систему новорожденного животного в период внутриутробного развития у материнского организма сразу после родов из яремной вены и у полученного потомства из пуповинной крови до приема молозива отбирают кровь. Часть крови 1/3 используют для получения сыворотки крови материнского организма и новорожденного животного. В пипетку Панченкова отбирают сыворотку крови новорожденного до метки Р и переносят на часовое стекло. Затем после ополаскивания пипетки в растворе гепарина аналогичным способом до метки К отбирают кровь материнского организма и вносят в лунку часового стекла. После в течении 1 минуты перемешивают концом пипетки и набирают пипетку (сыворотка крови новорожденного + кровь материнского организма) до метки К, устанавливая в штатив по 450. В качестве контроля используют постановку реакции, в которой вместо крови материнского организма используют изотонический физиологический раствор NaCl 0,9 %.

Для оценки антигенного влияния на иммунную систему материнского организма в период беременности у материнского организма сразу после родов из яремной вены и у полученного потомства из пуповинной крови до

приема молозива отбирают кровь. Одну третью часть крови используют для получения сыворотки крови материнского организма и новорожденного животного. В пипетку Панченкова отбирают сыворотку крови материнского организма до метки Р и переносят на часовое стекло. Затем после ополаскивания пипетки в растворе гепарина аналогичным способом до метки К отбирают кровь новорожденного организма и вносят в лунку часового стекла. После в течение 1 минуты перемешивают концом пипетки и набирают пипетку (сыворотка крови материнского организма + кровь новорожденного организма) до метки К, устанавливая в штатив по 45°. В качестве контроля используют постановку реакции, в которой вместо крови новорожденного используют изотонический физиологический раствор NaCl 0,9 %.

Учет реакции проводят через 1 час анализируя качественные изменения в пробирке Панченкова с наклоном на 45° в опытном и контрольном образце. Животных относят в группу с нарушением антигенного равновесия в фетоплацентарном комплексе с разницей СОЭ в опытной и контрольной пробах в пределах 3,9-8,9 мм за 1 час.

Для определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный» вычисляют коэффициент изоантигенной нагрузки по формуле 4:

$$K1 = \frac{COЭo1 - COЭк1}{COЭo1} \times 100$$

$$K2 = \frac{COЭo2 - COЭк2}{COЭo2} \times 100 \quad (\text{формула 4})$$

где K1 и K2 - коэффициенты изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный»; COЭo1, COЭo2 - скорость оседания эритроцитов материнской крови в присутствии сыворотки крови новорожденного и скорость оседания эритроцитов крови новорожденного в присутствии сыворотки крови матери. COЭк1, COЭк2 - скорость оседания эритроцитов материнской крови в присутствии изотонического раствора хлористого натрия и скорость оседания эритроцитов крови новорожденного в присутствии изотонического раствора хлористого натрия.

Степень изоантигенной нагрузки определяли по результатам исследования скорости оседания эритроцитов в опыте и контроле через 1 ч. СОЭ жизнеспособных новорожденных животных составляла в среднем в опыте 3.1 и 2.4 в контроле соответственно 2.3 и 1,7 мм в 1 ч. Коэффициент изоантигенной нагрузки у жизнеспособных новорожденных составил в пределах 26-29.

Повышение репродуктивной способности беременных свиноматок, иммунобиологического статуса и жизнеспособности новорожденных поросят, сводится к профилактике иммунодефицитного состояния поросят в фетальный период, путем использования иммуномодулирующего эффекта у материнского организма препаратом «Пирогенал» в наиболее напряженный период (вторая половина) супоросности.

Техническое исполнение: результат осуществляется за счет внутримышечного введения высокоактивного неспецифического иммуномодулятора широкого спектра действия «Пирогенала» беременным животным в дозе 0,08 мкг/кг массы тела за 60 дней до опроса 5 инъекций каждый день, за 40 дней до родов 5 инъекций с интервалом 1 день, за 20 дней до опороса 5 инъекций с интервалом 2 дня, общим курсом 15 инъекций и направлен на более полноценное становление иммунобиологического статуса у новорожденных животных. Индивидуальную минимальную пирогенную дозу для свиноматок определяли путем внутримышечного введения препарата ремонтным свинкам из расчета 0,16, 0,08, 0,04 мкг на 1 кг массы тела. Наиболее оптимальная дозировка для животных составила 0,08 мкг на 1 кг массы тела, которая способствовала повышению общей температуры тела до 0,5 °С, что указывает на достаточность оптимальной пирогенной дозы. За 1 час до инъекции у каждой свиноматки дважды ректально проводили замеры температуры с интервалом не менее 30 мин. Различия в показаниях температуры у одного и того же животного не превышали 0,1 °С. Средний показатель повышения температуры составлял до 0,5 °С.

Для установления положительного эффекта применения «Пирогенала» были сформированы 3 группы супоросных свиноматок крупной белой породы по 10 голов – две опытных и одна контрольная и рожденные от них поросята по 10 голов. Животным первой группы, из которых внутримышечно вводили 0,08 мкг/кг ж.м. препарата за 60 дней до опороса, один раз в день до утреннего кормления общим курсом 15 инъекций. Свиноматкам второй опытной группы тот же препарат вводили в дозе 0,08 мкг/кг ж.м. за 60 дней до опороса каждый день (5 инъекций), за 40 дней до родов с интервалом 1 день (5 инъекций), за 20 дней до опороса с интервалом 2 дня (5 инъекций), общим курсом 15 инъекций. Животные третьей группы служили контролем, им не применяли вышеназванный препарат. Продолжительность применения препарата составила 30 суток.

Оценка морфофункциональных изменений при изоиммунизации в функциональной системе «мать-плацента-потомство»

Экспериментальные исследования проведены на свиноматках крупной белой породы. В опытную группу входили животные с повышенной антигенной нагрузкой (гипериммунизацией). В контрольную входили животные, подвергнутые традиционной схеме вакцинации, принятой в хозяйстве.

Материалом для исследования послужили плаценты 20 свиноматок крупной белой породы. Для исследования материал отбирали сразу после родов. Для гистологического исследования сразу после родов отбирали кусочки плаценты толщиной до 0,5 см, которые фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина. Фиксированный материал после проводки через спирты возрастающей концентрации, ксилол, ксилол-парафин, заливали в парафин.

Из полученных парафиновых блоков делали гистологические срезы толщиной 4-6 мкм, которые, для обзорных целей окрашивали гематоксилином и эозином, а также по методу Маллори согласно рекомендаций, изложенных в руководстве В. В. Семченко с соавт. (2006).

Микроскопию срезов проводили на световом микроскопе Olympus BX45 со встроенным фотоаппаратом С 300 (Япония). Для микроскопии были использованы окуляры $\times 10$, объективы $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$.

Оценка иммунобиологического статуса функциональной системы «мать-плацента-потомство»

Для оценки эффективности использованных методов диагностики иммунологической взаимосвязи у подопытных животных через каждые 30 дней изучались гематологические показатели крови (количество эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, скорость оседания эритроцитов, общего белка и белковых фракций) и естественной резистентности (фагоцитарная активность (ФА) нейтрофилов с выведением фагоцитарного индекса (ФИ), фагоцитарного числа (ФЧ) и фагоцитарной емкости крови (ФЕК), бактерицидная активность сыворотки крови, активность сывороточного лизоцима, титр нормальных антител).

Количество эритроцитов и концентрацию гемоглобина определяли фотоэлектроколориметрическим методом, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) устанавливали в аппарате Панченкова. Число лейкоцитов определяли при помощи камеры Горяева. Белковые фракции определяли путем электрофореза.

Фагоцитарную активность нейтрофилов исследовали по отношению к штамму *Escherichia coli* – 675; бактерицидную активность сыворотки крови – методом, модифицированным О.В. Бухариным и В.Л. Созыкиным (1979) (в объекта фагоцитоза использовали кишечную палочку указанного штамма); При оценке лизоцимной активности сыворотки крови в качестве индикатора активностилизоцима служила культура *Micrococcus lysodeikticus*-2665.

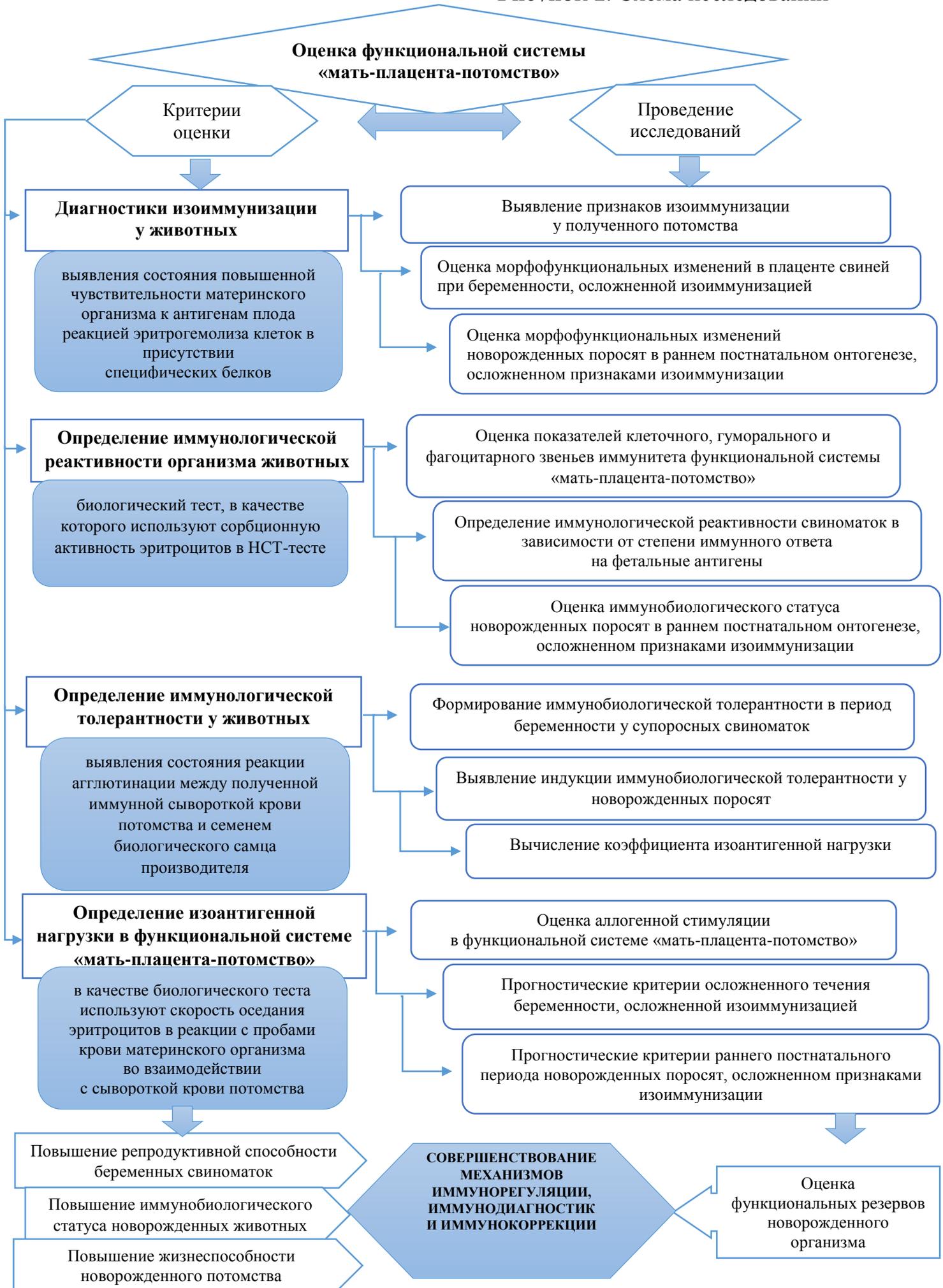
Мониторинг количественного состава клеточных популяций основан главным образом на принципе розеткообразования разных типов лимфоцитов. Реакция спонтанного розеткообразования (Е-розетки) количественно характеризует Т-клеточную популяцию, а «комплементарное» розеткообразование (ЕАС-розетки) – В-клеточную.

В ходе работы было обследовано 42 свиноматки, из них у 25 обнаружались признаки изоиммунизационного состояния. Обследование проводили 3 раза в неделю в течение 3 недель; в качестве контроля исследовали Т- и В-розеткообразующие клетки у 14 особей из контрольной группы.

Т- и В-лимфоциты определяли по методу С. Mendes (1973). За Т-розетку принимали лимфоцит, окруженный тремя эритроцитами барана или более. Меньшее число эритроцитов в расчет не принимали, так как оно отражает случайное распределение [Чередеев А. Н., 1981]. В-розеткообразующие клетки подсчитывали в смеси, состоящей из лимфоцитов свиней, из аллогенных эритроцитов, сенсibilизированных кроличьими антителами (в субагглютинирующем титре) к эритроцитам свиней и комплементом мыши. Перед каждым определением В-розеткообразующих клеток ставили реакцию агглютинации эритроцитов (в кроличьей антисыворотке) к эритроцитам свиноматок для определения субагглютинирующего титра, который колебался от 1/16 до 1/512. За В-розеткообразующие клетки принимали лимфоцит, окруженный не менее чем тремя эритроцитами.

Статистические методы исследования. Полученные цифровые данные были проанализированы с применением статистического метода однофакторного дисперсионного анализа «Biostatistics 4.03» для Windows. Гистологические и морфометрические исследования проводили с использованием программы «ВидеоТестМастер Морфология 4.0» для Windows. Достоверными считали различия при $P \leq 0,05$. При проверке статистических гипотез использовали 5% уровень значимости.

Рисунок 1. Схема исследований



2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ

В данном разделе изложены результаты собственных научных исследований, опубликованные:

– в научных статьях из перечня ВАК Агарков А.В., Дмитриев А.Ф. (Ветеринария Кубани. 2017. № 6. С. 15-17.); Агарков А.В., Дмитриев А.Ф., Квочко А.Н., Скрипкин В.С., Агарков Н.В. (Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2019. № 1. С. 292-294.); Растоваров Е.И., Скрипкин В.С., Квочко А.Н., Агарков А.В., Филенко В.Ф. (Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2019. № 1. С. 166-168); Растоваров Е.И., Скрипкин В.С., Квочко А.Н., Агарков А.В., Филенко В.Ф. (Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2019. № 2 (76). С. 239-242.); Агарков А.В., Дмитриев А.Ф., Скрипкин В.С., Растоваров Е.И., Агарков Н.В. (Ветеринарная патология. 2019. № 1 (67). С. 29-34.); Агарков А.В., Дмитриев А.Ф., Квочко А.Н., Агарков Н.В. (Международный вестник ветеринарии. 2020. № 1. С. 110-115.); Агарков А.В., Дмитриев А.Ф., Квочко А.Н., Агарков Н.В., Онищенко А.Р. (Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2020. № 3. С. 95-99.); Агарков А.В., Дмитриев А.Ф., Квочко А.Н., Агарков Н.В. (Вестник КрасГАУ. 2020. № 5 (158). С. 119-124.); Агарков А.В., Дмитриев А.Ф., Квочко А.Н., Михайленко В.В., Агарков Н.В., Онищенко А.Р. (Вестник КрасГАУ. 2020. № 12 (165). С. 110-116.); Агарков А.В., Дмитриев А.Ф., Квочко А.Н., Михайленко В.В., Агарков Н.В., Онищенко А.Р. (Ветеринарная патология. 2020. № 4 (74). С. 30-37.); Скрипкин В.С., Трухачев В.И., Квочко А.Н., Агарков А.В. (Вестник КрасГАУ. 2020. № 12 (165). С. 152-155); Трухачев В.И., Скрипкин В.С., Квочко А.Н., Агарков А.В. (Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2020. № 4. С. 85-88); Агарков А.В., Дмитриев А.Ф., Квочко А.Н., Агарков Н.В. (Иппология и ветеринария. 2021. № 1 (39). С. 44-48.); Агарков А.В., Дмитриев А.Ф., Квочко А.Н., Агарков Н.В. (Иппология и ветеринария. 2021. № 1 (39). С. 49-55.); Агарков А.В., Дмитриев А.Ф., Квочко А.Н., Агарков Н.В. (Ветеринарная патология. 2021. № 1 (75). С. 43-47.);

– патентах на изобретение Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. «Способ определения жизнеспособности новорожденных поросят» – Патент №2555550 Российская Федерация, МПК А 01К 67/02, заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». - № 2014129349/10 заявл. 16/07/2014; опубл. 10/07/2015, Бюл. № 19; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. «Способ приготовления кормовой смеси для профилактики гипотрофии поросят в плодный период» – Патент №2581663 Российская Федерация, МПК А 23К 50/30, А23К 50/60, заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». - № 2014149814/13 заявл. 09/12/2014; опубл. 20/04/2016, Бюл. № 11; Трухачев В.И.; Скрипкин В.С., Дмитриев А.Ф., Агарков А.В., Агарков Н.В. «Способ повышения иммунобиологического статуса новорожденных поросят» – Патент №2614733 Российская Федерация, МПК А 61К 31/739, А61К 35/74, А61Р 37/00, заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». - № 2016109530 заявл. 16/03/2016; опубл. 28/03/2017, Бюл. № 10; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. «Способ оценки функциональных резервов новорожденного организма» – Патент №2685273 Российская Федерация, МПК G 01N 33/48, заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». - № 2017137185 заявл. 23/10/2017; опубл. 17/04/2019, Бюл. № 11.; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. Агарков Н.В. «Способ повышения репродуктивной способности беременных свиноматок крупной белой породы и жизнеспособности новорожденного потомства» – Патент №2654563 Российская Федерация, МПК А 01К 67/02, заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». - № 2017119099/10 заявл. 31/05/2017; опубл. 21/05/2018, Бюл. № 15.; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. Агарков Н.В. «Способ определения иммунологической реактивности организма животных» – Патент №2737336 Российская Федерация, МПК А 01К 67/02, заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». - № 2020117936

заявл. 20/05/2020; опубл. 27/11/2020, Бюл. № 33.; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. Агарков Н.В. «Способ тестирования иммунологической толерантности у животных» – Патент №2743363 Российская Федерация, МПК А 61В 5/00, заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». - № 2020119229 заявл. 03/06/2020; опубл. 17/02/2021, Бюл. № 5.; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. Агарков Н.В. «Способ диагностики изоиммунизации животных» – заявка с положительным решением по выдаче патента на изобретение № 2020119204, от 03.06.2020 г.; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. Агарков Н.В. «Способ определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный» – Патент № 2750787 Российская Федерация, МПК G 01N 33/53, А 01К 67/02 5/00, заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». - № 2020128866 заявл. 31/08/2021; опубл. 02/07/2021, Бюл. № 19.; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. Агарков Н.В. «Способ определения иммунологической толерантности у животных – заявка по патенту на изобретение № 2020137035, от 10.11.2020 г.»; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. Агарков Н.В. «Способ определения антигенной нагрузки животных» – заявка по патенту на изобретение № 2020144359, от 12.01.2021 г.; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. Агарков Н.В. «Способ иммунологического мониторинга животных» заявка по патенту на изобретение № 2020144360, от 12.01.2021 г.; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. Агарков Н.В. «Способ оценки адаптивного потенциала новорожденного организма» – заявка по патенту на изобретение № 2021100742, от 18.01.2021 г.; Дмитриев А.Ф., Агарков А.В. Агарков Н.В. «Способ оценки функционального состояния лимфоцитов периферической крови» – заявка по патенту на изобретение № 2021103860, от 15.02.2021 г.;

– статьях из перечня международных баз цитирования Scopus и Web of Science Trukhachev V.I., Agarkov A.V., Dmitriev A.F., Agarkov N.V., Shulunova A.N., Sidelnikov, A.I., Malysheva L.I. (IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 2019. 403(1). 012062); Pogodaev, V.A., Skripkin,

V.S., Rastovarov, E.I., Orobets V.A., Agarkov A.V., Agarkov N.V. (Ecology, Environment and Conservation. 2019. Vol. 25 (2). P. 34-40.); Omarov R.S., Agarkov A.V., Rastovarov E.I., Shlykov S.N. (Engineering for Rural Development. Proceedings. 2017. Vol 16. P. 960-963.); Trukhachev V.I., Skripkin, V.S., Agarkov A.V., Verevkina M.N., Meshcheryakov V.A. (Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016. Vol. 7 (4). P. 1336-1339.); Trukhachev V.I., Skripkin V.S., Verevkina M.N., Agarkov A.V., Fedota N.V. (Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016. Vol. 7 (2). P. 1054-1059.); Trukhachev V.I., Skripkin V.S., Agarkov A.V., Verevkina M.N., Tsygansky R.A. (Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016. Vol. 7 (2). P. 1403-1408.); Trukhachev V.I., Dmitriev A.F., Skripkin V.S., Agarkov A.V., Agarkov N.V. (Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2017. Vol. 8 (1). C. 1852-1856.); Agarkov A.V., Nekrasova I.I., Shulunova, A.N.; Sidelnikov A.I., Agarkov N.V. (Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018. Vol. 9 (2). P. 817-821.); Dmitriev A. F., Agarkov A.V., Shakhova V.N., Sevostyanova O.I., Agarkov N.V. (Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018. Vol. 9 (3). P. 954-957.); Agarkov A.V., Agarkov N.V., Shulunova A.N., Nekrasova I.I., Sidelnikov A.I. (International Journal of Veterinary Science. 2020. Vol. 9 (1). P. 145-148.); Agarkov A.V., Dmitriyev A.F., Kvochko A.N., Grudeva E.A., Agarkov N.V., Onishchenko A.R. (2020. E3S Web of Conferences 210, 06002); Agarkov A.V., Dmitriyev A.F., Agarkov N.V., Shulunova A.N., Sidelnikov A.I. (2020. E3S Web of Conferences 210, 06025);

– свидетельства о регистрации программы для ЭВМ, разработанных Трухачев В.И.; Скрипкин В.С., Дмитриев А.Ф., Агарков А.В., Агарков Н.В. (Программа мониторинга и прогнозирования внутриутробного инфицирования предотвращением ранних репродуктивных потерь у продуктивных животных – Свидетельство №2018665662 Российская Федерация / заявитель и правообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – № 2018662604. Заявл. 12.11.18;

опубл. 06.12.18, Бюл. № 12. – 10 Мб.); Трухачев В.И., Скрипкин В.С., Дмитриев А.Ф., Александрова Т.С., Онищенко А.Р., Самойленко В.С. (Программа мониторинга и прогнозирования жизнеспособности сельскохозяйственных животных и птицы – Свидетельство 2018665662 Российская Федерация / заявитель и правообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – № 2018660665. Заявл. 19.07.18; опубл. 28.08.18, Бюл. № 12. – 10 Мб.).

Все соавторы дали свое согласие на использование материалов совместно опубликованных работ в диссертации.

2.2.1 СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ИЗОИММУНИЗАЦИИ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЕ «МАТЬ-ПЛАЦЕНТА-ПОТОМСТВО»

При изомунизации выявляются антитела у новорожденных к антигенам материнского организма. Иммунологические нарушения в функциональной системе «мать-плацента-потомство» возникают от проникновения в фетальный период через фетоплацентарный барьер (Mayhew, T. M., 2001; Baviera, G., 2002; Шкуратова, И. А., 2004; Стрижаков, А. Н., 2015; Lee, S.K., 2013). Достоверным признаком нарушения плацентарной взаимосвязи служит наличие определенного титра антител в материнском организме. Уровень антител влияет на внутриутробное развитие, а его увеличение или нестабильность приводит к пренатальным потерям в ранние периоды онтогенеза. На фоне значительного изменения титра изоиммунных антител могут возникать реакции антиген–антитело (Петров, Р. В., 1982-1988; Пасман, Н. М., 2002; Осина, Л. М., 2008; Duckitt, K., 2011; Lashley, E. E., 2013; Путилова, Н. В., 2017). Если данная реакция возникает, то происходит выкидыш или рождение мертвого (нежизнеспособного) плода у первородящих животных чаще. При повторной (последующих) беременности степень изоиммунизации увеличивается в связи с имеющимися дефектами в трансплацентарном барьере.

При воздействии на организм происходит активация гумморального звена иммунной системы. С первых недель внутриутробного развития и до родов в материнском организме запускается ряд иммунных реакций, направленных на развитие супрессорного действия в отношении развивающегося плода. Полноценная беременность зависит от иммунобиологического гомеостаза (Chisolm, G.M., 2000; Odegard, R. A., 2001; Steinborn, A., 2001; Frater-Schroder, M., 2007; Момот, А.П., 2014). Этим обусловлено выявление состояний и методов иммуннокоррекции с ранних сроков взаимоотношений в функциональной системе «мать-плацента-потомство».

2.2.1.1 ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ ОРГАНИЗМА БЕРЕМЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Опыт проведен для выявления иммунного ответа на повышенную антигенную нагрузку. Целью является оценка иммунокомпетентного ответа, для этого животным вводили двукратно вирус вакцины Ауэски (штамм «ГНКИ») с интервалом 12-21 день в дозе 10^4 ЛКД₅₀ – 10^{12} ЛКД₅₀/см³ на 1 кг массы тела. Для исследования иммунного ответа на антигены штамма вирус вакцины Ауэски вводят также двукратно одновременно с этими антигенами в обозначенной дозировке и интервале. Иммунологическую реактивность на вводимые антигены оценивали путем кратного повышения суммарной дозы вирусного антигена 10^4 ТЦД₅₀, а введение осуществляли одно, двух или трехкратно с интервалом 20 дней.

Интенсивность иммунного ответа оценивали по фагоцитарному показателю, фагоцитарному числу и по показателям макрофагальной трансформации мононуклеаров (ПМТМ).

Для опыта были отобраны 3 группы особей (общее количество животных в группе составило 42 свиноматки).

В первой группе проводили инъекцию вирусвакциной однократно в дозе $2,0 \times 10^8$ ЛКД₅₀. Второй группе вирусвакцину вводят двукратно в дозе $3,0 \times 10^{12}$ ЛКД₅₀ на одно введение, третья группа служила контролем, которой вводили дозу $2,0 \times 10^4$ ЛКД₅₀. Полученные данные при двукратном и трехкратном введении вируса свидетельствуют об изменении иммунологической реактивности.

Выраженный эффект наблюдался при двукратном и трехкратном введении вирусвакцины (см. таблица 1). При этом трехкратное введение обеспечивает достоверно увеличение установленных показателей в отношении контроля.

Таблица 1 – Определение кратности введения антигенов

Количество введений	ПМТМ, %	Фагоцитарный показатель, %	Фагоцитарное число
Опытная 1 группа	28,6±0,37	26,1±0,34	5,7±0,09
Опытная 2 группа	38,8±0,51*	34,1±0,40*	9,9±0,16*
Контрольная группа	29,1±0,56	25,8±0,49	5,3±0,12
<i>P ≤ 0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

После второго введения определяли показатель макрофагальной трансформации мононуклеаров, фагоцитарный показатель и фагоцитарное число.

Наиболее выраженную стимуляцию иммунологического статуса животных обеспечивает введение с интервалом 12-21 день. Уменьшение интервала до 8 дней не обеспечивает требуемой стимуляции иммунологического статуса, а увеличение до 24 дней сопровождается явным снижением его показателей. Установлено, что допустимым интервалом является 12-21 день, а оптимальным составляет 15 дней.

Таблица 2 – Определение интервалов введения антигенов

Интервал, дни	ПМТМ, %	Фагоцитарный показатель, %	Фагоцитарное число
8	29,4±0,27	27,4±0,35	6,1±0,11
12	33,2±0,34	31,8±0,42	7,4±0,12
15	38,8±0,51	34,1±0,40	9,9±0,16
18	36,0±0,19	32,7±0,44	9,0±0,15
21	36,2±0,50	33,4±0,05	8,1±0,14
24	31,5±0,17	29,1±0,18	7,6±0,13

Анализ представленных данных (см. таблица 3) показал, что наиболее высокие показатели получены при введении вирусвакцины в дозе 10^4 ТЦД₅₀ – 10^6 ТЦД₅₀ на 1 кг массы тела. При этом введение в меньшей дозе не обеспечивает высокой стимуляции иммунологического статуса, а в больших

дозах – 10^7 ТЦД₅₀, не приводит к существенному повышению стимулирующего эффекта.

Таблица 3 – Определение оптимальной дозы антигена

Доза ТЦД _{50/кг}	ПМТМ, %	Фагоцитарный показатель, %	Фагоцитарное число
10^3	26,0±0,29*	22,4±0,13	5,8±0,06
10^4	31,5±0,37	29,6±0,38	7,4±0,09
10^5	38,8±0,51	34,1±0,04	9,9±0,16
10^6	39,8±0,42	34,0±0,38	9,0±0,14
10^7	39,5±0,19	35,4±0,46	9,8±0,08

Полученные результаты свидетельствуют, что гипериммунизация обеспечивает существенную стимуляцию определяемых показателей.

Для установления эффекта ареактивности через 14 дней после второго введения у животных всех групп определяли уровень вируснейтрализующих антител в реакции нейтрализации и оценивали уровень по макрофагальной трансформации мононуклеаров клеток крови. Статистический анализ показал достоверность различий средних показателей. Титры вируснейтрализующих антител в этой группе животных в 1,9 раза выше, а чем свидетельствует повышение ПМТМ с 26,5±0,28% до 34,1±0,35%. В опытных группах животных средний титр гемагглютинирующих антител был в 2,3 раза ниже относительно контрольной группы (см. таблица 4).

Таблица 4 – Определение эффекта ареактивности у животных

Группа	Средний титр вируснейтрализующих антител (в показателях обратных разведений)	Средний титр гемагглютинирующих антител (в показателях обратных разведений)	Показатель макрофагальной трансформации мононуклеаров, %
Опытная 1 группа	161,0±1,61	194,1±0,85*	26,5±0,28
Опытная 2 группа	145,4±0,93*	228,4±0,11	20,6±0,13*
Контрольная группа	316,6±1,92	325,2±0,25	34,1±0,35
<i>$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Результаты исследований преколостральных сывороток крови поросят представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Специфическая реактивность поросят в зависимости от иммунного фона свиноматок

Серологические реакции, использованные для оценки иммунного фона свиноматок	Количество реагирующих свиноматок	Количество полученных поросят	Изоантител у новорожденных			
			выявлено		отсутствовали	
			гол.	%	гол.	%
РА	18	172	22	12,8	150	87,2
РСК	15	145	28	19,3	117	80,7
<i>$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>						

Данные таблицы показывают, что из общего числа обследованных новорожденных поросят (145 гол.) у 28 гол. (19,31%) в сыворотке крови установлено наличие антител, но результатам РСК. Количество особей, положительно реагирующих в РА было значительно ниже – 12,79% животных. Средние $\lg(x)$ титров антител в значительно превышал аналогичные показания вышеупомянутых серологических реакций.

Обращают на себя внимание результаты исследования специфической реактивности поросят – в зависимости от иммунного фона свиноматок.

Из представленных данных видно, что из свиноматок, исследованных с помощью классических серологических реакций, 33 гол. реагировало, но результатам всех использованных иммунотестов, у 18 гол. антитела против вируса Ауэски обнаружены по РА, а у 15 гол. только по РСК. Наличие антител в преколостральной сыворотке крови выявлено у 50 гол. (18,3%) поросят, полученных от реагирующих свиноматок. У остального поголовья новорожденных (267 гол., или 84,2%), несмотря на выраженный иммунный фон матерей, специфические иммуноглобулины не обнаружены.

Приведенные данные показывают, что свиноматки подвергались изоиммунизации, о чем свидетельствует наличие изоантител у новорожденных до приема молозива. Вероятно, при снижении барьерной

функции плаценты не исключается возможность перехода от матери к плоду изоантител во вторую половину беременности.

На рисунке 2 обобщены результаты лазерной проточной цитометрии маркеров лимфоцитов. Установлено, что лимфоцитов CD4 достоверно меньше у опытных животных ($P < 0,002$). Наблюдается тенденция к повышению уровня CD8 лимфоцитов по сравнению со значением у контрольных особей. Поэтому соотношение CD4/CD8 значительно ниже ($P < 0,05$), что выявляет клеточно-опосредованное подавление иммунитета. Еще одним доказательством в этом отношении является достоверно более низкий уровень ($P < 0,042$) CD56-несущих лимфоцитов - то есть, естественные клетки-киллеры (NK).

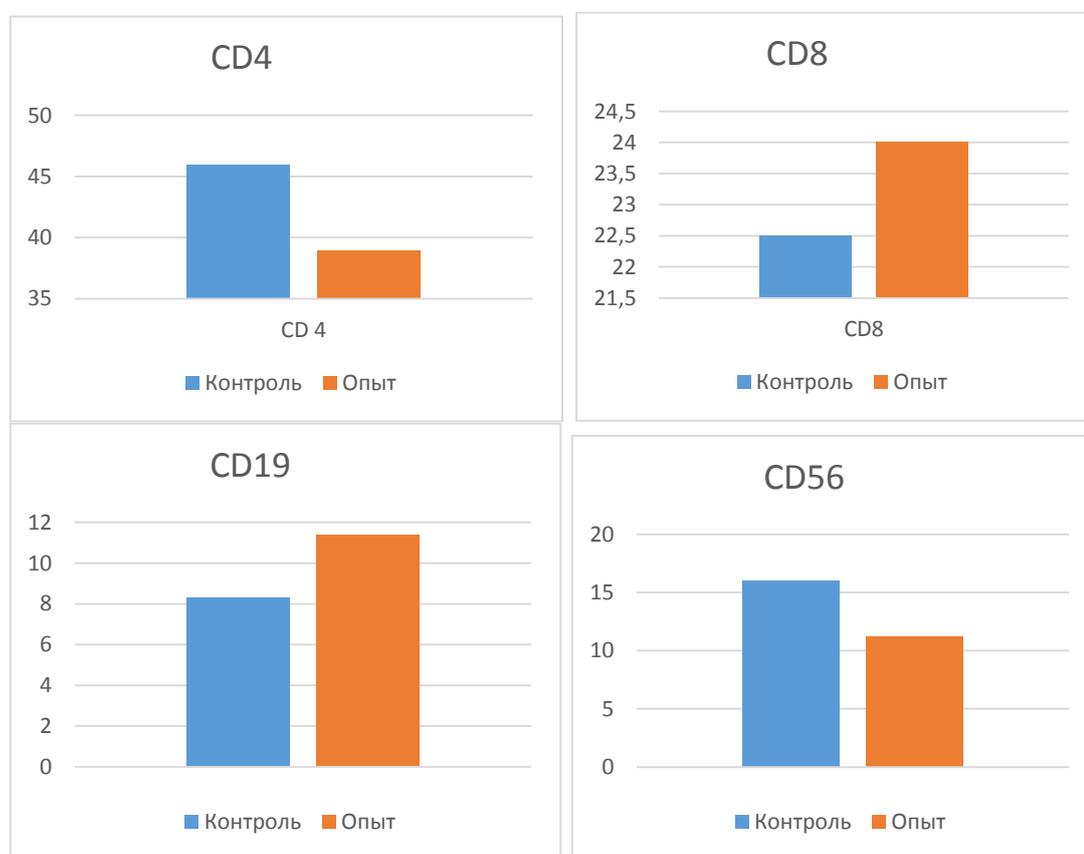


Рисунок 2 – Изменения маркеров лимфоцитов у исследуемых животных

В таблице 6 представлены изменения показателей гуморального иммунитета включенных в исследование особей. Наблюдается положительная динамика по высоким уровням IgG на 29,2%, IgA на 16,1% и IgM на 22,3% у контрольных особей в сравнении с показателями у опытных животных.

Таблица 6 – Уровни иммуноглобулинов у супоросных свиноматок

Показатель	Контроль	Опытная 1 группа	Опытная 2 группа
	n=42	n=42	n=42
IgG, г/л	34,5±0,08	22,1±0,24*	26,7±0,22*
IgA, г/л	19,5±0,01	18,4±0,01	16,8±0,25
IgM, г/л	12,6±0,11	10,7±0,11	10,3±0,17
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Вместе с этим показатели определения рецепторов лимфоцитов у опытной группы с повышенной антигенной нагрузкой характеризовались тенденцией к уменьшению содержания CD3+ (44,8±0,87%), CD4+ (26,3±0,61%), CD8+ (21,8±0,40), CD16+ лимфоцитов (9,2±0,17%) (P<0,001) и повышение уровня CD19+ лимфоцитов (28,2±0,09%, P<0,05) по отношению к показателям особей из группы контроля (см. таблица 7). Выявлено достоверное уменьшение иммунорегуляторного индекса на 1,4 раза относительно контроля (1,36±0,14 ед. и 1,84±0,15 ед. соответственно, P<0,001). У животных со средней антигенной нагрузкой также наблюдалось снижение относительного содержания CD3+ (59,1±0,15%), CD4+ (32,3±0,24%) (P<0,001), CD16+ лимфоцитов (10,4±0,11%, P<0,05) и повышение уровня CD19+ лимфоцитов (22,8±0,83%) по отношению к данным контрольной группы.

Таблица 7 – Уровень содержания рецепторов лимфоцитов у беременных свиноматок

Показатель	Контроль	Опытная 1 группа	Опытная 2 группа
CD3, %	65,2±0,16	59,1±0,15	44,8±0,08*
CD4, %	39,5±0,17	32,3±0,24	26,3±0,61*
CD8, %	25,8±0,10	22,4±0,33	21,8±0,40
CD4/CD8	1,57±0,05	1,42±0,08	1,14±0,02
CD16, %	12,3±0,24	10,4±0,11	6,2±0,17*
CD19, %	15,3±0,31	22,8±0,83	28,2±0,09*
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Снижение иммунорегуляторного индекса у опытных групп вероятно вызвано большим количеством антигенной нагрузки на организм, что делает животных не способными к продукции антител при последующей иммунизации.

Изменение иммунологической реактивности у беременных животных характеризовалось образованием максимального разведения иммунного комплекса (Аг+Ат) с (см. таблица 8). В организме свиноматок с изоантигенами образовывался иммунный комплекс, который связывал весь введенный в реакцию комплемент при разведении сыворотки в разведении 1:10-1:20.

Таблица 8 – Серологическое сравнение изоантител у супоросных свиноматок

Группа животных	Титр антител	
	в РСК	в РА
Опытная 1 группа	1:20-1:40*	1:32-1:64
Опытная 2 группа	1:10-1:20*	1:30-1:42
Контрольная группа	1:640-1:280	1:10-1:24
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>		

Разница в реагировании с антигеном была существенна в опытных группах особей. На основании приведенных данных мы полагаем, что перекрестные реакции при малом разведении свидетельствуют о наличии изоиммунизационного эффекта, но в то же время большая разница в реагировании (1:640-1:280 и 1:20-1:40 в РСК и 1:32-1:64) указывает на существенные изоантигенные нагрузки у потомства.

Контролируя действие аутоантител выявленных у потомства, мы исследовали сыворотку крови подопытных поросят в РСК с материнским антигеном в течение 4 месяцев через каждые 30 дней. Результаты исследований представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Результаты исследования сывороток крови
Свиноматок опытных групп в РСК

№ животного	До родов	Через 30 дней	Через 60 дней	Через 90 дней	Через 120 дней
182	1:320	1:160	1:80	1:10	–
174	1:80	1:80	1:40	1:5	–
245	1:640	1:160	1:80	1:20	–
277	1:640	1:160	1:80	1:20	–
198	1:640	1:80	1:40	1:20	–
184	1:80	1:80	1:40	1:20	–
201	1:160	1:80	1:40	1:5	–
195	1:580	1:160	1:40	1:5	–
137	1:580	1:320	1:80	1:20	–
140	1:320	1:320	1:160	1:80	1:80
<i>*P ≤ 0,05</i>					

Как видно из данных таблицы 10, у опытных поросят комплементсвязывающие антитела исчезли через 30 дней. У опытных животных снижение титров антител наблюдалось сразу после рождения, однако в сыворотке их крови мы обнаруживали антитела в течение 60-90 дней. У поросят, которые еще реагировали по РСК положительно, через 60 дней было обнаружены следы антител. По результатам исследований все поросята опытной группы были отнесены к животным с признаками изоиммунизации в фетальный период.

Таблица 10 – Результаты исследования сывороток крови поросят контрольной группы в РСК

№ животного	После рождения	Через 30 дней	Через 60 дней	Через 90 дней	Через 105 дней
273	1:5	–	–	–	–
269	–	–	–	–	–
551	–	–	–	–	–
279	–	1:10	–	–	–
283	–	–	–	–	–
300	–	–	–	–	–
304	–	1:6	–	–	–
257	–	–	–	–	–
251	–	–	–	–	–
276	–	–	–	–	–
<i>*P ≤ 0,05</i>					

У ряда поросят (17 голов) этой группы титры комплементсвязывающих антител снижались в среднем на 15%, однако не исчезли в течение всего периода наблюдения (4 месяца). В сыворотке крови контрольной группы особей изоантитела в диагностических титрах на протяжении всего периода наблюдения не обнаружены.

В последующих, опытах было установлено, что свиноматки до беременности или в ранние ее сроки, передают состояние специфически сниженной реактивности потомству, причем этого не наблюдалось, у поросят, полученных от самок, не имевших изоиммунный эффект. На основании всех этих данных был сделан вывод, что состояние специфически сниженной реактивности, возникающее у свиноматок после введения им живых вакцин, обусловлено наличием блокирующего фактора при неизменной реактивности популяции иммунокомпетентных клеток (рисунок 3).

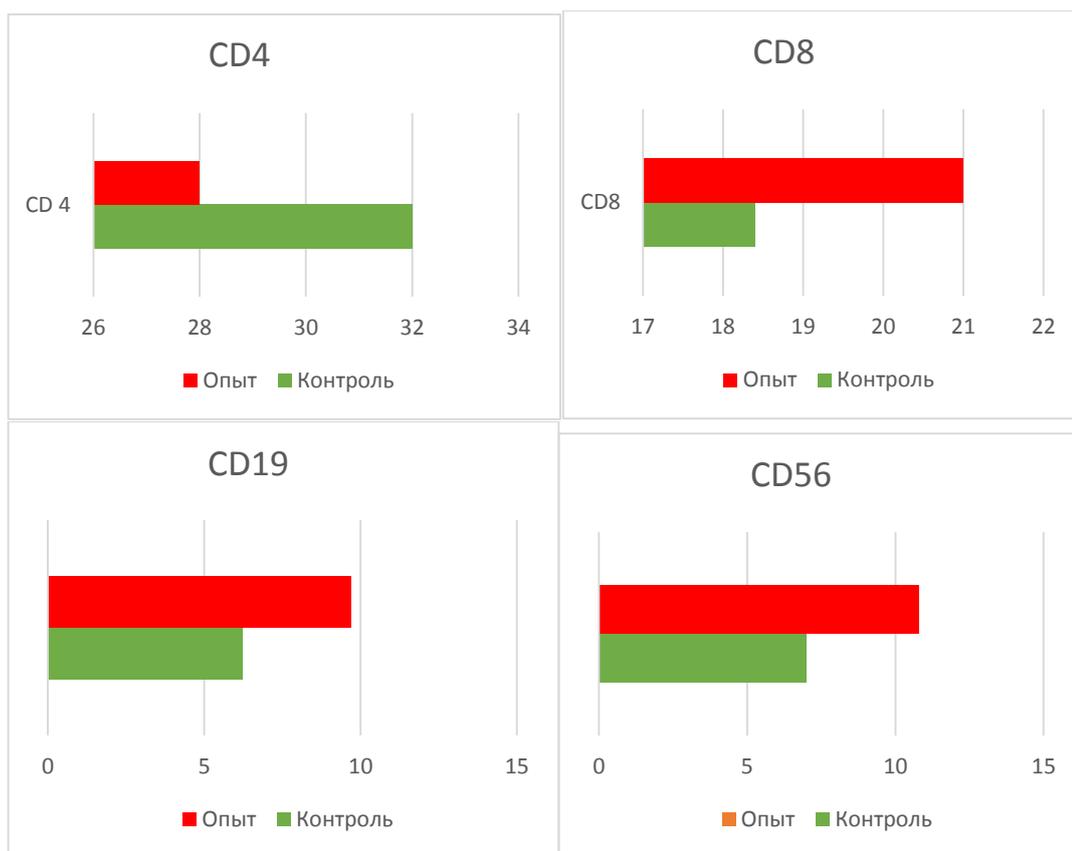


Рисунок 3 – Лимфоцитарные маркеры опытных и контрольных групп

Цитохимический анализ клеток крови потомства опытных групп характеризовался сниженной активностью. По уровню маркеров лимфоцитов в контрольной и опытной группах наблюдались существенные различия

($P < 0,05$). Выявлено различие с тенденцией динамического увеличения CD4 ($P < 0,05$). При этом обнаружено значительное снижение соотношения CD4/CD8 характеризующего клеточно-опосредованное подавление иммунитета. Полученные данные дают основания считать, что состояние специфической реактивности у животных в этих случаях определяется, по крайней мере частично, присутствием в их организме гуморальных блокирующих факторов – изоантител.

У новорождённых контрольной группы результаты цитохимических исследований лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови свидетельствовали об энергоёмкости, что способствовало поддержанию высоких энерготрат в раннем неонатальном периоде на процессы адаптации.

На основании вышесказанного можно сделать вывод о том, что отсутствие титров комплементсвязывающих изоантител у потомства свидетельствует о полноценном развитии фетоплацентарного комплекса во время беременности. Низкие титры и длительно персистирующие изоантитела является причинным фактором нарушения условий плацентации и проявления эффекта изоиммунизации у плода. Изменение иммунологических взаимоотношений функциональной системы «мать-плод» в процессе изоиммунизации является критерием состояния специфической иммунологической реактивности у новорожденных поросят.

Для беременных животных в равной мере опасны как непрерывная интенсивная продукция антител, так и формирование стойкой специфической реактивности, делающей организм беззащитным в случае повторной инфекции тем же микроорганизмом.

Таким образом, между иммунокомпетентными клетками как одинаковой, так и различной специфичности выявлены чрезвычайно сложные связи. В зависимости от дозы и особенностей антигена, от численности отдельных субпопуляций лимфоидных клеток, степени их дифференцировки и конкретных условий либо усиливается, либо ограничивается, либо качественно модифицируется иммунный ответ. Из этого мы наблюдали

феномен конкуренции антигенов, который состоит из подавления иммунного ответа на данный антиген в результате предшествующего или одновременного введения другого антигена.

2.2.1.2 ОЦЕНКА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ БЕРЕМЕННЫХ СВИНОК С ПРИЗНАКАМИ ИЗОИММУНИЗАЦИИ

Сопоставление результатов исследований биохимических показателей крови в течение 30 дней беременности у свиноматок опытных групп (таблица 11) в отношении контрольной группы позволило установить достоверное увеличение показателей лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ), а именно у животных первой группы на 32,2% и 50,2%, а вторая опытная группа животных на 40,4% и 43,8%. Вместе с этим установлено достоверное снижение щелочной фосфатазы в относительных показателях у животных первой опытной группы до $42,7 \pm 0,27$ Ед/л, у второй группы – $37,2 \pm 0,40$ Ед/л по отношению к аналогичным показателям свиноматок контрольной группы. При сравнении величин остальных показателей достоверных различий не установлено.

Таблица 11 – Биохимические показатели крови у беременных свиноматок (30-днев супоросности)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Общий белок, г/л	$81,8 \pm 0,33$	$76,2 \pm 0,95$	$80,3 \pm 0,41$
очевина, мкмоль/л	$6,08 \pm 0,21$	$7,64 \pm 0,60$	$6,51 \pm 0,18$
Креатинин, мкмоль/л	$102,6 \pm 0,79$	$110,2 \pm 0,12$	$104,0 \pm 0,19$
Глюкоза, мкмоль/л	$3,57 \pm 0,67$	$3,58 \pm 0,04$	$3,42 \pm 0,08$
Кальций, мкмоль/л	$4,30 \pm 0,16$	$4,11 \pm 0,40$	$4,08 \pm 0,19$
Магний, мкмоль/л	$1,86 \pm 0,38$	$1,75 \pm 0,02$	$1,70 \pm 0,07$
Фосфор, мкмоль/л	$1,23 \pm 0,77$	$1,42 \pm 0,13$	$1,84 \pm 0,22$
ЛДГ, Ед/л	$162,0 \pm 0,51$	$214,2 \pm 0,15$	$227,5 \pm 0,95^*$
ГГТ, Ед/л	$26,7 \pm 0,23$	$40,1 \pm 0,47^*$	$38,4 \pm 0,11$
Щелочная фосфатаза, Ед/л	$85,8 \pm 0,25$	$42,7 \pm 0,27^*$	$37,2 \pm 0,40^*$
АсТ, Ед/л	$40,3 \pm 0,44$	$40,0 \pm 0,39$	$46,9 \pm 0,17$
АлТ, Ед/л	$24,9 \pm 1,45$	$25,8 \pm 0,68$	$22,2 \pm 0,10$
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

При анализе полученных показателей на 60-день супоросности (таблица 12), отмечается достоверное повышение уровня аспаратаминотрансферазы (АсТ) на 44,1% у животных первой группы и на 54,6% - у второй группы. Выявлено достоверное увеличение показателя аланинаминотрансфераза (АлТ) у свиноматок второй группы в отношении животных контрольной группы, который составил $48,0 \pm 0,75$ Ед/л. Также в установленный период в сыворотке крови наблюдается достоверное ($P < 0,05$) снижение содержания общего белка у животных первой группы на 41,7%.

У подопытных животных (таблица 12) в сыворотке крови в среднем количество глюкозы составляло $1,86 \pm 0,22$ и $1,13 \pm 0,06$, мочевины $6,28 \pm 0,68$ и $6,03 \pm 0,35$.

Таблица 12 – Биохимические показатели крови у беременных свиноматок (60-дней супоросности)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Общий белок, г/л	$80,1 \pm 1,98$	$67,2 \pm 1,77$	$56,5 \pm 1,06^*$
Мочевина, мкмоль/л	$4,96 \pm 0,57$	$3,74 \pm 0,68^*$	$3,48 \pm 0,35^*$
Креатинин, мкмоль/л	$95,4 \pm 1,07$	$88,9 \pm 0,73$	$81,0 \pm 0,66$
Глюкоза, мкмоль/л	$2,19 \pm 0,08$	$1,80 \pm 0,22$	$1,53 \pm 0,06$
Кальций, мкмоль/л	$4,12 \pm 0,79$	$4,77 \pm 0,03$	$4,04 \pm 0,50$
Магний, мкмоль/л	$1,46 \pm 0,03$	$1,29 \pm 0,02$	$1,02 \pm 0,16$
Фосфор, мкмоль/л	$3,01 \pm 0,08$	$3,03 \pm 0,12$	$2,91 \pm 0,11$
ЛДГ, Ед/л	$126,4 \pm 0,81$	$174,8 \pm 0,22^*$	$162,0 \pm 0,36^*$
ГГТ, Ед/л	$17,8 \pm 0,15$	$18,5 \pm 0,29$	$22,9 \pm 0,30^*$
Щелочная фосфатаза, Ед/л	$57,4 \pm 0,50$	$98,0 \pm 0,12^*$	$100,3 \pm 0,74^*$
АсТ, Ед/л	$39,7 \pm 0,83$	$57,2 \pm 0,68^*$	$61,4 \pm 0,99^*$
АлТ, Ед/л	$30,4 \pm 0,42$	$37,4 \pm 0,41$	$48,0 \pm 0,75^*$
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Так среди свиноматок второй опытной группы отмечалось максимальное снижение количество глюкозы на 43,1%, и мочевины на 42,5% по сравнению с исходными показателями. В первой опытной группе животных получены несколько иные результаты. У свиноматок данной группы наблюдалось увеличение количества глюкозы на 21,6%, мочевины на 32,6%, по сравнению с показателями животных из контрольной группы.

Учитывая, что определение ферментных систем крови является чувствительным и тонким индикатором возникновения патологических процессов в организме, активность аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ) имела существенные различия на 90 день супоросности (таблица 13).

Таблица 13 – Биохимические показатели крови у беременных свиноматок (90-дневной супоросности)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Общий белок, г/л	91,6±0,48	87,3±1,12	90,0±0,69
Мочевина, мкмоль/л	3,09±0,33	2,87±0,01	2,62±0,07
Креатинин, мкмоль/л	140,4±0,96	119,0±1,55	133,0±0,80
Глюкоза, мкмоль/л	0,68±0,11	0,52±0,04	0,46±0,01
Кальций, мкмоль/л	5,08±0,06	4,82±0,23	4,96±0,26
Магний, мкмоль/л	2,17±0,16	1,95±0,23	1,80±0,21
Фосфор, мкмоль/л	2,62±0,08	2,24±0,20	3,05±0,31
ЛДГ, Ед/л	109,3±0,49	290,1±1,08	276,0±1,23
ГГТ, Ед/л	27,6±0,81	37,5±0,95	28,0±0,68
Щелочная фосфатаза, Ед/л	59,5±0,70	112,4±0,88	96,0±0,20
АсТ, Ед/л	34,0±0,12	50,7±0,28*	49,6±0,33*
АлТ, Ед/л	37,5±0,54	51,3±0,68*	54,0±0,46*
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Из полученных данных следует, что активность АсТ в первой опытной группе возрастала относительно аналогичных показателей контроля на 49,1% ($P<0,05$), а во второй опытной группе на 45,8% и находилась в таком состоянии почти без изменений до конца опыта. АлТ к 90-м суткам супоросности увеличивалась на 36,8% у животных первой группы, на 44,0% у свиноматок второй группы на 42,3% ($P<0,05$).

Биохимические показатели крови свиноматок анализируемых групп после родов (таблица 14) имели существенные различия по содержанию ЛДГ и ГГТ, которые в относительных показателях у животных первой опытной группы на превышали контроль. Как показали проведенные исследования, в первой опытной группе животных количество общего белка к 90-м суткам снизилось в среднем на 19 % ($P<0,05$) от исходного уровня и не изменялось до конца опыта.

Таблица 14 – Биохимические показатели крови у свиноматок (после родов)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Общий белок, г/л	70,1±0,93	66,4±0,75	68,2±0,29
Мочевина, мкмоль/л	3,88±0,11	2,42±0,15	2,16±0,17
Креатинин, мкмоль/л	150,6±0,98	130,7±1,02	135,2±1,14
Глюкоза, мкмоль/л	3,80±0,20	3,22±0,14	3,27±0,22
Кальций, мкмоль/л	2,29±0,12	1,98±0,28	1,84±0,16
Магний, мкмоль/л	1,11±0,19	1,03±0,02	1,17±0,22
Фосфор, мкмоль/л	2,36±0,01	2,21±0,15	2,12±0,06
ЛДГ, Ед/л	111,0±0,35	138,5±0,04*	194,2±1,03*
ГГТ, Ед/л	31,2±0,79	60,1±0,22*	67,3±0,11*
Щелочная фосфатаза, Ед/л	84,2±0,23	162,9±0,99*	154,0±0,50*
АсТ, Ед/л	46,0±0,61	53,0±0,16	57,0±0,20
АлТ, Ед/л	32,8±0,66	46,6±0,33	45,3±0,51

* $P\leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой

Достоверное изменение уровня щелочной фосфатазы согласуется с понижением ферментативной активности, что влечет за собой изменение процесса гидролиза липидов. Активность щелочной фосфатазы после родов увеличивалась у животных опытных групп на 44,9% и 60,4% ($P < 0,05$) к предыдущему периоду.

Динамика изменений общего белка у животных опытных групп животных отражает состояние белкового обмена при патологических изменениях и указывает на иммунологическую перестройку с образованием антител.

В результате исследований установлено, что снижение содержания глюкозы в крови вызвано, нарушением синтетической способности печени. Увеличение содержания мочевины, вероятно, связано с понижением окислительных способностей тканей и нарушением ресинтеза молочной кислоты в гликоген.

Результаты проведенных биохимических исследований сыворотки крови свидетельствуют о том, что состояние и направленность углеводного, белкового обмена веществ (ЛДГ, ГГТ), ферментного спектра (АсТ, АлТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), у опытных животных существенно изменяются. Наиболее значительные изменения наблюдаются у свиноматок во вторую половину беременности.

Увеличение активности трансаминаз в сыворотке крови мы рассматриваем как ранний показатель печеночного цитолитического синдрома, свидетельствующего о нарушении белково-синтезирующей функции печени. Возрастание активности ЩФ и общей ЛДГ свидетельствует об активации процессов гликолиза.

В ходе исследований существенных различий в величине гематологических показателей у свиноматок опытных и контрольной групп на 30-день супоросности не было установлено. Во всех исследованных группах животных количество лейкоцитов и эритроцитов в крови соответствовало нормативным показателям для здоровых животных (таблица 15). Однако в

крови животных первой опытной группы лейкоцитов было больше на 12,1%, а во второй на 19,1%, по сравнению со свиноматками контрольной группы. Наряду с этим было отмечено повышение эритроцитов в абсолютных величинах у первой опытной группы до $6,09 \pm 0,26 \times 10^{12}/л$ и у второй опытной группы до $6,34 \pm 0,61 \times 10^{12}/л$ в отношении контроля. По содержанию гемоглобина существенных различий не было установлено.

Таблица 15 – Гематологические показатели крови у беременных свиноматок (30-днев супоросности)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Лейкоциты (WBC), $10^9/л$	21,2±0,08	18,9±0,22	17,8±0,15
Гранулоциты (GRA), %	27,1±0,32	28,8±0,22	28,5±0,38
Лимфоциты (LYM), %	13,4±0,09	14,3±0,23	13,6±0,78
Моноциты (MON), %	2,4±0,08	2,7±0,02	2,1±0,33
Гранулоциты (GRA), $10^9/л$	5,7±0,42	6,7±0,60	6,0±0,03
Эритроциты (RBC), $10^{12}/л$	7,08±0,24	6,09±0,26	6,34±0,61
Гемоглобин (HGM), г/л	136,7±1,36	135,0±0,22	140,5±0,61
Гематокрит (HCT), %	0,486±0,01	0,454±0,02	0,432±0,08
Средний объем эритроцитов (MCV), fl	60,4±0,93	61,2±0,58	60,1±0,19
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), pg	19,0±0,40	20,5±0,93	19,1±0,32
Среднее концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	310,0±1,89	306,0±1,54	314,0±1,47
Распределение эритроцитов по объему (RDW), %	19,8±0,17	19,5±0,87	20,1±0,38
Распределение эритроцитов по объему (RDW-SD), fl	42,0±1,02	45,8±0,85	47,9±1,11
Тромбоциты (PLT), $10^9/л$	199,1±2,83	203,0±0,14	205,4±0,18
Средний объем тромбоцита (MPV), fl	10,7±0,92	10,2±0,08	10,6±0,12
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

На 60 день установлена достоверная разница в количестве эритроцитов и содержании гемоглобина у опытных свиноматок со второй группы по отношению к контролю (см. таблица 16).

Во второй опытной группе свиноматок количество эритроцитов было равно $5,46 \pm 0,08 \times 10^{12}/л$, а содержание гемоглобина составило $121,0 \pm 0,54$ г/л, что на 36,9% и на 45,1% ниже контрольной группы ($P < 0,05$). В первой опытной группе свиноматок существенных различий не установлено при этом отмечены сниженные показатели эритроцитов на 18,4% и гемоглобина на 28,7%.

Таблица 16 – Гематологические показатели крови у беременных свиноматок (60-дней супоросности)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Лейкоциты (WBC), $10^9/л$	22,5±0,05	24,8±0,14	21,3±0,81
Гранулоциты (GRA), %	33,4±0,18	33,9±0,56	36,5±0,24
Лимфоциты (LYM), %	13,1±0,44	12,8±0,43	15,6±0,26
Моноциты (MON), %	2,8±0,22	2,2±0,01	3,7±0,19
Гранулоциты (GRA), $10^9/л$	5,9±0,93	6,2±0,31	7,4±0,85
Эритроциты (RBC), $10^{12}/л$	7,48±0,86	6,19±0,22	5,46±0,08*
Гемоглобин (HGM), г/л	148,0±1,24	115,0±0,30	102,0±0,54*
Гематокрит (HCT), %	0,456±0,03	0,439±0,05	0,417±0,02
Средний объем эритроцитов (MCV), fl	60,1±0,77	62,9±0,12	63,7±0,65
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), pg	18,6±0,84	18,8±0,19	19,5±0,27
Среднее концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	322,1±2,34	318,5±2,54	327,0±1,69
Распределение эритроцитов по объему (RDW), %	20,4±0,14	20,9±0,02	21,4±0,21
Распределение эритроцитов по объему (RDW-SD), fl	44,7±0,88	48,8±1,08	44,0±0,24
Тромбоциты (PLT), $10^9/л$	201,4±0,25	200,1±0,85	196,7±2,80
Средний объем тромбоцита (MPV), fl	10,0±0,33	9,1±0,88	9,3±0,04
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

При анализе корреляционной зависимости между показателями изоиммунизации и морфологическими показателями крови установлена прямая взаимосвязь, а именно с количеством эритроцитов у первой опытной группы $r=0,38$ и у второй опытной группы $r=0,41$.

Исследование гематологических показателей у беременных свиноматок на 90-день беременности (см. таблица 17) свидетельствуют о том, что состояние изоиммунизации влияет на определенные показатели морфологической оценки крови.

Таблица 17 – Гематологические показатели крови у беременных свиноматок (90-дней супоросности)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Лейкоциты (WBC), 10^9 /л	24,3±0,47	18,9±0,23	17,5±0,85*
Гранулоциты (GRA), %	32,2±0,06	33,5±0,93	31,7±0,28
Лимфоциты (LYM), %	13,5±0,87	9,1±0,11*	10,2±0,52
Моноциты (MON), %	2,5±0,01	2,4±0,31	3,2±0,16
Гранулоциты (GRA), 10^9 /л	6,3±0,06	7,1±0,04	7,6±0,59
Эритроциты (RBC), 10^{12} /л	7,08±0,35	6,59±0,05	7,22±0,71
Гемоглобин (HGM), г/л	134,0±0,54	126,4±1,61	122,0±1,21
Гематокрит (HCT), %	0,433±0,07	0,419±0,01	0,402±0,04
Средний объем эритроцитов (MCV), fl	59,7±0,41	58,5±0,33	69,1±0,58
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), pg	20,4±0,26	19,4±0,66	19,7±0,57
Среднее концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	322,4±0,58	329,9±3,55	324,0±0,77
Распределение эритроцитов по объему (RDW), %	20,6±0,82	20,2±0,19	22,3±0,99
Распределение эритроцитов по объему (RDW-SD), fl	42,9±0,42	46,1±0,46	47,2±0,43
Тромбоциты (PLT), 10^9 /л	138,3±0,06	132,0±0,21	122,0±1,99
Средний объем тромбоцита (MPV), fl	9,5±0,03	9,0±0,97	9,3±0,88
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

В ходе исследований были установлены различия между группами животных по количеству и процентному содержанию лимфоцитов. Так у контрольной группы свиноматок количество лимфоцитов и относительное процентное содержание были выше, чем у животных первой опытной группы на $4,40±0,22×10^9$ /л и на 48,3%. Вторая группа свиноматок уступала по данным

показателям животным контрольной группы на $3,30 \pm 0,14 \times 10^9/\text{л}$ по относительному процентному содержанию на 32,4% соответственно.

После родов у свиноматок наблюдались достоверные различия по количеству лимфоцитов. Общее количество лимфоцитов у животных первой опытной группы лимфоциты составляло $14,6 \pm 0,36$, у свиноматок второй опытной группы - $12,3 \pm 0,28$, что было меньше по сравнению с животными контрольной группы на 28,1% и 40,6% соответственно. Содержание гранулоцитов имело тенденцию к повышению у контрольных животных и составило $32,2 \pm 0,66\%$. У опытных групп животных данный показатель находился в пределах от $24,3 \pm 0,70\%$ до $23,1 \pm 0,59\%$. Во всех группах свиноматок эмпирический критерий достигал значимого порога вероятности.

Таблица 18 – Гематологические показатели крови у свиноматок (после родов)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Лейкоциты (WBC), $10^9/\text{л}$	$18,7 \pm 0,70$	$14,6 \pm 0,36$	$13,3 \pm 0,28^*$
Гранулоциты (GRA), %	$32,2 \pm 0,66$	$24,3 \pm 0,70^*$	$23,1 \pm 0,59$
Лимфоциты (LYM), %	$10,7 \pm 0,88$	$8,9 \pm 0,71$	$9,4 \pm 0,15$
Моноциты (MON), %	$2,9 \pm 0,05$	$3,6 \pm 0,06$	$3,9 \pm 0,04$
Гранулоциты (GRA), $10^9/\text{л}$	$5,4 \pm 0,75$	$5,6 \pm 0,53$	$6,6 \pm 0,14$
Эритроциты (RBC), $10^{12}/\text{л}$	$6,43 \pm 0,39$	$5,74 \pm 0,16$	$5,50 \pm 0,28$
Гемоглобин (HGM), г/л	$132,0 \pm 0,39$	$129,4 \pm 0,75$	$114,8 \pm 0,22$
Гематокрит (HCT), %	$0,392 \pm 0,09$	$0,376 \pm 0,01$	$0,345 \pm 0,08$
Средний объем эритроцитов (MCV), fl	$59,8 \pm 0,66$	$68,1 \pm 0,44$	$70,6 \pm 0,94$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), pg	$19,1 \pm 0,18$	$20,7 \pm 0,22$	$22,9 \pm 0,14$
Среднее концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	$321,0 \pm 1,05$	$314,6 \pm 0,21$	$319,1 \pm 0,36$
Распределение эритроцитов по объему (RDW), %	$18,2 \pm 0,88$	$19,7 \pm 0,20$	$20,5 \pm 0,17$
Распределение эритроцитов по объему (RDW-SD), fl	$43,6 \pm 0,47$	$48,9 \pm 0,97$	$47,5 \pm 0,24$
Тромбоциты (PLT), $10^9/\text{л}$	$237,8 \pm 1,21$	$230,2 \pm 0,22$	$221,4 \pm 0,87$
Средний объем тромбоцита (MPV), fl	$9,8 \pm 0,22$	$10,9 \pm 0,17$	$11,2 \pm 0,88$
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Таким образом, состояние изоиммунизации у свиноматок негативно отражается на уровне их гематологических показателей. Количество эритроцитов, содержание гемоглобина и количество лимфоцитов для исследуемых животных в послеродовой период играют исключительное значение, так как особенности морфологической картины крови у материнского организма влияют на функциональное состояние, выполняя важную роль в устойчивости к действию биотических и абиотических факторов.

2.2.1.3 ЗАКОНОМЕРНОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ У ПОТОМСТВА, ПОЛУЧЕННОГО ОТ МАТЕРЕЙ ПРИ ИЗОИММУНИЗАЦИИ

Нами разработан способ оценки иммунологической реактивности на конкретных примерах в исследуемых группах животных. Основным направлением способа является определение иммунологической реактивности организма животных, с целью более релевантной оценки клеточно-опосредованной иммунологической реактивности по реакции НСТ-теста крови материнского организма в присутствии сыворотки крови новорожденного животного. Данный способ увеличивает скорость, упрощает и повышает точность прогнозирования развития новорожденного организма.

Данный технический результат достигается путем оценки адсорбирующей способности эритроцитов при инкубации в растворе Хэнкса. (80 % раствор смеси). Инкубацию проводят с интервалом времени от 30 минут до 3 часов. Показатели адсорбционной способности устанавливали по степени угнетения НСТ-теста компетентными клетками (нейтрофилами). Наиболее активное подавление иммуносупрессорных свойств установлено при падении биологической активности в НСТ-тесте до 40%, что связано с пределом рецепторной емкости данных клеток и по показателям их сорбционной активности – более 40%, таких животных относят к особям со сниженной иммунологической реактивностью среди однородной выборки.

Полученные результаты свидетельствуют о значительной вариабельности в зависимости от групп животных, использованных при исследовании (таблица 19). Сорбционная активность эритроцитов у контрольной группы особей характеризуется незначительным падением биологической активности в НСТ-тесте до 40%. Более выраженное падение сорбционной активности установлено в опытных группах из-за изменения содержания белков, повышения эластичности, снижения прочности и иммунологической активности.

Таблица 19 – Определение иммунологической реактивности организма животных

Исследуемый параметр	Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Подавление НСТ-активности	10,5±0,11	35,6±0,21*	22,8±0,02*
Сорбционная активность эритроцитов в НСТ-тесте %	49,8±0,23	64,2±0,15	61,8±0,01
Подавление фагоцитоза, %	10,5±0,21	18,3±0,12	20,9±0,01*
Сорбционная способность в фагоцитарном тесте %	42,5±0,18	52,7±0,03	60,7±0,08*
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Интенсивность иммунологических реакций зависит от клеточного пула и организма в целом – его реактивности. Это подтверждается полученными результатами об индивидуальных различиях оценки иммунологической реактивности поросят экспериментальных групп, которые представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Показатели иммунологической реактивности поросят

Показатели	Единица измерения	Группа животных		
		Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Индекс реактивности	–	0,77 ±0,06	0,60±0,06	0,52±0,06
Титр изоантител	log x	0,18 ±0,03	1,02±0,12*	1,86±0,03*
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>				

Как видно из таблицы 20, различия по показателю иммунологической реактивности опытных и контрольной группы поросят были статистически достоверны. В опытной группе животных индекс иммунологической реактивности не превышал значение 0,60, а в контрольной – 0,77. Значение критерия разности средних величин составило 2,04 при вероятности суждения $P < 0,05$.

При оценке иммунологической реактивности было установлено, что группы животных значительно отличались между собой по этому показателю (таблица 21).

Таблица 21 – Особенности иммунологической реактивности

Группа животных	Кол-во животных	Иммунологическая реактивность		
		M±m	G	Cv
Контрольная	42	0,459±0,030	0,299	45,1
Опытная 1 группа	42	0,319±0,020	0,216	98,6
Опытная 2 группа	42	0,237±0,054*	0,247	86,2
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>				

У первой группы опытных животных индекс иммунологической реактивности был ниже на 30,5%, а во второй на 48,7%, чем в контрольной, а дисперсия этого показателя составила 0,216-0,247 соответственно. Коэффициент вариации (Cv) индекса иммунологической реактивности у опытных особей составил от 86,2 - 98,6%, а у контроля не превышал 45,1%.

Установлены также различия по характеру распределения величины индекса иммунологической реактивности (таблица 22).

Таблица 22 – Распределение величины индекса иммунологической реактивности

Группа животных	Кол-во животных	Распределение частот индекса реактивности в %	
		менее величины M	более величины M
Контрольная группа	42	38,9±0,02	61,1±0,33
Опытная 1 группа	42	59,4±0,14	40,6±0,72
Опытная 2 группа	42	61,5±0,42*	38,5±0,25
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

У большинства свиноматок опытных групп (51,4%) индекс иммунологической реактивности был ниже средней величины данного показателя по группе.

Сопоставление величин индекса иммунологической реактивности у свиноматок и новорожденных поросят позволило установить наличие корреляционной зависимости, которая была наиболее выражена в суточном возрасте. Величина рангового коэффициента корреляции составила 0,493.

Значение индекса иммунологической реактивности у отдельных животных было ниже нуля (с отрицательным знаком) – их относили к ареактивным животным. Число таких животных среди первой опытной группы было 14,7%, а среди поросят второй опытной группы составило 18,3%. Различия между группами по числу ареактивных животных весьма существенны и составили 14,1%.

При оценке иммунологической реактивности были установлены средние значения индекса и пределы колебания иммунного состояния особей (таблица 23).

Таблица 23 – Результаты оценки иммунологической реактивности поросят

Показатели	Количество голов	Процент особей	Средние значения индекса реактивности
Всего исследовано	172	100	0,47±0,02
Выявлено животных:			
с повышенной реактивностью	65	37,88	0,79±0,06
с пониженной реактивностью	72	41,80*	0,20±0,02*
со средней реактивностью	35	20,32	0,50±0,04
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

У животных, ослабленных воздействием процессов изоиммунизации, индекс иммунологической реактивности находился ниже средних значений и составил 0,20±0,02, характерных для общей группы. Среди них выявлено животных, проявляющих пониженную реактивность 37,88%. Различия между группами статистически достоверны с высокой вероятностью суждения (P<0,05). Среди новорожденных животных опытных групп ареактивные особи встречались значительно чаще.

Анализ полученных данных отчетливо показал индивидуальные различия поросят по иммунореактивности, учитывая разницу между титрами изоантител, который варьировал от 0,699 до 2,505.

Как показано в таблице 24, средний титр изоантител по первой опытной группе составил $1,505 \pm 0,055$, по второй опытной группе – $1,649 \pm 0,066$, по контрольной – $0,294 \pm 0,098$. Коэффициент вариации (Cv) был равен 29,0%, что указывает на большую изменчивость признака в зависимости от степени изоиммунизации.

Таблица 24 – Влияние изоиммунизации на иммунологическую реактивность потомства

Группы	Количество животных	Титр антител	Показатель реактивности	Cv
Контрольная группа	42	$0,294 \pm 0,098$	0,437	29,0%
Опытная 1 группа	42	$1,505 \pm 0,055^*$	0,431	25,6%
Опытная 2 группа	42	$1,649 \pm 0,066^*$	0,448	23,1%
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>				

Высоко отреагировали увеличением титра изоантител 25% группы на 1,400 из опытных групп. Показали себя слабыми продуцентами изоантител (увеличение титра менее 0,500) 28% животных из контрольной группы. Остальные животные заняли промежуточное положение.

2.2.1.4 ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОРОСЯТ ПРИ ИЗОИММУНИЗАЦИИ

Полученные экспериментальные данные (таблица 25) показывают, что существенное влияние на биохимические показатели поросят оказали установленные изоиммунизационные процессы у свиноматок. В ходе исследований наблюдалась гипогликемия у поросят опытных групп, которая рассмотрена как фактор риска заболеваемости и падежа поросят в пометах от клинически здоровых свиноматок.

Таблица 25 – Биохимические показатели крови у исследуемых поросят (новорожденные)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Общий белок, г/л	70,5±0,10	55,2±0,04	59,0±0,06
Мочевина, мкмоль/л	2,14±0,01	2,06±0,32	1,94±0,08
Креатинин, мкмоль/л	80,4±0,84	78,6±0,91	62,0±1,68
Глюкоза, мкмоль/л	6,02±0,39	6,52±0,17	5,36±0,51
Кальций, мкмоль/л	1,30±0,02	1,05±0,08	1,24±0,11
Магний, мкмоль/л	0,97±0,06	0,91±0,01	0,55±0,12
Фосфор, мкмоль/л	2,36±0,09	2,33±0,37	2,05±0,01
ЛДГ, Ед/л	90,0±0,25	85,9±1,45	88,2±0,36
ГГТ, Ед/л	9,4±0,07	10,2±0,21	8,6±0,65
Щелочная фосфатаза, Ед/л	21,8±0,08	22,6±0,30	30,4±0,15
АсТ, Ед/л	22,0±0,14	24,0±0,38	20,0±0,26
АлТ, Ед/л	20,3±0,02	30,1±0,91*	30,8±0,08*
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

С момента рождения в первые 5 дней неонатального периода в опытных группах поросят наблюдали достоверное повышение активности АлТ, в частности у первой опытной группы - до 30,1±0,91 Ед/л (выше на 48,2%), а у второй группы - до 31,7±0,08 Ед/л (выше на 51,7%), что может свидетельствовать об интоксикации новорожденного организма.

Существенно изменились показатели общего белка в сыворотке крови: у животных обеих опытных групп они были снижены на 27,7% и 19,5%, по отношению к контролю соответственно.

Учитывая, что глюкоза и мочевина тесно взаимосвязаны в белковом обмене веществ организма, мы различий в концентрациях данных показателей практически не обнаружили у поросят до отъема. Следует также отметить, что уровни данных показателей были несколько выше у поросят контрольной группы. После отъема поросят с 2-х месячного возраста были выявлены существенные различия в концентрации мочевины (таблица 26).

Таблица 26 – Биохимические показатели крови у исследуемых поросят (3-месяца)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Общий белок, г/л	82,3±0,81	76,9±0,35	74,5±0,42
Мочевина, мкмоль/л	2,11±0,03	2,54±0,22	2,79±0,54
Креатинин, мкмоль/л	97,2±0,27	164,0±1,20	109,5±0,63
Глюкоза, мкмоль/л	7,75±0,01	7,68±0,15	7,21±0,08
Кальций, мкмоль/л	2,27±0,62	2,22±0,11	2,18±0,07
Магний, мкмоль/л	1,44±0,03	1,32±0,29	1,39±0,10
Фосфор, мкмоль/л	2,75±0,21	3,69±0,04	3,50±0,34
ЛДГ, Ед/л	116,5±1,92	224,0±1,87	153,1±1,06
ГГТ, Ед/л	13,8±0,23	15,6±0,74	18,3±0,22
Щелочная фосфатаза, Ед/л	66,3±0,21	41,1±0,36	52,8±0,22
АсТ, Ед/л	26,0±0,20	32,7±0,18	34,4±0,46*
АлТ, Ед/л	24,3±0,86	33,3±0,03*	31,2±1,55*
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

В связи с тем, что у опытных групп после отъема снизилась концентрация этого показателя крови по отношению к среднему уровню в каждой опытной группе до отъема на 30,9% и 30,3% соответственно, следует утверждать о напряженности обменных реакций у данных животных.

После отъема в 3 месячном возрасте концентрация мочевины была выше у поросят опытных групп на 20,4% и 32,2% по сравнению с контрольными особями. Изучение коррелятивной зависимости между количеством общего белка и содержанием мочевины показало, что в возрасте поросят 3 месяца концентрация мочевины находится в прямой связи с уровнем общего белка ($r=0,43$; $r=0,53$; $r=0,49$).

Ферментативная активность АсТ и АлТ характеризовалась снижением в 3 месяца у поросят первой опытной группы (таблица 26). Активность АсТ и АлТ у молодняка второй и контрольной групп, была достоверно выше и составила в первой группе АсТ – $32,7 \pm 0,18$ Ед/л, АлТ – $33,3 \pm 0,03$ Ед/л, во второй группе АсТ – $34,4 \pm 0,46$ Ед/л, АлТ – $31,2 \pm 1,55$ Ед/л ($P > 0,05$) соответственно.

Повышение уровня белковой фракции у особей контрольной группы связано с оптимальным количеством специфических иммунных тел, поэтому можно полагать, что в данный возрастной период у молодняка свиней происходит усиление иммунологического ответа на всевозможные антигены.

Концентрация щелочной фосфатазы в 6-месячном возрасте была ниже у подсвинков контрольной группы (таблица 27), чем у животных опытных групп соответственно на 35,5% первой и 46,3% второй группы.

Таблица 27 – Биохимические показатели крови у исследуемых поросят (6-месяцев)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Общий белок	$88,5 \pm 2,08$	$83,5 \pm 0,04$	$82,4 \pm 1,23$
Мочевина	$5,83 \pm 0,16$	$6,49 \pm 0,94$	$6,55 \pm 0,31$
Креатинин	$166,0 \pm 0,62$	$179,1 \pm 1,72$	$182,5 \pm 0,21$
Глюкоза	$3,64 \pm 0,48$	$2,98 \pm 0,19$	$2,77 \pm 0,17$
Ca ²⁺	$2,22 \pm 0,19$	$2,25 \pm 0,36$	$2,17 \pm 0,38$
Mg ²⁺	$3,09 \pm 0,61$	$2,79 \pm 0,38$	$2,80 \pm 0,47$
Фосфор	$7,24 \pm 0,37$	$6,98 \pm 0,23$	$8,04 \pm 0,50$
ЛДГ	$132,8 \pm 1,22$	$102,4 \pm 1,04$	$98,6 \pm 1,39$
ГГТ	$23,6 \pm 0,09$	$17,7 \pm 0,85$	$16,3 \pm 0,21^*$
Щелочная фосфатаза	$39,7 \pm 0,31$	$53,8 \pm 0,15^*$	$58,1 \pm 0,96^*$
АсТ	$74,1 \pm 0,11$	$65,0 \pm 0,10$	$62,0 \pm 0,15$
АлТ	$104,6 \pm 1,26$	$99,0 \pm 0,82$	$101,2 \pm 1,95$
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Регуляторные функции организма непрерывно направлены на поддержание постоянного количества кислотно-основного равновесия. Очевидно, что эти функции недостаточны, чтобы поддерживать гомеостатическую регуляцию в такие экстремальные периоды для животных.

Опытные животные проявляли пониженную реактивность, что было заметно по незначительному увеличению у них щелочная фосфатаза в возрасте 6 месяцев.

По уровню резервной щелочности крови можно судить насколько исследованные животные обеспечены минеральными веществами, каково состояние кислотно-щелочного равновесия и буферных свойств крови.

Содержание кальция в сыворотке крови за период 9 месяцев было стабильным у поросят как опытных, так и контрольной группы ($2,03 \pm 0,12$; $2,21 \pm 0,06$; $2,23 \pm 0,09$ мкмоль/л). Вместе с тем повышение содержания неорганического фосфора наблюдалось только у животных второй опытной группы на 16,7% (таблица 28).

Следует отметить, что в возрасте 9 месяцев ЛДГ активность в сыворотке крови свиней с опытных групп была снижена, по сравнению с животными контрольной группы: у первой опытной группы на 42,1% ($P > 0,99$), у второй – на 23,8% ($P > 0,05$), а ГГТ – на 40,3%, на 29,8%.

Таблица 28 – Биохимические показатели крови у исследуемых поросят (9-месяцев)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Общий белок, г/л	$81,7 \pm 0,76$	$76,7 \pm 0,14$	$79,2 \pm 0,02$
Мочевина, мкмоль/л	$8,09 \pm 0,21$	$6,04 \pm 0,67$	$7,17 \pm 0,25$
Креатинин, мкмоль/л	$163,6 \pm 0,36$	$157,0 \pm 0,24$	$154,8 \pm 0,11$
Глюкоза, мкмоль/л	$0,84 \pm 0,02$	$0,82 \pm 0,13$	$0,97 \pm 0,16$
Кальций, мкмоль/л	$2,23 \pm 0,09$	$2,03 \pm 0,12$	$2,21 \pm 0,06$
Магний, мкмоль/л	$3,86 \pm 0,31$	$2,72 \pm 0,19$	$3,01 \pm 0,22$
Фосфор, мкмоль/л	$7,30 \pm 0,14$	$7,25 \pm 0,10$	$8,52 \pm 0,34$
ЛДГ, Ед/л	$170,5 \pm 1,09$	$120,0 \pm 0,44^*$	$137,7 \pm 0,99^*$
ГГТ, Ед/л	$37,9 \pm 0,27$	$29,2 \pm 0,19$	$27,0 \pm 0,63$
Щелочная фосфатаза, Ед/л	$64,0 \pm 0,36$	$88,4 \pm 1,59$	$93,1 \pm 0,12$
АсТ, Ед/л	$92,5 \pm 1,87$	$62,7 \pm 1,66$	$87,7 \pm 1,04$
АлТ, Ед/л	$88,4 \pm 0,20$	$88,9 \pm 0,36$	$90,1 \pm 0,11$

** $P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой*

Повышение уровня общего белка в сыворотки крови животных контрольной группы и высокая активность ферментов свидетельствуют об более выраженной активизации их обменных процессов. Достоверное увеличение вышеназванных показателей свидетельствует об более выраженном адаптивном потенциале полученного потомства животных контрольной группы.

После рождения у исследуемых групп поросят по показателям морфологического состава крови установлены существенные различия по содержанию гранулоцитов (таблица 29). В лейкоцитарной формуле имеются достоверные различия по содержанию эозинофилов, причем у животных первой опытной группы их количество составило – $8,5 \pm 0,47\%$, а у второй $8,0 \pm 0,16\%$, что на 24,6% и 25,1% выше контроля.

Таблица 29 – Гематологические показатели крови у исследуемых поросят (новорожденные)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Лейкоциты (WBC), $10^9/\text{л}$	$18,2 \pm 0,32$	$17,2 \pm 0,02$	$16,1 \pm 0,56$
Гранулоциты (GRA), %	$5,1 \pm 0,66$	$8,5 \pm 0,47^*$	$8,0 \pm 0,16^*$
Лимфоциты (LYM), %	$8,3 \pm 0,07$	$7,1 \pm 0,28$	$6,8 \pm 0,44$
Моноциты (MON), %	$0,7 \pm 0,14$	$0,5 \pm 0,03$	$0,9 \pm 0,01$
Гранулоциты (GRA), $10^9/\text{л}$	$1,12 \pm 0,11$	$1,9 \pm 0,04$	$1,85 \pm 0,01$
Эритроциты (RBC), $10^{12}/\text{л}$	$3,86 \pm 0,03$	$2,75 \pm 0,07$	$2,66 \pm 0,12$
Гемоглобин (HGM), г/л	$79,2 \pm 0,47$	$80,3 \pm 0,38$	$75,4 \pm 1,56$
Гематокрит (HCT), %	$0,226 \pm 0,11$	$0,199 \pm 0,03$	$0,255 \pm 0,09$
Средний объем эритроцитов (MCV), fl	$64,1 \pm 0,54$	$66,4 \pm 0,13$	$56,7 \pm 0,61$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), pg	$20,8 \pm 0,14$	$21,1 \pm 0,82$	$19,7 \pm 0,17$
Среднее концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	$312,1 \pm 0,27$	$311,0 \pm 0,23$	$315,7 \pm 0,09$
Распределение эритроцитов по объему (RDW), %	$18,9 \pm 0,22$	$18,4 \pm 0,08$	$19,0 \pm 0,84$
Распределение эритроцитов по объему (RDW-SD), fl	$48,0 \pm 0,17$	$53,2 \pm 0,25$	$48,6 \pm 0,42$
Тромбоциты (PLT), $10^9/\text{л}$	$499,1 \pm 0,13$	$432,0 \pm 0,22$	$485,4 \pm 0,47$
Средний объем тромбоцита (MPV), fl	$10,5 \pm 0,07$	$11,6 \pm 0,09$	$10,2 \pm 0,11$
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Из данных таблицы 30 видно, что у поросят первой опытной группы количество лимфоцитов было снижено и составило $16,4 \pm 0,41 \times 10^9/\text{л}$, у второй группы животных этот показатель был существенно ниже – $15,5 \pm 0,22 \times 10^9/\text{л}$. По содержанию эритроцитов, поросята первой группы достоверно уступали своим сверстникам из контрольной группы на 35,4%, а вторая опытная – на 40,7% соответственно.

Таблица 30 – Гематологические показатели крови у исследуемых поросят (3-месяца)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Лейкоциты (WBC), $10^9/\text{л}$	$19,0 \pm 1,04$	$16,4 \pm 0,41$	$15,5 \pm 0,22$
Гранулоциты (GRA), %	$5,0 \pm 0,27$	$5,5 \pm 0,31$	$5,7 \pm 0,54$
Лимфоциты (LYM), %	$12,7 \pm 0,68$	$11,3 \pm 0,10$	$10,4 \pm 0,77$
Моноциты (MON), %	$2,1 \pm 0,17$	$2,0 \pm 0,11$	$2,3 \pm 0,09$
Гранулоциты (GRA), $10^9/\text{л}$	$4,4 \pm 0,14$	$5,2 \pm 0,07$	$4,7 \pm 0,01$
Эритроциты (RBC), $10^{12}/\text{л}$	$7,19 \pm 0,42$	$5,26 \pm 0,82^*$	$5,11 \pm 0,77^*$
Гемоглобин (HGM), г/л	$156,8 \pm 0,31$	$144,0 \pm 1,01$	$132,0 \pm 0,45$
Гематокрит (HCT), %	$0,471 \pm 0,19$	$0,480 \pm 0,02$	$0,455 \pm 0,17$
Средний объем эритроцитов (MCV), fl	$57,1 \pm 0,82$	$56,5 \pm 0,22$	$54,4 \pm 0,34$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), pg	$18,6 \pm 0,10$	$19,3 \pm 0,33$	$18,1 \pm 0,85$
Среднее концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	$340,8 \pm 0,09$	$321,0 \pm 0,32$	$314,0 \pm 0,13$
Распределение эритроцитов по объему (RDW), %	$20,4 \pm 0,47$	$20,1 \pm 0,19$	$18,1 \pm 0,36$
Распределение эритроцитов по объему (RDW-SD), fl	$43,2 \pm 0,07$	$40,2 \pm 0,85$	$41,3 \pm 0,26$
Тромбоциты (PLT), $10^9/\text{л}$	$198,0 \pm 0,14$	$209,0 \pm 0,95$	$219,0 \pm 1,33$
Средний объем тромбоцита (MPV), fl	$9,2 \pm 0,06$	$9,5 \pm 0,12$	$8,6 \pm 0,08$
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Отдельные показатели функциональной активности эритроцитов находились в тесной корреляционной связи от уровня изоантител у конкретных групп особей. Наиболее высокая степень прямой связи наблюдалась у контрольной группы животных между уровнем специфических антител и содержанием средней концентрацией гемоглобина в одном

эритроците - МСНС ($\gamma=0,45$) и средним объемом эритроцитов – МСV ($\gamma = 0,51$).

К 6-му месяцу у подсвинков первой опытной группы количество лейкоцитов по отношению к контролю снизилось на 39,8%, у второй на 38,4% (таблица 31).

Таблица 31 – Гематологические показатели крови у исследуемых поросят (6-месяцев)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Лейкоциты (WBC), $10^9/\text{л}$	26,3±0,82	18,8±1,81*	19,0±0,33
Гранулоциты (GRA), %	3,8±0,39	3,5±0,02	4,1±0,01
Лимфоциты (LYM), %	20,0±0,08	14,2±0,97*	15,5±0,20*
Моноциты (MON), %	2,0±0,11	2,5±0,14	2,6±0,16
Гранулоциты (GRA), $10^9/\text{л}$	2,67±0,29	4,04 ±0,11*	4,52±0,24*
Эритроциты (RBC), $10^{12}/\text{л}$	8,11±0,30	7,55±0,21	7,38±0,44
Гемоглобин (HGM), г/л	140,0±0,41	148,1±0,60	130,8±0,22
Гематокрит (HCT), %	0,515±0,01	0,442±0,13	0,473±0,09
Средний объем эритроцитов (MCV), fl	56,6±0,17	54,6±0,66	55,3±0,14
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), pg	19,0±0,02	18,0±0,71	16,8±0,77
Среднее концентрация гемоглобина в эритроците (МСНС), г/л	320,6±0,22	324,0±0,15	314,7±0,47
Распределение эритроцитов по объему (RDW), %	19,8±0,96	20,8±0,58	21,9±0,05
Распределение эритроцитов по объему (RDW-SD), fl	44,3±0,48	40,5±0,44	40,1±0,57
Тромбоциты (PLT), $10^9/\text{л}$	209,2±0,63	203,0±0,11	217,4±0,08
Средний объем тромбоцита (MPV), fl	10,2±0,21	9,8±0,24	8,8±0,32
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Это свидетельствует о повышенной реактивности организма. В лейкоцитарной формуле под действием эффектов изоиммунизации наиболее заметна отрицательная динамика в сторону увеличения процента гранулоцитов, которые составляли у первой группы 4,04±0,11% и у второй

группы на $4,52 \pm 0,24\%$. Эти изменения в обоих опытах более очевидны у поросят второй опытной группы.

Количество эритроцитов (таблица 32) за весь период исследования (9 месяцев) прямо коррелировало с концентрацией гемоглобина у первой опытной группы $r=0,64$, у второй $r=0,83$.

Таблица 32 – Гематологические показатели крови у исследуемых поросят (9-месяцев)

Показатели	Группы животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Лейкоциты (WBC), $10^9/\text{л}$	$30,3 \pm 0,07$	$22,3 \pm 0,14$	$20,4 \pm 0,19^*$
Гранулоциты (GRA), %	$3,6 \pm 0,30$	$6,7 \pm 0,59^*$	$8,4 \pm 0,44^*$
Лимфоциты (LYM), %	$13,8 \pm 0,33$	$11,8 \pm 0,11$	$10,2 \pm 0,38$
Моноциты (MON), %	$2,4 \pm 0,02$	$2,9 \pm 0,09$	$3,4 \pm 0,03$
Гранулоциты (GRA), $10^9/\text{л}$	$8,7 \pm 0,33$	$9,2 \pm 0,07$	$9,8 \pm 0,34$
Эритроциты (RBC), $10^{12}/\text{л}$	$8,32 \pm 0,60$	$7,08 \pm 0,21$	$6,22 \pm 0,45$
Гемоглобин (HGM), г/л	$168,3 \pm 0,11$	$157,9 \pm 0,58$	$142,0 \pm 0,33$
Гематокрит (HCT), %	$0,503 \pm 0,07$	$0,483 \pm 0,03$	$0,431 \pm 0,05$
Средний объем эритроцитов (MCV), fl	$64,1 \pm 0,63$	$63,7 \pm 0,09$	$60,3 \pm 1,52$
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), pg	$19,7 \pm 0,40$	$19,0 \pm 0,33$	$19,5 \pm 0,38$
Среднее концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	$309,4 \pm 0,06$	$301,0 \pm 1,96$	$318,0 \pm 0,14$
Распределение эритроцитов по объему (RDW), %	$20,1 \pm 0,69$	$19,8 \pm 1,11$	$22,0 \pm 0,20$
Распределение эритроцитов по объему (RDW-SD), fl	$46,1 \pm 0,51$	$44,6 \pm 0,26$	$48,4 \pm 0,53$
Тромбоциты (PLT), $10^9/\text{л}$	$206,9 \pm 0,09$	$186,0 \pm 0,12$	$206,1 \pm 0,85$
Средний объем тромбоцита (MPV), fl	$10,2 \pm 0,88$	$10,5 \pm 0,14$	$9,1 \pm 0,19$
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Кроме того, существовала определенная взаимосвязь между содержанием эритроцитов и некоторыми биохимическими показателями сыворотки крови. Так, количество эритроцитов положительно коррелировало с мочевиной в 3 мес. $r=0,53$ во второй опытной группе, с общим белком в 6 мес. $r=0,46$ в первой опытной группе. Число лейкоцитов имело отрицательную

корреляционную связь в 3 месячном возрасте с общим белком у первой опытной группы $r=-0,48$, в 6 месяцев $r=-0,55$, в 9 месяцев $r=-0,40$.

К 9 месячному возрасту у животных некоторые гематологические показатели также свидетельствуют о негативном воздействии изоиммунизации на полученное потомство. У опытных поросят количество эритроцитов было равно $8,32 \pm 0,60 \times 10^{12}/л$, а в первой опытной группе животных данный показатель составил лишь $7,08 \pm 0,21 \times 10^{12}/л$ и во второй – $6,22 \pm 0,45 \times 10^{12}/л$. Соответственно содержание гемоглобина было $168,3 \pm 0,11$ г/л (контроль), $157,9 \pm 0,58$ и $142,0 \pm 0,33$ г/л (опытные группы), а количество лейкоцитов $31,3 \pm 0,07 \times 10^9/л$ (контроль), $25,3 \pm 0,14 \times 10^9/л$ и $20,4 \pm 0,19 \times 10^9/л \pm 0,3$ (опытные группы).

Изоиммунизация изменяет иммунобиологическую реактивность организма отъемышей в 3 месячном возрасте. Об этом свидетельствует процент сниженной бактерицидной или лизоцимной активности крови в опытных группах в отношении контрольной (таблица 33).

Таблица 33 – Показатели естественной резистентности поросят-отъемышей (3 месяца)

Показатели	Группа		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
1 месяц			
Лизоцимная активность, %	44,8±0,14	32,5±0,26	31,8±0,04
Бактерицидная активность, %	42,5±0,72	36,9±0,45	25,2±0,13
3 месяца			
Лизоцимная активность, %	54,5±0,52	38,0±0,84*	41,7±0,44
Бактерицидная активность, %	50,7±0,77	40,0±0,41	39,5±0,98*
* $P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой			

Ответная реакция организма молодняка свиней на процессы изоиммунизации в большей степени проявляется в изменении физиологических функций.

В ходе исследований установлено, что число лейкоцитов имело тесные прямые и обратные связи на протяжении всего опыта с биохимическими

показателями. Отрицательные корреляции лейкоцитов и содержанием общего белка в сыворотки крови, видимо, объясняются тем, что эффекты изоиммунизации в период беременности могут распространяться и на специфическую устойчивость организма.

В результате проведенных исследований установлено, что заболеваемость поросят наблюдалась в первые 5 дней после рождения контрольной группы было 19,7% (таблица 34).

Разница количества павших поросят между группами составила в контрольной – 3,48%, во второй опытной – 3,22% и в третьей опытной группе –2,29%, при сохранности поросят соответственно 82,5; 84,8 и 97,7%. Сохранность поросят опытных групп была ниже на 13,2% и на 15,6% по сравнению с животными контрольной группы.

Таблица 34 – Влияние изоиммунизации на показатели продуктивности свиней

Показатели	Ед. изм.	Группа		
		Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Заболеваемость поросят	%	5,2±0,14*	8,4±0,26*	19,7±0,74*
Сохранность поросят к контролю	%	97,7±1,25	84,8±0,84	82,5±0,93
Многоплодие	гол.	9,5±0,36	8,2±0,041	8,8±0,18
Крупноплодность	кг	1,24±0,08	1,15 ±0,01	1,04±0,03
Масса гнезда при рождении	кг	10,1±0,57	9,59±0,06	9,69±0,51
Масса гнезда к отъему	кг	111,5±1,86	114,7±1,06	98,4±1,22
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>				

Средняя живая масса гнезда при отъеме поросят в контрольной группе была 111,5 кг, в перовой группе – 114,7, во второй – 98,4 кг. Состояние изоиммунизации свиноматок повлияло на снижение живой массы гнезда при отъеме соответственно на 16,3 и 12,6 кг, что ниже контроля на 16,5 и 12,8%.

Причины данного явления лежат в относительной морфофункциональной незрелости защитных систем организма, что является специфичным для раннего периода постнатальной жизни животных.

До настоящего времени являются актуальными вопросы зависимости здоровья новорожденных животных от состояния иммунной системы материнского организма, не раскрыты все тонкости механизмов изоимуннизации, существует необходимость разработки новых методик определения жизнеспособности новорожденных животных.

Специфика иммунологических взаимоотношений, которые формируются в процессе развития функциональной системы «мать-плацента потомство» связана с основными формами иммунного реагирования. В процессе внутриутробного развития между организмом матери и плодом в норме складываются взаимоотношения, препятствующие иммунизации организма матери антигенами плода, которые значительно отличаются от материнских. Не наблюдается в этот период и передачи антител от матери к плоду, что связано со строением плаценты свиней (эпителиохориальный тип плацентации).

Нашими исследованиями по выявлению изоимуннизации антигенами плода материнского организма, варьировало от 27,8 до 34,8% у свиноматок первого опроса и колебалась в пределах 44,7-52,8% особей у которых наблюдалась в последующих плодоношениях. Общей закономерностью является отставание во времени реализации генетического потенциала механизмов защитных реакций, скорости роста, развития и продуктивности молодняка от реагирующих свиноматок.

Потомство не изоимуннизированных свиноматок превосходило поросят, рожденных животными, имеющими изоимунный эффект по содержанию эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов.

2.2.2 ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ ПЕРИНАТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ ПРИ ИЗОИММУНИЗАЦИИ

2.2.2.1 Передача специфических антител потомству у свиней при беременности, осложненной изоиммунизацией

При изоиммунизации выявляются антитела у новорожденных к антигенам материнского организма. Данные изменения в функциональной системе «мать-плацента-потомство» возникают при нарушении фетоплацентарного барьера. Особенно важно, когда данные антитела обнаруживаются в начале беременности (Цигулева, О. А., 2003; Kaufmanna, P., Black, S., Huppertz, B., 2003; Quehenberger, O., 2005; Sargent, I.L., Borzychowski, A. M., Redman, C. W., 2006; Стрижаков, А. Н., 2013, 2015).

Достоверным признаком нарушения плацентарной взаимосвязи служит наличие определенного титра антител в материнском организме. Уровень антител влияет на внутриутробное развитие, а его увеличение или нестабильность приводит к пренатальным потерям в ранние периоды онтогенеза. На фоне значительного изменения титра изоиммунных антител могут возникать реакции антиген–антитело. Если данная реакция возникает, то происходит выкидыш или рождение мертвого (нежизнеспособного) плода у первородящих животных чаще. При повторной (последующих) беременности степень изоиммунизации увеличивается в связи с имеющимися дефектами в трансплацентарном барьере *vivo* (Tafari, A. T., 1995; Милованов, А. П., 2001; Савченков, Ю. И., 2001; Исаева, А. Г., 2004; Салов, И. А., Глухова, Т. Н., Чеснокова, Н. П., 2006; Caruso, A., 2007; Yang, H., 2009; Zarnani, A.H., 2015).

При воздействии на организм происходит активация гумморального звена иммунной системы. С первых недель внутриутробного развития и до родов в материнском организме запускается ряд иммунных реакций направленных на развитие супрессорного действия в отношении развивающегося плода. Предполагаем, что иммунная система плода фиксирует все структурные изменения в период беременности со стороны

матери. Полноценная беременность зависит от иммунобиологического гомеостаза (Березовский, Ю. С., 2001; Mulayim, N., Savlu, A., Guzeloglu-Kayisli, O., Kayisli, U.A., Arici, A., 2004; Rajagopalan, S., Bryceson, Y. T., Kuppusamy, S. P., Geraghty, D. E., Joosten, I., Long, E. O., 2006; Murray, C. F., 2013; Баймишев, Х. Б., 2013).

Из приведенных данных следует, что в опытах по определению влияния больших доз вакцинного штамма вируса болезни Ауески (10^4 ЛКД₅₀ – 10^{12} ЛКД₅₀/см³) на течение беременности (супоросности) свиной мы выявляли содержание специфических антител в сыворотке крови свиноматок и полученных от них новорожденных поросят.

Наблюдение за свиноматками показало, что введение двух и трех кратного увеличения доз антигена за месяц до опороса характеризовалось следующими изменениями, приведенными в таблице 35.

Таблица 35 – Титры вируснейтрализующих антител и интерферона в сыворотке крови свиноматок и поросят (обратные величины в лог₂)

Животные	Время взятия крови	Титр изоантител		
		Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Свиноматки (n=126)	Через 2 часа после опороса	2,2	2,8*	3,6*
Поросята (n=960)	До приема молозива	0	3,1*	3,4*
Поросята (n=960)	Через 12 часов после приема молозива	2,9	2,5	2,7
<i>*P ≤ 0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>				

Из представленных данных видно, что в опытных группах примерно в одинаковых титрах изоантитела содержались в сыворотках крови как опытных свиноматок, так и полученных от них новорожденных поросят до приема молозива и после него. В то же время антитела против вируса в сыворотке

новорожденных поросят, полученных от свиноматок контрольной группы, отсутствовали и появлялись только после приема молозива.

Показано, что развитие достаточно выраженной толерантности наблюдается лишь при использовании высоких доз антигена. В опытах, где свиноматкам вводили разные дозы, было установлено, что при использовании субоптимальных и оптимальных иммунизирующих доз изоиммунизация не возникала.

2.2.2.2 Характеристика нарушений в иммунном статусе новорожденных поросят

В соответствии с целью диссертационного исследования была поставлена задача провести оценку состояния естественной резистентности поросят, полученных от свиноматок с признаками изоиммунизации.

Для исследования были подобраны три группы потомства с учетом их уровня иммунологической реактивности: в первой группе находились животные с высокой реактивностью; во второй – со средней; в третьей – низкой. Исследования проводились на первом, третьем, шестом месяце постнатального развития.

Из полученных данных (таблица 36) следует что лизоцимная активность у поросят анализируемых групп существенно отличалась. В первый месяц у поросят первой опытной группы она была равна $30,5 \pm 0,08\%$, у второй – $32,1 \pm 0,12$; у контрольной группы – $45,4 \pm 0,43\%$.

Таблица 36 – Возрастные изменения лизоцимной активности сыворотки крови поросят

Лизоцимная активность сыворотки крови, %	Группа животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
	1 месяц		
	45,4±0,43	30,5±0,08	32,1±0,12
	3 месяца		
	49,3±0,52	24,2±0,11	26,1±0,24
	6 месяцев		
	66,8±0,32	46,7±0,05*	44,1±0,66*
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

В третий месяц постнатального периода опытные группы животных характеризовались динамическим уменьшением лизоцимной активности сыворотки крови по сравнению с животными контрольной группы. Этот показатель составил у поросят первой группы $34,2 \pm 0,11\%$, что на 20,6% меньше, чем у ономесячных животных; у поросят второй группы — $36,1 \pm 0,24\%$, что на 18,7% меньше предыдущего показателя, а у поросят

контрольной группы данный показатель был равен $49,3 \pm 0,52\%$ и не имел отрицательного значения.

На шестом месяце жизни интактные группы животных имели достоверное различие по отношению к контролю. Показатель ЛАСК в первой опытной группе был снижен на $43,0\%$, во второй опытной группе на $-51,5\%$.

Показатель бактерицидной активности (таблица 37) у одномесячных поросят с контрольной группы составил $38,1 \pm 0,51\%$, у первой опытной группы этот показатель равнялся $29,3 \pm 0,63\%$. У поросят второй группы бактерицидная активность сыворотки крови была равна $24,3 \pm 0,14\%$.

Таблица 37 – Возрастные изменения бактерицидной активности сыворотки крови поросят

Бактерицидная активность сыворотки крови, %	Группа животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
	1 месяц		
	$38,1 \pm 0,51$	$29,3 \pm 0,63$	$24,3 \pm 0,14$
3 месяца			
$49,1 \pm 0,34$	$37,2 \pm 0,12$	$36,3 \pm 0,09$	
6 месяцев			
$60,3 \pm 0,17$	$40,2 \pm 0,29$	$39,8 \pm 0,37^*$	
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Показатель бактерицидной активности сыворотки крови на третьем месяце постнатального развития у поросят первой группы снизился на $31,9\%$, у животных второй группы уменьшился на $35,3\%$ по отношению к контролю и составил, соответственно $37,2 \pm 0,12\%$ и $36,3 \pm 0,09\%$.

Существенные различия по показателю фагоцитарной активности нейтрофилов (таблица 38) между группами были на первом месяце индивидуального развития. ФАН составила у животных первой опытной группы $24,6 \pm 0,13\%$, у животных второй опытной группы $20,9 \pm 0,22$ и у животных контрольной группы было равно $33,9 \pm 0,21\%$.

Таблица 38 – Возрастные изменения фагоцитарной активности нейтрофилов

Фагоцитарная активность нейтрофилов, %	Группа животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
	1 месяц		
	33,9±0,21	24,6±0,13	20,9±0,22
	3 месяца		
	41,3±0,59	34,1±0,26	28,1 ±0,17*
	6 месяцев		
	44,2±0,54	37,6±0,19	31,3±0,32
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

На третьем месяце жизни показатель фагоцитарной активности у поросят первой опытной группы составил 34,1±0,26%. Несмотря на это у поросят второй группы в данный период, показатель фагоцитарной активности был достоверно снижен на 46,9% по отношению к контролю и составил 28,1±0,17, являясь самым низким показателем между исследуемыми группами животных.

Фагоцитарная активность у животных 6 месячного возраста достоверно не изменялась, у поросят первой и второй групп уменьшалась, соответственно на 9,3% и 10,2% к показателям трехмесячных животных и составила 37,6±0,19% и 31,3±0,32%.

Фагоцитарный индекс в первый месяц постнатального развития животных всех анализируемых групп находился на одном уровне и составил у поросят первой группы 2,4±0,31, у поросят второй группы – 2,5±0,27, а у животных контрольной группы – 2,4±0,14 микробных тел.

Фагоцитарный индекс на третьем месяце жизни у животных всех трех групп увеличивался, соответственно, на 16,7%; 12,0% и 4,0% и составлял 2,8±0,17 микробных тел у поросят контрольной группы; 2,7±0,26 микробных тел у поросят второй опытной группы и 2,6±0,71 микробных тел у поросят из группы контроля. В этот период фагоцитарный индекс у поросят опытных групп находился на одном уровне (таблица 39).

Таблица 39 – Возрастные изменения фагоцитарного индекса нейтрофилов поросят

Фагоцитарный индекс	Группа животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
	1 месяц		
	2,4±0,14	2,4±0,31	2,5±0,27
	3 месяца		
	2,8±0,17	2,6±0,71	2,7±0,26
	6 месяцев		
	3,4±0,09	2,5±0,05	2,1±0,11*
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

В 6 месяцев у опытных поросят фагоцитарный индекс имел достоверную отрицательную динамику к контролю и уменьшался у первой опытной группы на 36,0%, а у второй опытной группы - на 54,5%.

При анализе показателей гуморальных защитных факторов было установлено, что различия между группами оказались достоверными лишь в первый месяц постнатального развития (таблица 40).

Таблица 40 – Возрастные изменения содержания иммуноглобулинов (IgG) в сыворотке крови поросят (M±m)

IgG, г/л	Группа животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
	1 месяц		
	34,41 ±0,84	23,47±0,18*	22,98±0,22*
	3 месяца		
	32,27±1,44	27,85 ±0,27	25,75±0,47
	6 месяцев		
	39,41 ±0,29	36,86±1,02	32,65±0,81
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

В сыворотке крови одномесячных поросят первой опытной группы в первый месяц содержалось IgG на 46,6% меньше, чем у поросят из опытной группы, а у поросят второй группы в сыворотке крови было на 49,7 % меньше, чем у первой группы. Это, прежде всего, связано с катаболизмом IgG у

поросят, полученных от матерей с эффектом изоиммунизации, и недостаточностью синтеза «собственных» IgG.

В возрасте 3 месяцев у поросят первой опытной группы произошло увеличение содержания IgG на 18,6% по сравнению с предыдущим исследованием, тогда как во второй группе синтез IgG увеличился на 12,1 %, а в контрольной группе стабильно превышал анализируемые группы.

Только в возрасте 180 дней синтез IgG у поросят опытных групп имел одинаковую интенсивность по сравнению с контрольными особями, так в первой группе синтез IgG увеличился на 32,4%, а во второй группе – на 26,8 % за анализируемый предшествующий период 3 месячного возраста.

По количественному содержанию IgM достоверные различия отмечаются редко лишь в возрасте 90 дней (таблица 41).

Таблица 41 – Возрастные изменения содержания иммуноглобулинов (IgM) в сыворотке крови поросят (M±m)

IgM, г/л	Группа животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
	1 месяц		
	0,63±0,09	0,66±0,18	0,72±0,24
	3 месяца		
	1,84±0,45	1,26 ±0,03*	1,21±0,08*
	6 месяцев		
	1,92±0,66	1,84±0,27	1,73±0,30
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Такое состояние клеточных и гуморальных факторов иммунитета, по всей вероятности, отражает процесс адаптации иммунной системы к новым условиям внеутробного развития и также переключения IgM на биосинтез IgG.

Из приведенных выше данных видно, что синтез собственных иммуноглобулинов у поросят опытных групп в возрасте одного месяца примерно такой же, как у особей контрольной группы, но в возрасте 90 дней имели существенные различия. При этом, у животных первой опытной группы

содержание IgM в 3 месяца составило $1,26 \pm 0,03$ г/л, а у поросят второй опытной группы – $1,01 \pm 0,08$ г/л, соответственно на 46,1% и 52,0%.

У 6-месячных поросят существенных изменений нами не выявлено, вместе с тем, было установлено уменьшение относительных количеств IgM у опытных животных к контрольным.

Таким образом, изоантигенная нагрузка свиноматок во время беременности, а точнее ее степень, оказывает существенное влияние на становление иммунобиологического потенциала у их потомства. Этот факт может привести к осложнению функционального состояния в постнатальном онтогенезе.

2.2.2.3 Мониторинг популяций Т- и В-лимфоцитов

Определение количественного состава клеточных популяций у исследованных животных основан главным образом на принципе розеткообразования разных типов лимфоцитов. Реакция спонтанного розеткообразования (Е-розетки) количественно характеризует Т-клеточную популяцию, а «комплементарное» розеткообразование (ЕАС-розетки) – В-клеточную (таблица 42).

Таблица 42 – Возрастные изменения числа Т-розеткообразующих клеток на 100 лимфоцитов

Группы животных	Количество животных	Число Т- розеткообразующих клеток, %		
		min	max	среднее
1 месяц				
Опытная 1 группа	320	29	56	40,9±0,13*
Опытная 2 группа	320	35	49	44,2±0,90*
Контрольная группа	320	19	29	21,8±0,18*
3 месяца				
Опытная 1 группа	320	18	36	26,5±0,11
Опытная 2 группа	320	19	38	29,2±0,25
Контрольная группа	320	20	27	24,8±0,44
6 месяцев				
Опытная 1 группа	320	30	38	34,1±0,69
Опытная 2 группа	320	35	40	32,2±0,54
Контрольная группа	320	21	44	30,0±0,43
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>				

У поросят контрольной группы количество Т-лимфоцитов в периферической крови составляло в среднем $24,2 \pm 0,16\%$ за весь анализируемый период.

У животных опытных групп с признаками изоиммунизации количество Т-розеткообразующих клеток достоверно повышалось в среднем на $48,2\%$ у первой группы и на $50,6\%$ от уровня интактных животных из контрольной группы лишь в первый месяц после рождения. В остальные периоды данной динамики не наблюдалось. Подъем количества Т-розеткообразующих клеток наблюдался у $80,8\%$ поросят опытных групп.

Результаты изучения количества В-лимфоцитов представлены в таблице 43.

Таблица 43 – Возрастные изменения числа В-розеткообразующих клеток на 100 лимфоцитов

Группы животных	Количество животных	Число В- розеткообразующих клеток, %		
		min	max	среднее
1 месяц				
Опытная 1 группа	320	16	25	$18,2 \pm 0,13$
Опытная 2 группа	320	15	22	$19,6 \pm 0,04$
Контрольная группа	320	12	24	$20,8 \pm 0,02$
3 месяца				
Опытная 1 группа	320	26	37	$21,6 \pm 0,52^*$
Опытная 2 группа	320	21	42	$20,3 \pm 0,17^*$
Контрольная группа	320	10	28	$39,1 \pm 0,39^*$
6 месяцев				
Опытная 1 группа	320	18	37	$20,1 \pm 0,22$
Опытная 2 группа	320	21	42	$19,4 \pm 0,16$
Контрольная группа	320	10	28	$32,6 \pm 0,38$
<i>*$P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой</i>				

У поросят контрольной группы количество В-розеткообразующих клеток в среднем на период 6 месячного возраста составляло $30,8 \pm 0,12\%$, у

изоиммунизированных – $19,9 \pm 0,15\%$. При появлении признаков изоиммунизации количество В-розеткообразующих клеток статистически достоверно снижалось в трехмесячном возрасте и составило $21,6 \pm 0,52\%$ у животных первой опытной группы и $20,3 \pm 0,17\%$ у поросят второй опытной группы.

Из полученных данных следует, что активация лимфоцитов служит отражением опосредованной через антитела В-клеток в иммунных реакциях, разрешающихся изоиммунизационного состояния, являясь следствием видоизменения сложных взаимоотношений между Т- и В-супрессорными популяциями, приводящего к их количественной перестройке. Для целей иммунологического мониторинга важно, что имеется значимая взаимосвязь между перераспределением в количественном составе Т- и В-клеточных популяций и нарастающим эффектом изоиммунизации.

Повышение числа лимфоцитов в трех месячном возрасте у поросят свидетельствуют об активации супрессорного звена, выраженного более интенсивно у интактных особей, чем у животных контрольной группы и должно восприниматься как сигнал к соответствующим размещающим мероприятиям.

2.2.2.4 Рост и развитие потомства свиноматок в постнатальный период

Конституция лежит в основе племенных и продуктивных качеств сельскохозяйственных животных. Одним из важнейших вопросов, раскрывающих проблему регуляции роста и развития организмов, является изучение процессов внутриутробного развития животного, так как именно в этот период формируются особенности телосложения эмбрионов и их физиологические функции.

Исходя из этого мы поставили перед собой задачу изучить рост и развитие свиней, отнесенных к контрастным группам.

Данные, приведенные в таблице 44 свидетельствуют о том, что с большей интенсивностью от одного до 4-месячного возраста развивался молодняк от свиноматок без выявленного состояния изоиммунизации в период беременности.

Среднесуточный прирост у животных данной группы был также выше по сравнению с поросятами опытных групп (таблица 44). От одного до двух месячного возраста он составлял $375,05 \pm 5,22$ г, $329,96 \pm 7,35$ г, $306,86 \pm 4,91$ г соответственно, от 2 до 3 месяцев – $463,10 \pm 12,18$ г, $414,91 \pm 8,83$ г, $390,28 \pm 7,99$ г и от 3 до 4 месяцев- $493,71 \pm 8,16$ г, $441,27 \pm 7,09$ г, $402,13 \pm 6,47$ г. Разница по среднесуточным приростам была достоверна на 3 и 6 месяцы жизни поросят

Таблица 44 – Возрастные изменения живой массы молодняка, полученного от свиноматок исследуемых групп ($M \pm m$)

Группы животных	Живая масса (кг)				
	при рождении	1 мес.	2 мес.	3 мес.	6 мес.
Контрольная группа (n=320)	$1,26 \pm 0,11$	$8,04 \pm 0,12$	$19,33 \pm 0,21$	$33,26 \pm 0,35$	$78,24 \pm 0,44$
Опытная 1 группа (n=320)	$1,04 \pm 0,02$	$6,06 \pm 0,25$	$15,94 \pm 0,17$	$24,62 \pm 0,31$	$51,02 \pm 0,07$
Опытная 2 группа (n=320)	$1,01 \pm 0,03$	$6,01 \pm 0,14$	$14,08 \pm 0,25$	$22,62 \pm 0,19^*$	$50,34 \pm 0,21^*$

** $P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой*

Отставание в росте поросят опытных групп поросят до 60-дневного возраста можно объяснить тем, что они родились более слабыми – со средней живой массой тела 1025 г, что составило 81,3% от контроля

В ходе диссертационного исследования нами были также изучены основные факторы риска заболевания поросят молозивным токсикозом. Токсические явления в молозивный период у поросят обусловлены содержанием изоиммунных антител и сенсibiliзированных лимфоцитов. Малоизученными остаются факторы, способствующие накоплению в молозиве у маток указанных веществ и пути их профилактики.

Животные опытных и контрольной групп были подвергнуты клиническому обследованию общепринятыми методами. После детального анализа структуры патологии, регистрируемой у данных свиноматок, приступили ко второй серии опытов, в рамках которой изучили роль отдельных конкретных патологий маток (факторы риска) в возникновении осложнений после изоиммунизационного эффекта у маток и молозивного токсикоза у поросят. Анализу были подвергнуты послеродовые болезни 42 основных свиноматок: маститы, эндометриты, гипогалактия. Ежедневно учитывали клинический статус и заболеваемость поросят молозивным токсикозом.

В условиях хозяйства у многих свиноматок, в первые дни после опороса, отмечали снижение аппетита. При более детальном клиническом обследовании животных и анализе данных лабораторных исследований обнаружено значительное отклонение в состоянии здоровья (см. таблица 45).

Таблица 45 – Акушерско-гинекологические патологии у свиноматок в хозяйстве

Показатели	В абсолютных числах	%
Всего свиноматок взято под наблюдение:	126	100,0
Из них с заболеваниями:		
эндометритом	33	26,2
гипогалактией	24	19,0
маститом	24	19,0
задержание последа	2	0,9

У 26,2% исследованных животных наблюдали истечения из половых органов слизисто-гнойного экссудата. При вагинальном исследовании влажными зеркалом был подтвержден диагноз эндометрит.

Гипогалактию и маститы регистрировали более чем у 19,0% животных. У отдельных маток одновременно наблюдали эндометриты, маститы и агалактию (синдром ММА). Клиническими исследованиями у многих животных выявлена сердечная недостаточность нагрузки и отмечали выраженную одышку. При исследовании сыворотки крови отмечали уменьшение показателя гематокрита на 31,3%, количества гемоглобина – до 80,8 г/л, снижение уровня общего белка в сыворотке крови – до 66,7 г/л, глюкозы – до 2,015 ммоль/л, увеличение количества креатинина – до 6,24 мкмоль/л.

В результате исследований было установлено, что у животных контрольной группы был снижен процент заболеваемости (таблица 46). Так, поросята первой и второй опытных групп имели высокий процент заболеваемости в среднем - 23,75% и снижение сохранности, которая составила 91,65%, при этом у контрольных животных заболеваемость за весь период исследования достоверно была ниже, чем у опытных животных.

Таблица 46 – Возрастные изменения заболеваемости и сохранности поросят опытных и контрольной групп

Показатели	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
1 месяц			
Заболеваемость, %	12,8±0,75	25,2±0,12*	28,1±0,22*
Сохранность, %	100,0	93,3±0,11	90,0±0,05
3 месяца			
Заболеваемость, %	10,1±0,18	20,3±0,44*	22,7±0,19*
Сохранность, %	100,0	93,3±0,62	90,0±0,46
6 месяцев			
Заболеваемость, %	9,4±0,16	21,6±0,10*	24,5±0,11*
Сохранность, %	100,0	93,3±0,02	90,0±0,04
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

При изучении линейного роста молодняка было видно, что животные от контрольных свиноматок в возрасте 1-4 месяцев имеют более длинное туловище и больший обхват груди, чем от опытных свиноматок. Поросята от данных групп характеризовались узким и сравнительно коротким туловищем, но длинной головой.

Данные таблицы показывают, что существенное влияние на заболеваемость и сохранность поросят оказали патологические процессы у свиноматок, сопровождающиеся гипогалактией и, в частности, трудные роды, ведущие к послеродовым осложнениям, а также анемия. Гипогликемия у свиноматок опытных групп также может быть рассмотрена как фактор риска, при этом заболеваемость и падеж поросят от молозивного токсикоза были выше, чем в пометах от клинически здоровых свиноматок.

В опытных группах животных наблюдалось увеличение показателя гематокрита и повышение активности АЛАТ до 2,03 Ед/л, что может свидетельствовать об интоксикации организма. Одновременно у поросят-сосунов контрольной группы отмечали в 2,5 раза больше случаев заболевания молозивным токсикозом, чем у животных контрольной группы.

Основным фактором риска заболевания животных на крупных комплексах, очевидно, следует считать установленную изоиммунизацию. Снижение тонуса матки, очевидно, является основной причиной установленного нами существенного увеличения продолжительности родов, а также развития послеродовых осложнений. Послеродовые болезни (эндометриты), в свою очередь, сопровождаются постоянной интоксикацией организма, о чем свидетельствует клинический статус свиноматок. В результате интоксикации организма продуктами распада тканей половых органов и токсинами, всосавшимися из толстого кишечника, угнетается кроветворная функция костного мозга и развивается анемия, которая усугубляет течение патологического процесса.

Таким образом, в организме у свиноматок возникает ряд патологических процессов, ведущих к развитию синдрома токсикоза. Образовавшиеся в

организме матери токсины накапливаются в большом количестве в молочной железе, выделяются с молоком и вызывают заболевание новорожденного молодняка молозивным токсикозом, часто с летальным исходом.

Вышеизложенные данные позволили сделать вывод о том, что развитие подсвинков опытных групп имело направление формирования конституционного типа, не свойственного их родителям, у животных отмечалось снижение темпа роста и развития, что повлияло на выращивание поголовья здорового молодняка свиней данных групп.

2.2.2.5 Зависимость между эффектами изоиммунизации в фетальный период развития и естественной резистентности у поросят в постнатальном периоде

Для успешной профилактики болезней молодняка необходимо всестороннее изучение особенностей становления естественной (неспецифической) резистентности организма растущих животных.

К настоящему времени в отношении поросят имеется ряд работ подобного рода. Однако зависимость показателей естественной резистентности между собой и показателями крови при проявлении изоиммунизации в плодный период эмбрионального развития до сих пор остается недостаточно изученной. Решение этого вопроса позволило бы в условиях производства прогнозировать устойчивость к заболеваниям у продуктивного молодняка свиней.

Так, за исследуемый период, живая масса поросят в процессе постнатального онтогенеза находилась в положительной корреляции со следующими показателями: общего белка в возрасте 1 суток (0,43) и 1 месяца (0,46), эритроцитов и гемоглобина с 2 до 6 месяцев (соответственно 0,48-0,70 и 0,44-0,66), альбуминов с 3 до 5 месяцев (0,51; 0,50; 0,64), лейкоцитов и ФИ в 6 месяцев (0,50; 0,64). В возрасте 3 месяцев живая масса поросят имела отрицательные корреляционные связи с бактерицидной активностью сыворотки крови (-0,49).

Количество эритроцитов за весь период исследования прямо коррелировало с концентрацией гемоглобина (0,64-0,83), за исключением месячного возраста. Кроме того, существовала определенная взаимосвязь между содержанием эритроцитов и некоторыми показателями естественной резистентности. Так, количество эритроцитов положительно коррелировало с общим белком в 6 месяцев (0,46) и отрицательно с ФАН в 1 месяц (-0,44) и 7 месяцев (-0,56), бактерицидной активностью в 3 месяца (-0,46), иммуноглобулинами класса G в 4 месяца (-0,53).

Число лейкоцитов было положительно взаимосвязано в месячном возрасте с ФАН (0,48), в 3 месяца – с ФИ (0,55), в 6 месяцев – с живой массой

(0,50) и отрицательно – с бактерицидной активностью в 3 месяца (–0,48), лизоцимной активностью сыворотки крови в 4 месяца (–0,44).

С суточного до семимесячного возраста показатели ФАН и ФИ коррелировали между собой (0,45-0,87). Активность нейтрофилов к фагоцитозу находилась во взаимозависимости с ФИ в возрасте 1 месяца (0,54-0,76), с лизоцимной активностью – в 4 месяца (0,58) и 7 месяцев (0,50).

ФИ имели позитивную связь с общим белком (0,46) в первый месяц жизни. В данном возрасте молодняка последний показатель крови коррелировал с фагоцитарной емкостью (0,43).

Положительная зависимость лизоцимной активности сыворотки крови в процессе роста и развития поросят установлена в возрасте одного месяца с ФИ и титром нормальных антител (0,52; 0,54). Бактерицидная активность имела аналогичную связь в месячном возрасте с общим белком (0,68) и в 6-месячном – с иммуноглобулинами класса М, а титр нормальных антител – с общим белком в 1 месяц (0,46) и 6-месячном возрасте (0,61).

Изучение коррелятивной зависимости между количеством общего белка и содержанием иммуноглобулинов класса G и M показало, что первый из них в возрасте поросят 3 месяцев находится в прямой связи (0,43; 0,53), в 3 месяца (0,57; 0,81) и в 6 месяцев – (0,44; 0,46; 0,61).

Положительные корреляционные связи между живой массой и такими гематологическими показателями, как эритроциты, гемоглобин, общий белок, иммуноглобулины, свидетельствуют об более выраженном адаптивном потенциале полученного потомства от свиноматок контрольной группы по отношению к опытным животным.

Следует отметить, что часть показателей вступает в отрицательные взаимосвязи между собой, о чем свидетельствуют отрицательные корреляции упомянутого гематологического показателя с фагоцитарной активностью, бактерицидной активностью и иммуноглобулинами.

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, число лейкоцитов имело тесные прямые связи на протяжении всего опыта с

показателями фагоцитарного индекса (ФИ). Отрицательные корреляции лейкоцитов и клеточных факторов защиты с бактерицидностью сыворотки крови и активностью лизоцима, видимо, объясняются тем, что принципы гомеостаза могут распространяться и на неспецифическую устойчивость организма.

Присутствие корреляционных связей между иммуноглобулинами и гуморальными факторами защиты (лизоцимной активностью, бактерицидной активностью, нормальными антителами) является доказательством большой роли указанных белков в формировании общей неспецифической реактивности организма.

Повышение белковой фракции в сыворотке крови с одного месяца до 3-месячного возраста было за счет иммуноглобулинов. Последние являются носителями специфических иммунных тел, поэтому можно полагать, что в данный период онтогенеза у молодняка свиней происходит усиление иммунологического ответа на всевозможные антигены.

Таким образом, приведенные примеры свидетельствуют о сложной природе и большой подвижности коррелятивных связей, а также позволяют утверждать, что изоимуннизация в функциональной системе «мать-плацента-потомство» обуславливает низкую устойчивость животных к неблагоприятным факторам внешней среды.

2.2.3 ОЦЕНКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПЛАЦЕНТЕ СВИНЕЙ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ИЗОИММУНИЗАЦИЕЙ

2.2.3.1 Макрокартина структурно-функционального состояния плаценты

При исследовании плацент у свиноматок опытных и контрольных групп имелись различия по типу хориальных и количеству амниотических полостей.

Нами установлено, что дихориальное диамниотическое расположение плодов у свиноматок характеризовалось неравномерным распределением плацентарной поверхности. Расположение пуповин наблюдали по краю плодной плацентарной части. Плодное место имело различную величину. Первый край одного плода значительно превосходил другой. Поверхностные сосуды были неравномерно развиты по всей поверхности. За счет деструктивных изменений в эндотелии, собственной пластинке и эпителии ворсинок, по всей видимости, происходит увеличение перфорации стенки плаценты (со стороны плодной части хориона).

Выявлена следующая особенность в макроскопическом строении дихориальной диамниотической плацентации:

1. Формировании глубоких артериовенозных анастомозов происходит в одностороннем направлении от крупного плода, к более мелкому.
2. Фетоплацентарная недостаточность связана с плацентарной трансфузией во время наиболее интенсивного роста и растяжения плацентарной ткани – в вторую половину беременности.

В ходе исследования отмечались существенные изменения в плаценте при изоиммунизации у свиноматок разной кратности опросов. Дихориальное диамниотическое расположение влияет на развитие стенки трофобласта при совместном расположении плодов в нем (два плода в одном). Мы предполагаем, что за счет увеличения нагрузки на стенку из-за увеличения размера плода во вторую половину беременности происходит нарушение в функционировании анастомозов дополнительных коллатеральных сосудов за счет растяжения, вызванного интенсивным ростом плода, приводящего к

деформации эндотелия и стенки сосудов. Это приводит к изоиммунизации матери антигенами плода вследствие более интенсивного развития и набора массы тела плода в этот период развития.



Рисунок 4 – Макрокартина монохориальной плацентиации



Рисунок 5 – Макрокартина дихориальной плацентиации

По размерам дихориальные плаценты преобладают над монохориальными это видно из размеров в натуральную величину. Если

общая длина монохориальной моноамниотической плаценты составляла $450,4 \pm 0,12$ мм, то длина дихориальной диамниотической была равна $700,4 \pm 0,18$ мм. Это свидетельствует о значительном увеличении плацентарной площади у последней. При монохориальности наблюдается формирование каждого плацентарного места обособленно от других. Это видно благодаря имеющимся соединительно-тканными перегородками между ними (рисунок 6).



Рисунок 6 – Монохориальная плацента
(стрелками указаны места разделения между ними)



Рисунок 7 – Дихориальная диамниотическая плацентациента

Особенностью дихориальной диамниотической плаценты является формирование единого комплекса взаимосвязи хориальных материнских и

плодных частей амниона (рисунок 7). У монохориальной плаценты четко выражены границы между каждым плодным местом (рисунок 8).

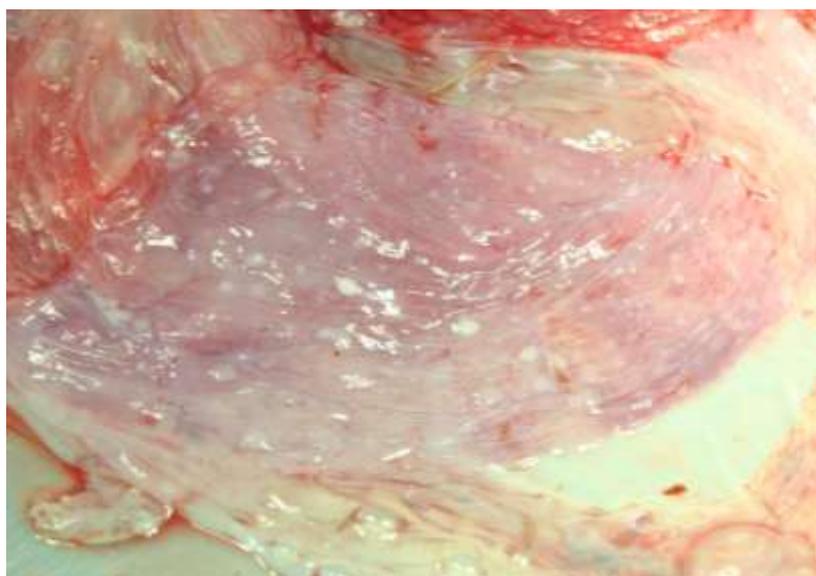


Рисунок 8 – Соединительнотканная перегородка между (монохориальной моноамниотической плацентацией).

Кроме этого просматривается явно выраженная разница в формировании ворсинок. При дихориальной плацентации они развиты более интенсивно, а в монохориальной не значительно (рисунок 9).



Рисунок 9 – Ворсинки первого, второго и третьего порядков (монохориальной моноамниотической плацентации)

Ворсинки при дихориальной плацентации достигали максимальных размеров, отдельные из них были величиной до $4,0-5,0 \pm 0,09$ мм, тогда как у

монокориальных моноамниотических плацент максимальные размеры ворсин не превышали $3,0-4,0 \pm 0,02$ мм.

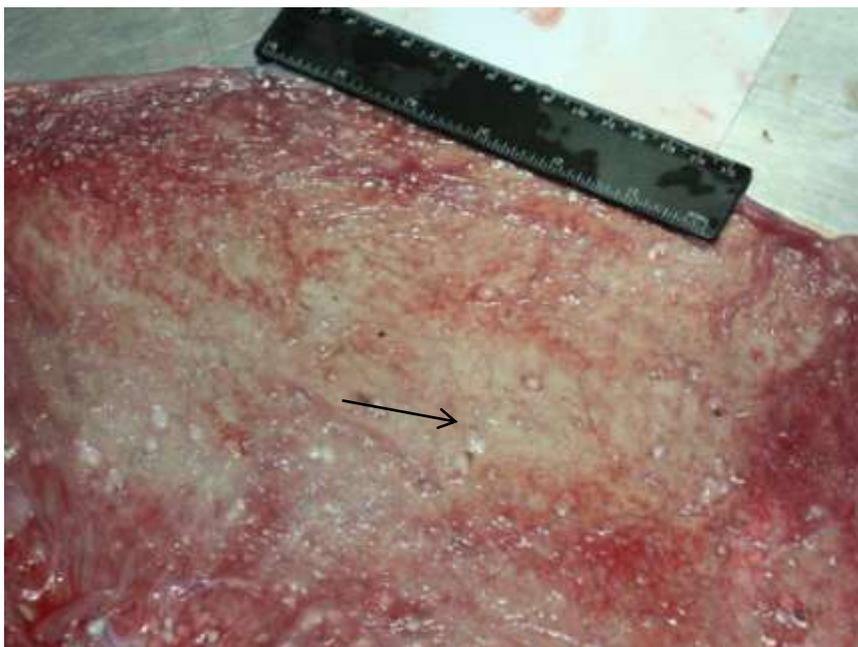


Рисунок 10 – Ворсинки первого порядка указаны стрелкой, монокориальная моноамниотическая плацентация



Рисунок 11 – Ворсинки первого порядка указаны стрелкой, дихориальная диамниотическая плацентация

2.2.3.2 Морфофункциональная особенность плацент свиноматок при изоиммунизации

Учитывая высокую интенсивность процессов роста и развития у многоплодных сельскохозяйственных животных, а также тот факт, что питание плода осуществляется через плаценту, важное значение имеет внутриутробное развитие и полноценность плацентарного барьера (Тотолян, А. А., Фрейдлин, И. С., 2000; Дорош, М. В., 2002).

Барьерная функция плаценты проявляется только в физиологических условиях. Под воздействием патогенных факторов барьерная функция плаценты нарушается, и она становится проницаемой даже для таких веществ, которые в обычных физиологических условиях через нее проходят в ограниченном количестве (Дроздова, Л. И., 2003; Slukvin, I. I., 2002; Hall, V.M., 2013).

Рассматривая результаты проведенных различными авторами исследований (Говалло, В. И., 1987; Дмитриев, А. Ф., 1995; Дубровин, М. М., 2001; Глуховец, Б. И., Глуховец, Н. Г., 2002), можно заключить, что предварительная изоиммунизация (сенсбилизация) в ряде случаев создает известные трудности при индукции иммунологической реактивности. Вместе с тем предварительная иммунизация не является принципиальным препятствием для индукции толерантности, поскольку более интенсивная толерогенная обработка животных обычно приводит к возникновению ареактивности, хотя порой и не столь выраженной, как у интактных животных.

Эффект предшествующей изоиммунизации может быть связан с образованием циркулирующих антител (Smith, J. T., Elkin, J. T., Reichert, W. M., 2006; Джобава, Э. М., 2013), которые нейтрализуют антиген, вводимый при индукции толерантности. В результате для получения ареактивности требуется большая доза толерогена или его многократное введение. Это подтверждается результатами ряда авторов (Федюк, В. В., 2003; Сухих, Г. Т., 2003-2005; Wold, A.S., 2005), показавших, что введение специфических антител в ранние сроки после инъекции толерогена, когда полная

толерантность еще не возникла, предотвращала ее развитие (Филиппов, О. С., 2009; Yagel, S., 2009; Щербаков, В. И.; 2012).

Материалом для исследования послужили плаценты 42 свиноматок крупной белой породы. Для исследования материал отбирали сразу после родов. Фиксация проводилась в 10% растворе нейтрального формалина. Из фиксированного материала делали замороженные срезы для окраски, что вместе с микрометрией дало возможность судить о морфофункциональном статусе соединительнотканых структур плаценты. Микрометрию проводили на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилин-эозином и методу Маллори, микрометр-окулярном микроскопа Leica DM 2500.

Основные параметры антигенного взаимоотношения в функциональной системе «мать-плацента-потомство» определяли в реакциях связывания комплемента, преципитации в геле и основанных на феномене гемагглютинации.

Все исследования выполнены с использованием в качестве источника антител сыворотки крови материнского организма в отношении сывороток крови их потомства.

При изучении гистологической структуры строения плаценты в опытных группах в отношении контрольных выявлены некротические изменения (рисунок 12) с признаками воспаления при сниженной васкуляризации. Изменения установлены также в соединительнотканых волокнах с значительным отсутствием капилляров, разрыхлением стромы (атрофия синцитиотрофобласта), низкой активностью эпителиального слоя.

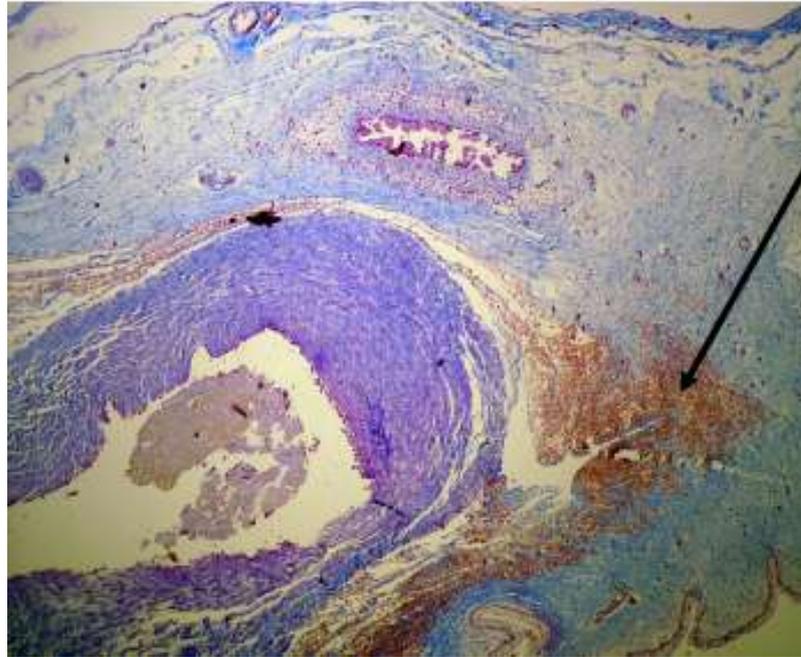


Рисунок 12 –Разрыхление стромальной основы, очаговая атрофия.
Обширный гемокстравазат в стенке хориона.
Хорион однойцевого плода. Свинья № 4.
(Окраска по Маллори – Ув.×40).

В значительной части плацентарной площади наблюдается уменьшение диаметра кровеносных сосудов мелкого и среднего порядков (облитерация просвета). Выявлен процесс тромбообразования на поврежденных стенках сосудов, значительные лимфоидно-лимфоцитарные инфильтраты и признаки ишемического инфаркта с некротическим проявлением (см. рисунок 13).

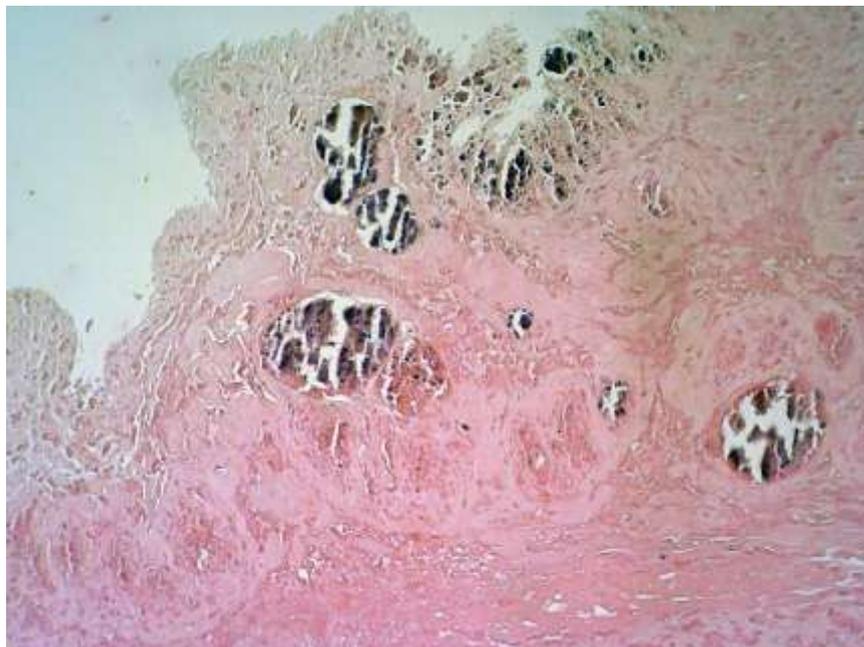


Рисунок 13 – Поствоспалительные лимфоидно-лимфоцитарные инфильтраты
Ишемический инфаркт хориона. Хорион однойцевового плода.
Свинья № 4 (окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×200).

Вышеуказанные патологические изменения относятся к патологическим процессам альтеративного характера, указывающим на признаки нарушения морфо-функционального состояния плаценты (ее незрелости) свиноматок с признаками изоиммунизации в фетоплацентарной системе. Специфические нарушения обуславливают повреждение целостности плацентарного барьера и изменение строения в функциональной системе «мать-плацента-потомство».

В плацентах опытной группы имелось разрастание соединительной ткани с уплотнением вплоть до склеротических процессов. Данный факт нами расценивался как поствоспалительный процесс (рисунок 14).

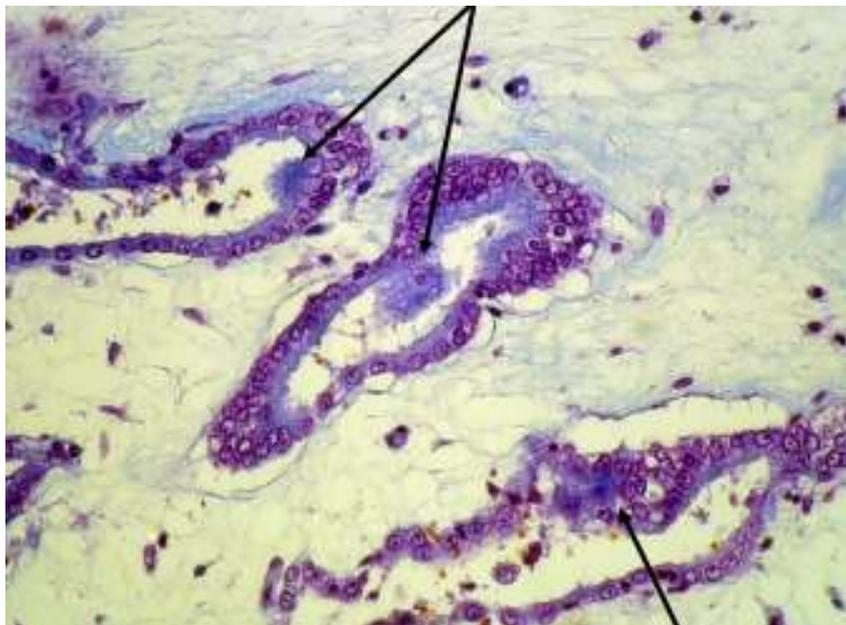


Рисунок 14 – Инволюционный (поствоспалительный) процесс. Гиперплазия синцитиальных почек, хорион однойцевого плода, свинья № 1. (окраска по Маллори, Ув. × 400)

В опытной группе свиноматок установлено значительное отложение фибриноида (фибриноидных масс), указывающего на инволюцию тканей плаценты. Преимущественное расположение около крупных артерий и в хориальной пластинке с уплотнением стенки сосудов в межворсинчатом пространстве (рисунок 15).

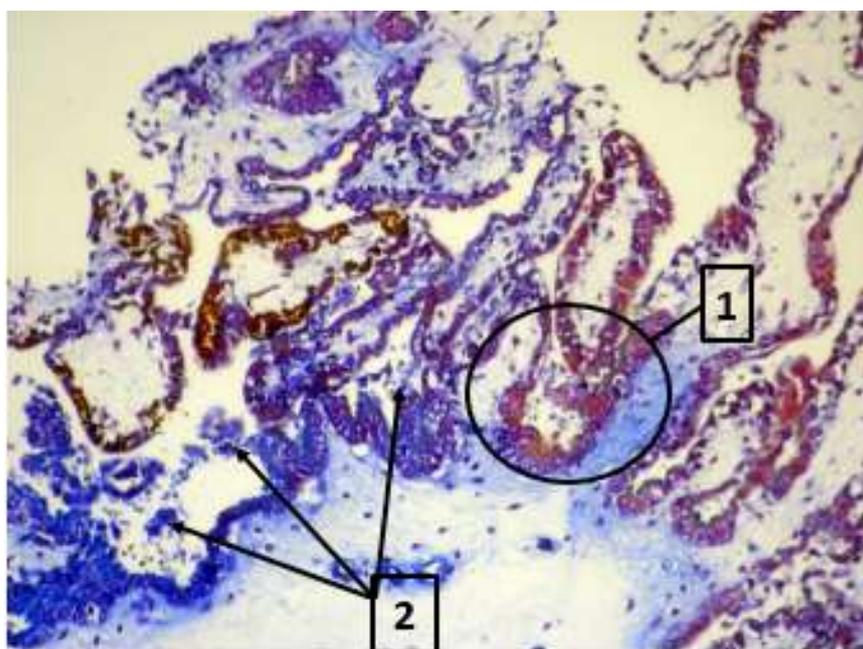


Рисунок 15 – Гиперплазия синцитиальных почек (1), отложение фибрина в межворсинчатом пространстве (2), хорион однойцевого плода, свинья № 9. (окраска по Маллори, Ув. × 200).

В контрольной группе животных не наблюдалось аналогичных признаков характерных для особей из контрольных групп. Данное морфо-функциональное состояние плаценты является фактом отсутствия повреждающего действия высокой антигенной нагрузки у материнского организма в период беременности.

Обобщая результаты исследования морфо-функционального состояния плаценты в свиноматок опытной и контрольной групп установлены существенные различия их гистологического строения. Данные изменения, по нашему мнению, зависят от уровня антигенной нагрузки материнского организма в период супоросности. Выявленные патологические изменения плаценты являются причиной высокого риска проявления изоиммунизации у полученного потомства. Установленные патологические признаки в плацентарном строении раскрывают механизм изоиммунизационного эффекта у новорожденных поросят и лежат в основе дальнейшего уровня их жизнеспособности.

В результате микроморфометрических исследований выявлено, что синцитиотрофобласт в разных местах одной и той же ворсинки имеет разную толщину.

У свиноматок первой группы толщина синцитиотрофобласта колеблется от $4,2 \pm 0,19$ до $5,17 \pm 0,33$ мкм, а у контрольных особей от $4,89 \pm 0,65$ до $5,72 \pm 0,49$ мкм ($P < 0,05$). Установлено что, минимальная толщина синцитиотрофобласта уменьшается по мере повышения антигенной нагрузки, в то же время максимальная толщина закономерностей изменения не имеет.

При подсчете количества синцитиальных узелков плаценты существенной разницы между свиноматками исследуемых групп не обнаружено, только у свиноматок с опытной группы их количество было ниже.

Нами выявлено, что у свиноматок контрольной группы в одной ворсинке располагается от одного до семи капилляров. У животных опытной группы диапазон колебаний намного шире, от одного до 17 капилляров.

При более детальном изучении ворсинок обнаружено, что увеличение количества капилляров сопровождается такие патологические процессы стромы, как утолщение коллагеновых волокон, гомогенизация их и склероз. Мы предполагаем, что увеличение количества капилляров в ворсинках носит компенсационный характер. Подобные изменения встречаются преимущественно у свиноматок с опытной первой группы.

Компенсация нарушений стромальной основы происходит не только путем увеличения количества капилляров, но и путем увеличения просвета периферических капилляров, т.е. появляется ангиоматоз. При этом увеличивается отношение площади капилляров к площади ворсинки. У свиноматок первой группы отношение площадей равно 0,152; у свиноматок второй группы – 0,086. Как видно, у животных опытной группы имеет место увеличение площади капилляров.

Увеличение просвета капилляров закономерно приводит к увеличению их порозности, что сопровождается отеком стромы ворсинки. В ряде плацент кроме описанных изменений обнаружена инфильтрация стромы ворсинок лимфоцитами, плазмócитами и тучными клетками. При подсчете тучных клеток выявлено незначительное и равное количество тучных клеток в ворсинках плацент свиноматок второй группы ($11,48 \pm 0,12$ и $12,51 \pm 0,24$) и большое их количество у свиноматок первой группы ($25,42 \pm 0,85$), что указывает на наличие повышенной чувствительности.

В результате наших исследований можно сделать заключение, что у свиноматок по результатам проявления изоиммунизационных процессов имеет место плацентарная недостаточность, часто осложненная воспалением, повышенной чувствительностью и сопровождаемая компенсаторными реакциями. У свиноматок контрольной группы подобных изменений не выявлено.

В плаценте свиней при беременности, осложненной изоиммунизацией, отмечались следующие морфофункциональные изменения:

1. Уменьшение клеточных элементов с разрыхлением стромальной основы и очаговая атрофия.
2. Поствоспалительные лимфоидно-лимфоцитарные инфильтраты плаценты.
3. Инволюционный или поствоспалительный процесс плацент свиноматок опытных групп.
4. Отложение фибриноида (фибриноидные массы) в подэпителиальной основе плаценты свиноматок опытных групп.

Таким образом, выявленные изменения гистологического строения в плаценте свиноматок показали, что явление изоиммунизации становится триггерным механизмом патологического течения беременности у исследованных животных.

2.2.4 ОЦЕНКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ОРГАНОВ НОВОРОЖДЕННЫХ ПОРОСЯТ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ, ОСЛОЖНЕННОМ ИЗОИММУНИЗАЦИЕЙ

2.2.4.1 Морфофункциональное состояние органов иммуногенеза поросят в постнатальном онтогенезе при изоиммунизации

В ходе проведенных исследований установлено, что в хозяйствах имеет широкое распространение изоиммунизационного эффекта маточного поголовья и рожденного от него молодняка. Это отрицательно сказывается на результатах осеменения, беременности, развития плода и выживаемости новорожденных, что подтверждается многочисленными наблюдениями в хозяйстве. Нами установлена этнопатогенетическая связь патологии новорожденных с соответствующими болезнями матерей.

Посмертно у поросят, с изоиммунизационным эффектом, кроме характерных патологоанатомических изменений органов и систем отмечены постоянные однотипные процессы в органах, наиболее ответственных за формирование неспецифического адаптационного потенциала, за мобилизацию всех запасов прочности к выживанию в экстремальных условиях: тимусе, легких, почках, надпочечниках и др.

Мы обратили внимание на морфологические реакции в тимусе при врожденных и приобретенных нарушениях обмена вещества у новорожденных поросят.

Для морфофункционального состояния при эффекте изоиммунизации характерно изменение веса и морфологии долек тимуса, которые у здоровых животных выглядят более или менее одинаковыми, с четко выраженными корковым и мозговым слоями. В корковом веществе отмечаются пролиферативные процессы, умеренное наполнение сосудов, скопление вокруг капилляров тимоцитов с примесью лаброцитов и макрофагов.

В мозговом веществе преобладают одноклеточные тимусные тельца и мелкие тельца Гассалья с незначительными очагами обызвествления в

центральных участках. Клетки тимусных телец содержат гликозамингликаны и жировые компоненты.

У поросят с симптомами изоиммунизации отмечаются однотипные морфофункциональные изменения в тимусе в виде уменьшения массы органа до 5 г и более, спадания и опустошения коркового вещества, распада тимоцитов, стирания структуры слоев, в результате чего в мозговом веществе содержится тимоцитов столько же или больше, чем в корковом (инверсия слоев). Отдельные дольки и доли тимуса могут представляться преимущественно ретикулоэндотелием (рисунок 16).

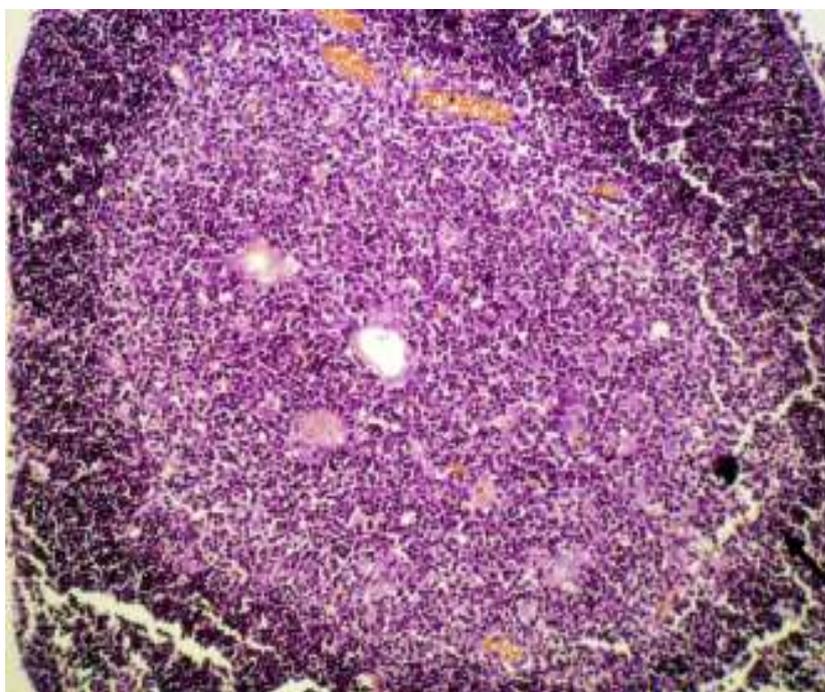


Рисунок 16 – Увеличение коркового вещества долек тимуса поросенка опытной группы (мертворожденная самочка) (окраска по Маллори, Ув.×200)

Тимусные тельца резко увеличены в объеме, с признаками гиалиноза, многие кистозно изменены и представляются однокамерными или многокамерными полостями, выстланными многослойным эпителием (рисунок 17) с известковым содержимым, продуктами распада клеточных элементов, скоплениями нейтрофилов, лаброцитов, лимфоцитов, эозинофилов и макрофагов.

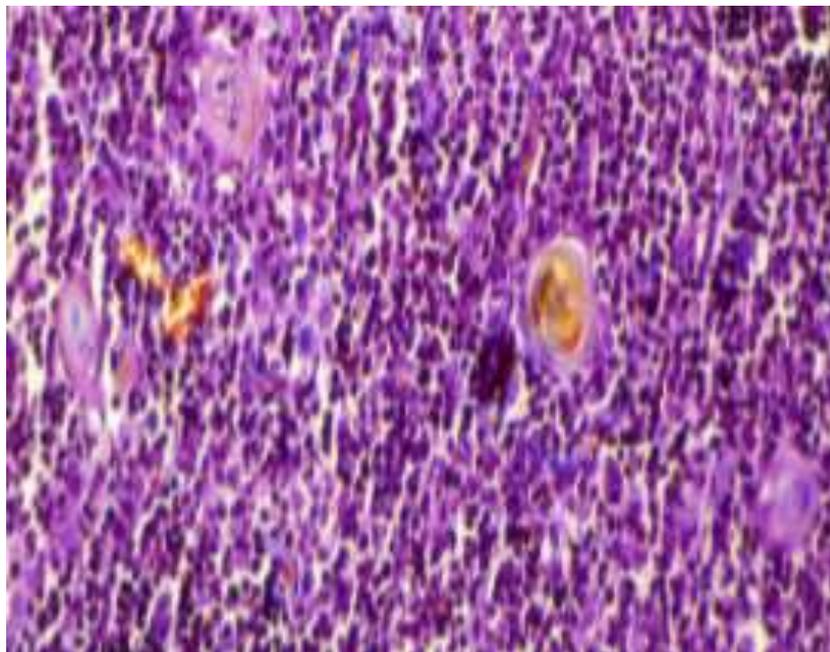


Рисунок 17 – Проллиферативные изменения - гиалиноз тимусных телец, одноплодный плод (мертворожденная самочка) (окраска по Маллори, Ув.×200)

Обнаруженные нами изменения в тимусе поросят, в основном, соответствуют морфологическим реакциям функциональной (акцидентальной) трансформации и являются морфофункциональным выражением перенапряжения, истощения вилочковой железы и, вероятно, не совместимы с жизненными процессами и определенными изменениями в надпочечниках, щитовидной железе и гипофизе, являются ближайшей причиной смерти новорожденных и снижения выживаемости.

Таким образом, вполне вероятно, что в патогенезе морфофункциональных нарушений у поросят, связанных с изоиммунизацией, важную роль играют изменения в системе органов, ответственных за адаптацию и выживание.

Установлена важная роль органов иммунной системы в процессах роста и дифференцировки органов и тканей, регенерации, противоопухолевой защите, обмена веществ, устойчивости, а также в патологии органов и систем организма. Однако морфологические реакции иммунной системы при указанных состояниях, особенно при многоплодной беременности, изучены слабо.

Известно, что тимус регулирует развитие и функции всей иммунной системы, поэтому важно изучить морфологию периферической иммунной системы при указанных состояниях и выяснить, как отражается перенапряжение функции тимуса при стрессовых ситуациях и его недостаточность на морфологическую и функциональную дифференцировку периферических органов иммунной системы.

2.2.4.2 Морфофункциональные изменения в легких поросят в постнатальном онтогенезе при изоиммунизации

Легкие являются чрезвычайно активными органами. Они выполняют сложные и многообразные функции. Легкие являются мощным иммунным органом с хорошо развитой ассоциированной бронхиальной лимфоидной тканью, макро- и микро-фагальной системами. Структура и функция легких обусловлены той ролью, которую они выполняют как орган, постоянно контактирующий с внешней средой и выделяющий продукты обмена.

Ткани их весьма чувствительны и реактивны, поэтому чаще всего подвергаются действию физических, химических, биологических и аллергических агентов и служат местом возникновения и развития патологических процессов.

Локализация патологических процессов в бронхолегочных сегментах неодинакова. Наблюдения показывают, что поражаются чаще всего сегменты краниальной, медиальной доли и передненижние сегменты каудальной доли. Однако морфологические обоснования этого в литературе освещены недостаточно.

При изоиммунизации в организме свиноматок и поросят развиваются глубокие морфологические изменения в иммунных органах и тканях, указывающие на интоксикацию и расстройства кровообращения, нарушение углеводного, жирового, белкового и других обменов веществ, которые предрасполагают к развитию в жизненно важных органах патологических процессов дистрофического и воспалительного характера и сопровождаются тяжелыми расстройствами.

У поросят, рожденных свиноматками, даже при отсутствии макроскопических отклонений в форме, цвете, консистенции легкого гистологически постоянно обнаруживаются кистозноподобные расширения внутридольковых бронхов и эмфизематозные вздутия всей дольки с разрывом центрально располагающихся альвеол и сдавливанием альвеолярных мешочков, прилегающих к междольковым перегородкам. Образуются

воздушные кисты с обрывками межальвеолярных перегородок, выполняющих роль клапанов. Состояние дольки находится в состоянии дистелектазы, ателектаза с сочными, уплощенными межальвеолярными перегородками (рисунок 18).

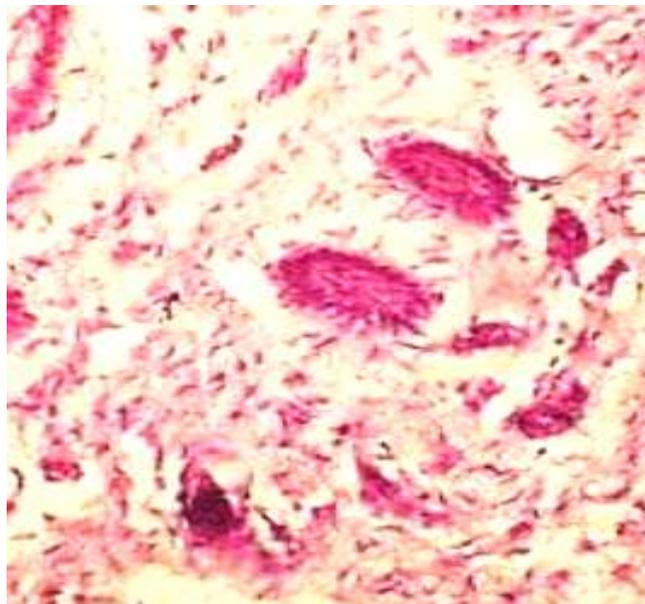


Рисунок 18 – Послеродовой соединительнотканый отек с ишемическим повреждением сосудов легких поросенка опытной группы (окраска гематоксилином и эозином, Ув.×400)

У поросят наряду со снижением содержания и полным исчезновением гликогена в цитоплазме, обнаруживается ослабление окраски и полное обесцвечивание надмембранного слоя (гликокаписа), мерцательных ресничек, цитоплазмы эпителия слизистой оболочки бронхов, распад указанных структур, образование микроэрозий и язвочек.

Эти изменения, по нашему мнению, имеют важное значение в развитии патологии клеток и тканевых комплексов, так как нарушают обменные процессы, рост и развитие клеток и, наряду с расстройством отдельных видов внутриклеточного и тканевого обмена, служат причиной дистрофических, микроциркуляторных, воспалительных и некротических процессов в тканевых элементах легкого как органа.

В легких поросят, рожденных свиноматками при изоиммунизации во время беременности, отмечается нарушение мукоцилиарной функции

бронхиального аппарата, выражающееся изменением соотношения мукоидной и белковой (серозной) секреции, эпителия, усилением серозной секреции и ослаблением мукосекреции. Количество бокаловидных клеток уменьшено. Отмечается очаговое повреждение и распад ресничек и надмембранного полисахаридного комплекса.

В эпителии слизистой оболочки бронхов выражена баллонизирующая дистрофия и колликвация клеток, распад их и образование кист, эрозий и язв микроскопических размеров. Наблюдается резкое снижение и исчезновение запасов гликогена в эпителиоцитах. Секрет бронхиального эпителия и желез дает слабые либо отрицательные реакции на нейтральные и кислые полисахариды, по свойствам и составу отличающиеся от выделений бронхов здоровых поросят.

В концевых и выводных отделах бронхиальных желез продукты секреции задерживаются, уплотняются, принимают вид гиалиноподобных масс, которые сдавливают паренхиматозные элементы желез и вызывают их атрофию. Ретенция, сгущение, гиалиноз секрета бронхиальных желез приводят к образованию кистозных полостей (рисунок 19).

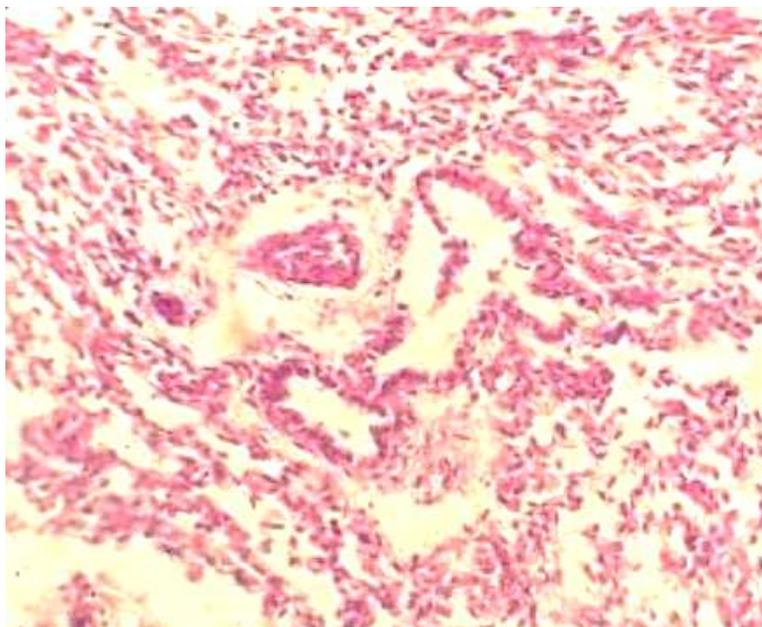


Рисунок 19 – Отек альвеолярной ткани поросенка опытной группы (окраска гематоксилином и эозином, Ув.×400)

В паренхиме легкого отмечают дистонии, дистрофия альвеолоцитов, распад сурфактантного материала, снижение содержания гликопротеидных

компонентов и отложение их в виде рыхлых или гиалиноподобных масс в просветах и на стенках респираторных путей (альвеолярный протеиноз).

Изменения в альвеолярной паренхиме и мукоцилиарном клиренсе, как правило, сочетаются с угнетением митоза в бронхиолярном эпителии, ослаблением фагоцитарной функции и недоразвитием интрамуральной и региональной иммунокомпетентной ткани.

Наиболее выражены и постоянно наблюдаются отмеченные структурно-функциональные аномалии в 1, 2, 3 и 5-м бронхолегочных сегментах левого и правого легкого. Описанные изменения обратимы, но при длительных неблагоприятных условиях кормления, содержания на их основе могут возникнуть и воспалительные процессы в легких (бронхиты, бронхопневмонии, хронические воспалительные процессы с деформацией бронхолегочного аппарата).

Из всего изложенного вытекает важный в научно-практическом отношении вывод, что нарушения, вызванные изоиммунизационным эффектом, являются пусковым механизмом для развития пульмопатологии у новорожденного потомства. В хозяйствах, где установлен факт изоиммунизационного состояния, необходимо обращать особое внимание на создание условий, способствующих адаптации новорожденных, нормализации функций иммунной системы, мукоцилиарного клиренса и сурфактанта, а также дифференциации тканей легкого.

2.2.4.3 Морфофункциональные изменения кишечника поросят в постнатальном онтогенезе при изоиммунизации

Клиническое проявление экспериментального изоиммунизационного состояния, патологоанатомические и микроанатомические изменения у поросят проявлялись по-разному. Они были наиболее выраженными в дистальном отделе тонкого кишечника. В желудке и толстом отделе кишечника изменения обнаруживались не у всех поросят, а в двенадцатиперстной кишке и начальном отделе тощей кишки они почти не проявлялись.

У поросят, подвергнутых изоиммунизации, характерные гистологические изменения проявлялись незначительно. Призматические эпителиальные клетки становились вытянутыми или расширенными, переполненными незернистым секретом, их ядра находились в базальной части. В отличие от поросят контрольной группы, у поросят опытных групп выявлена гипосекреция и дистрофические изменения призматических клеток по типу коагуляционного некроза, гипофункция железистых клеток.

В тощей кишке большинства поросят отмечена повышенная складчатость слизистой оболочки вследствие отека подслизистого слоя и спазматических сокращений мускулатуры кишки. Нарушение гистоструктуры ворсинок у поросят с эффектом изоиммунизации характеризовались тем, что они сильно укорачивались и расширялись. Цилиндрический эпителий превращался в кубический, а затем в плоский. У некоторых поросят эпителий отделялся от ворсинок вследствие подэпителиального отека. Появлялись очаги некроза и десквамации мерцательного эпителия на всей поверхности ворсинок, иногда отмечали некроз апикальной части ворсинок.

Нами выявлена деструкция ворсинок кишки – укорочение и расширение с нарушением их структуры вследствие клеточной инфильтрации и вакуолизации соединительно-тканной стромы. Ворсинки становились похожими на бугорки с пологими краями (рисунок 20).

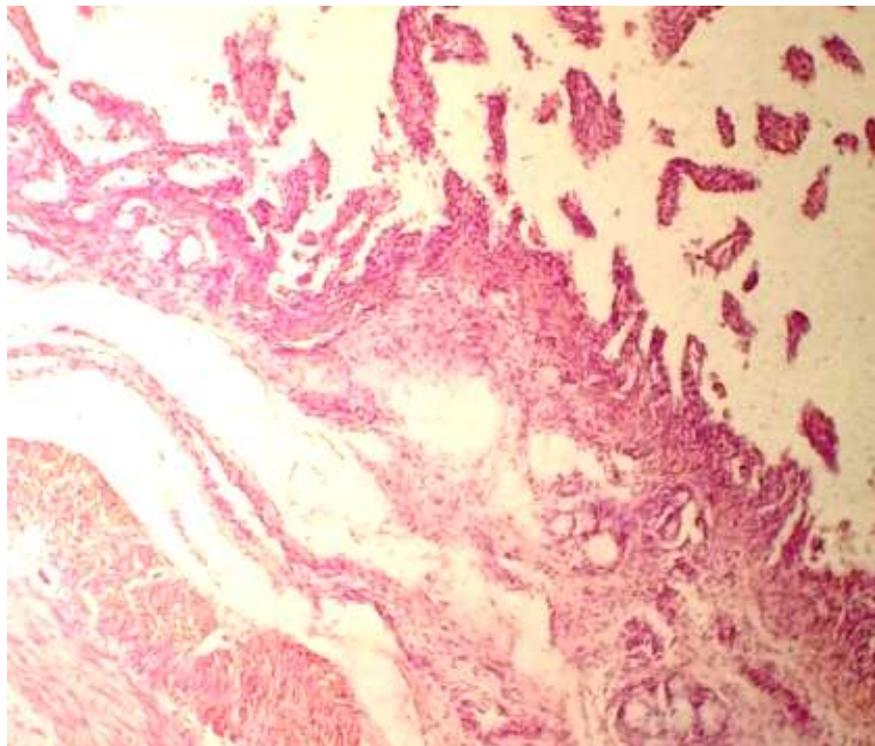


Рисунок 20 – Десквамация эпителия стенки тощей кишки с признаками острого отека (окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$)

В толстом отделе кишечника гистоморфологические изменения были выявлены не у всех поросят с эффектом изоиммунизации, они имели некоторые различия как по характеру развития патологического процесса, так и по глубине поражения слизистой оболочки.

У большинства подопытных поросят наблюдалось повышенное слизеобразование без резко выраженных изменений структуры эпителиальных клеток крипт. Затем большинство клеток крипт трансформировалось в бокаловидные клетки. Это приводило к повышенному слизеобразованию и расширению крипт вследствие накопления в них секрета.

Многие поросята с поражением толстого отдела кишечника имели изменения поверхностного эпителиального слоя слизистой оболочки по типу коагуляционного некроза без поражения его в глубине крипт.

Эпителиальные клетки при этом превращались в кубические и плоские, а у некоторых поросят были удлинёнными, как бы тесно прижатыми друг к другу, и имели пикнотические, базально расположенные ядра. Дистрофически изменённые клетки более интенсивно окрашивались. Во многих местах такой

эпителий отслаивался и десквамировался вследствие подэпителиального отека, что приводило к эрозированию слизистой оболочки.

В криптах секреторные клетки были в состоянии гиперсекреции. Вследствие уплотнения поверхностного слоя слизистой оболочки и верхней части крипт и расширения нижней их части в связи с переполнением клеток секретом крипты приобретали кувшинообразную форму. Следует отметить, что такие изменения имели очаговый характер с различной степенью выраженности в разных местах кишок. Также выявлена клеточная инфильтрация соединительнотканной стромы слизистой оболочки, особенно в поверхностном слое. Наблюдалась трансформация большинства клеток крипт в бокаловидные клетки.

Анализ результатов клинических наблюдений, патологоанатомических и гистоморфологических исследований показал, отличительной особенностью изоиммунизации у поросят является то, что патологический процесс протекает без резко выраженного нарушения гемодинамики в слизистой оболочке желудочно-кишечного канала. У поросят не выявлено также лимфоидной реакции со стороны лимфатических фолликулов. Лимфатические фолликулы отсутствовали у поросят на протяжении всего опыта (до 8-дневного возраста), что является свидетельством недоразвитости иммунной системы у таких поросят. У большинства поросят отсутствовала также клеточно-пролиферативная реакция в соединительно-тканной основе слизистой оболочки желудка и тонких кишок.

Развитие, степень выраженности и характер гистоморфологических изменений желудочно-кишечного тракта у поросят при экспериментальной изоиммунизации не зависели от путей введения антигенов.

Патоморфологические изменения у опытных поросят проявлялись неодинаково. У одних поросят поражался только тонкий кишечник, за исключением двенадцатиперстной и начального отдела тощей кишки, у других также поражались тонкий и толстый отделы кишечника,

Микроанатомические изменения в тонком отделе кишечника у анализируемых групп поросят характеризовались дистрофией цилиндрического эпителия ворсинок и десквамацией, укорочением, расширением, деструкцией ворсинок. Воспалительная реакция в желудочно-кишечном тракте поросят выражена без резко выраженного нарушения гемодинамики и клеточно-пролиферативной реакции в соединительнотканной основе слизистой оболочки.

2.2.4.4 Морфофункциональные изменения почек и надпочечников поросят в постнатальном онтогенезе при изоиммунизации

Нами проанализированы макроскопические и гистологические изменения в почках поросят (в период новорожденности), рожденных свиноматками, изоиммунизированными при беременности.

Гистологически в корковом веществе обнаруживаются определенные изменения в клубочках и канальцах нефронов. Корковое вещество полнокровно, сосуды наполнены, местами отмечаются кровоизлияния в просвет клубочков и межканальцевую ткань. У новорожденных поросят встречаются недоразвитые, не функционирующие нефроны, особенно вблизи капсулы органа. Клубочки мелких размеров, деформированы, со сморщенными клеточными элементами. Канальцы около таких клубочков не имеют просветов и покрыты сочным эпителием с зернистой цитоплазмой.

В нефронах, имеющих более или менее типичное строение, отмечаются гиперемия и кровоизлияния в клубочках, скопление зернистых и более плотных белковых и полисахаридных (гликоген) масс в просвете капсул.

В эндотелии клубочковых капилляров, перицитах, мезангиальных клетках и эпителии выстилающего капсулу клубочка отмечается жировая, зернистая и углеводная дистрофия (отложение зерен гликогена). Часть клубочков подвержена некротическому изменению. Основная мембрана капилляров уплотнена и утолщена.

Эпителий проксимальных отделов нефрона в отдельных участках набухший, увеличен в объеме, цитоплазма его мутная, почти полностью закрывает просвет канальца. Ядра крупные, светлые, с глыбками хроматина и ядрышком. Часть клеток располагается на базальной мембране, другие как бы отторгаются в просвет канальца. Просвет таких канальцев заполнен мелкозернистой белковой массой. Границы клеток канальцев не определяются, у части клеток цитоплазма полностью лизируется, и видны только ядра и оболочки, которые как бы лежат на базальной мембране. Подобные процессы захватывают отдельные нефроны или группы в определенном участке коркового слоя (рисунок 21).

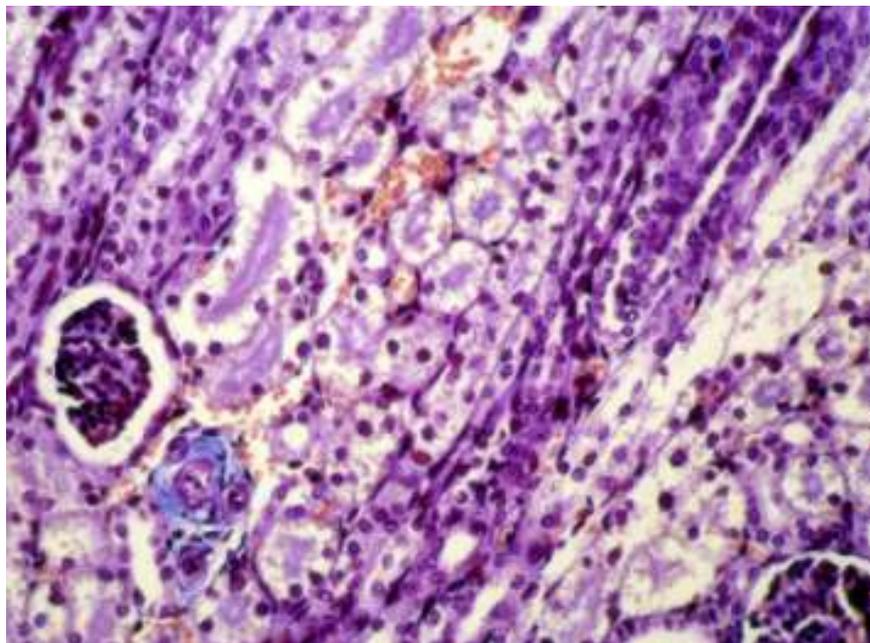


Рисунок 21 – Отек канальцев почки с некротическим поражением эпителия проксимальных извитых канальцев, монохориальный диамниотический плод, (мертворожденный самец опытной группы) (окраска по Маллори, Ув. $\times 400$).

Просветы канальцев заполнены однородной или зернистой массой. В отдельных канальцах обнаруживаются зернистые и гиалиновоподобные цилиндры. В тканевых элементах мозгового вещества также отмечается белковая, жировая и углеводная дистрофия, циркулярные расстройства в виде гиперемий и диапедезных кровоизлияний.

Интерстициальная ткань отечная, набухшая, в ней обнаруживается гиперемия и единичные клеточные элементы типа лимфоцитов и гистиоцитов. Наши исследования показали, что у поросят, относящихся к группе с изоиммунизационным эффектом, в почках развиваются расстройства микроциркуляции, дистрофические и воспалительные процессы.

Результаты гистохимических исследований свидетельствуют о глубоком повреждении надмембранных и мембранных структур нефронов в виде снижения содержания углеводных компонентов, неравномерного расположения, исчезновения и появления их в просветах клубочков и канальцев. Характерно снижение содержания и изменение морфологии в протоплазме эндотелия и канальцевого эпителия. Быстрое и массовое

исчезновение гликогена из организма может служить причиной гибели животного.

Механизм патогенного действия изоиммунизационного эффекта очень сложный и пока еще остается недостаточно расшифрованным. Обнаруженные нами морфо-функциональные изменения в почках при изоиммунизации поросят необходимо принимать во внимание при проведении оздоровительных мероприятий в свиноводческих хозяйствах.

У мертворожденных поросят из опытной группы на поверхности продольного разреза надпочечников в обоих слоях в большинстве случаев на фоне гиперемии наблюдали единичные или многочисленные точечные кровоизлияния. У некоторых новорожденных поросят кровоизлияния носили диффузный характер.

При гистологическом исследовании у плодов, отмечали гиперемиию и диапедезные кровоизлияния в корковом и мозговом слоях, у некоторых плодов – некроз единичных клеток пучковой и сетчатой зон. Наблюдала менее интенсивное по сравнению с контрольными плодами окрашивание цитоплазмы клеток клубочковой зоны черным судановым, что показывает уменьшение содержания жира (в клетках пучковой зоны находили лишь отдельные мелкие жировые капли или не выявляли жира совсем).

Микрометрия зон коркового слоя надпочечников у плодов дала следующие результаты: плоды контрольные – клубочковая зона (к) $9,5 \pm 0,17$ мкм, пучковая зона (п) $46,0 \pm 0,09$ мкм, сетчатая зона (с) $7,4 \pm 0,05$ мкм; плоды с признаками изоиммунизации (к) $11,5 \pm 0,08$ мкм. (п) $50,1 \pm 0,20$ мкм, (с) $10,1 \pm 0,16$ мкм.

Следовательно, у плодов, полученных от свиноматок с признаками изоиммунизации отмечается увеличение зон коркового слоя и уменьшение количества жира в клетках зон коры, что говорит об активации коркового вещества надпочечников.

У мертворожденных поросят оба слоя надпочечников пронизаны многочисленными мелкими диапедезными кровоизлияниями, наблюдалась

дискомплексація кліток пучкової зони, некроз окремих кліток клубочкової і пучкової зон і набряток міжклітинного простору мозкового шару. При фарбуванні чорним судановим в клітках пучкової зони жир не виявили, в цитоплазмі кліток клубочкової зони він видно лише в вигляді окремих малих крапель.

У поросят дослідної групи, померлих в течение сутки після народження, відзначені значущі зміни в обох шарах: дисконкомплексація пучкової зони, хаотичне розташування хромофільних кліток мозкового шару, цитоліз кліток пучкової і клубочкової зон, багато кліток в обох шарах мали блідофарбоване ядро без чітких меж.

Клітки кори не містили жиру, крім слідів його в цитоплазмі кліток клубочкової зони. В мозковому шарі спостерігали також зменшення вмісту аскорбінової кислоти. Результати мікрометрії, наступні: мертворожені (к) $10,2 \pm 0,18$ мкм, (п) $49,2 \pm 0,26$ мкм, (с) $10,1 \pm 0,11$ мкм; новорожені (к) $8,8 \pm 0,10$ мкм, (п) $45,9 \pm 0,18$ мкм, (с) $8,0 \pm 0,10$ мкм; новорожені (контроль) (к) $9,6 \pm 0,11$ мкм, (п) $48,9 \pm 0,02$ мкм, (с) $9,6 \pm 0,07$ мкм.

Таким чином, у мертворожених поросят відзначається збільшення кори і зменшення вмісту жиру, що відповідає підвищенню активності кліток коркового шару: у новорожених поросят з дослідної групи, померлих в течение сутки, зменшення розміру зон кори і майже повне відсутство в клітках жиру може розглядатися як різке угнетення функції цієї частини надпочечників.

Аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок, що ізоімунізація свиноматок в період вагітності викликає у плодів і новорожених поросят активацію коркового і мозкового шарів надпочечників. Це можна розглядати як компенсаторне явище, що призводить до посилення серцевої діяльності, підвищеному гліколізу, необхідних для забезпечення тканинного дихання.

В дальнейшем происходят серьезные патологические процессы, о чем свидетельствуют биохимические изменения старшего периода с опытных групп поросят. Конечным результатом неадекватного действия на организм является истощение обоих слоев надпочечников, наблюдаемое у поросят из опытной группы, павших в течение суток после рождения.

2.2.5 РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ПОВЫШЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ НОВОРОЖДЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

2.2.5.1 Построение алгоритма прогностических критериев осложненного течения беременности и неонатального периода у поросят

Нами разработан алгоритм повышения жизнеспособности новорожденных поросят, полученных от свиноматок, подвергшихся процессам изоиммунизации в период беременности. Структура предлагаемого алгоритма следующая:

Необходимо:

- I. Выполнить диагностику изоиммунизации у животных
- II. Провести определение иммунологической реактивности животных
- III. Определить изоантигенную нагрузку в функциональной системе «мать-плод-новорожденный»
- IV. Тестировать уровень иммунологической толерантности у животных
- V. Применить разработанную схему иммунокоррекции по повышению репродуктивной способности беременных свиноматок крупной белой породы и жизнеспособности новорожденного потомства.
- VI. Оценить функциональные резервы новорожденного потомства
- VII. Использовать эффективность разработанной схемы иммунокоррекции для повышения иммунобиологического статуса новорожденных поросят
- VIII. Осуществлять мониторинг и прогнозирование внутриутробного инфицирования с предотвращением ранних репродуктивных потерь у продуктивных животных
- IX. Осуществлять мониторинг и прогнозирование жизнеспособности сельскохозяйственных животных

2.2.5.2 Диагностика изоиммунизации у животных

Опыт осуществляется путем формирования шести групп животных по 7 особей в каждой группе и отличия между каждой последующей группой животных от предыдущей заключаются в количестве осуществляемых инъекций исследуемого антигена, а контрольной является седьмая группа интактных (контрольных) особей этой же популяции, не получавших антиген (таблица 47).

В качестве объекта исследования использовали 42 супоросных свиноматок крупной белой породы (вторая половина беременности за 30 суток до предполагаемого опроса), с кратностью опросов более 2-х.

Антигеном служила вирус-вакцины против болезни Ауэски (штамм «ГНКИ») с интервалом 12-21 день в дозе 10^4 ЛКД₅₀ – 10^{12} ЛКД₅₀/см³ на 1 кг массы тела. Для исследования иммунного ответа на антигены штамма вирус вакцины против болезни Ауэски вводят также двукратно одновременно с этими антигенами в обозначенной дозировке и интервале. Иммунологическую реактивность на вводимые антигены оценивали путем кратного повышения суммарной дозы вирусного антигена 10^4 ТЦД₅₀, а введение осуществляли одно, двух или трехкратно с интервалом 20 дней.

Таблица 47 – Диагностика изоиммунизации животных

Группы животных (n=42)							Контрольная (интактные животные)
	I	II	III	IV	V	VI	
Способ введения	внутримышечно						-
Дни введения антигена во первую половину супоросности	Дозировка для одной свиноматки (мкг антигена/свиноматку)						
0	25	25	25	25	25	25	-
7		25	20	20	20	20	-
14			20	20	20	20	-
21				20	20	20	-
28					20	20	-
35						20	-
Σ доза антигена	25	50	65	85	105	125	
Примечание: I-VI - опытные группы свиноматок, VII - контрольная группа							

Инъекцию проводят всем опытным группам свиноматок смесью равных объемов, по 1,0 см³, 25 мкг антигена в физиологическом растворе внутримышечно за основанием ушной раковины. Через 7 дней у животных первой группы проводили забор крови, отделяли сыворотку, а для оценки динамики накопления гуморальных антител использовали твердофазный иммуноферментный метод, индивидуальные пробы сывороток исследовали в разведениях с двукратным шагом, начиная с разведения 1:100, после завершения реакции и аппаратного учета результатов реакции проводили статистическую обработку данных для каждой группы животных, определяли достоверность отличий показателей между группами, группа животных с наивысшими показателями титров антител к антигену является той группой, которая получила оптимальную дозу, эффективно стимулирующую выработку гуморальных антител.

Оценка изоиммунного эффекта в биологической системе «мать-плацента-потомство» осуществляется за счет выявления состояния повышенной чувствительности материнского организма к антигенам плода реакцией эритрогемолиза клеток в присутствии специфических белков новорожденного организма.

Белки сыворотки крови изоиммунизированных новорожденных поросят, вызывают специфические повреждения сенсibilизированных эритроцитов крови материнского организма и не действуют на эритроциты, которые по отношению к ним не проявляют повышенной чувствительности. Благодаря этому представляется возможным по установленной формуле вычислить процент лизированных эритроцитов материнского животного под воздействием сыворотки крови новорожденного животного. После чего провести оценку выполненной реакции и установить прогноз иммунологической толерантности у потомства.

Все образцы сывороток тестировали одномоментно с соблюдением одинаковых условий постановки опыта, что позволило объективно определить динамику накопления гуморальных антител в крови животных, получивших

различные суммарные дозы антигена, а также предельно допустимую антигенную нагрузку на одно животное, превышение которой может привести к толерантности.

В две пробирки вносили по 0,5 мл слабо подкрашенного метиленовой синькой раствора ацидин-пепсина в концентрации 30 мг/мл. В первую (опытную) добавляли 0,2 мл сыворотки крови новорожденного, а во вторую (контрольную) – 0,2 мл стерильного физиологического раствора. Затем в каждую пробирку добавляли по 0,04 мл крови материнского животного организма. Пробы тщательно перемешивали и помещали в термостат на 2 часа при температуре 37,5 °С.

Кислая среда раствора ацидин–пепсина создает условия для осмотического разрушения эритроцитов исследуемой крови. Белки сыворотки крови новорожденных, содержащиеся в опытной пробе, вызывают специфические повреждения сенсibilизированных эритроцитов крови материнского организма и не действуют на эритроциты, которые по отношению к ним не проявляют повышенной чувствительности. Выявить повреждения эритроцитов путем подсчета возможно лишь в том случае, если они будут полностью разрушены. Разрушение поврежденных эритроцитов осуществляется ферментом пепсином, который в кислой среде действует только на поврежденные клетки и не действует на неповрежденные. Такое избирательное действие пепсина на поврежденные эритроциты обеспечивает разницу при их подсчёте. После инкубирования содержимым обеих пробирок поочередно заполняли камеру Горяева и подсчитывали эритроциты в 5 больших квадратах, разделенных на 16 малых (т.е. в 80 малых квадратах) по общепринятой тривиальной методике, принятой для подсчета эритроцитов.

Для вычисления процента лизированных эритроцитов материнского животного под воздействием сыворотки крови новорожденного животного использовали формулу 5:

$$\text{ПАЭ} = \frac{\text{Э контроль} - \text{Э опыт}}{\text{Э контроль}} \times 100\% \quad (\text{формула 5})$$

где, ПАЭ – показатель аллергической альтерации эритроцитов;
Э – количество эритроцитов.

В первые дни после опороса у свиноматок и соответственно у их поросят были взяты пробы крови и определены показатели аллергической альтерации эритроцитов (таблица 48).

Таблица 48 – Показатели аллергической альтерации эритроцитов у животных

№ п/п	Индивидуальный номер животного	Группа животных	Количество эритроцитов, $10^{12}/л$		Показатель аллергической альтерации эритроцитов, %
			в контроле	в опыте	
1.	7785	опытная группа №1	7,1	5,2	26,76056
2.	8541		5,8	4,5	22,41379
3.	6224		5,8	5,1	12,06897
4.	1447	опытная группа №2	7,8	6,6	15,38462
5.	2584		6,2	4,5	27,41935
6.	2025		6,9	5,2	24,63768
7.	1444	опытная группа №3	7,8	6,0	23,07692
8.	2555		7,1	4,8	32,39437
9.	9814		6,5	4,5	30,76923
10.	5441	опытная группа №4	7,1	4,8	32,39437
11.	5478		6,5	4,5	30,76923
12.	5511		6,9	5,1	26,08696
13.	3325	опытная группа №5	7,8	6,2	20,51282
14.	6586		6,6	5,1	22,72727
15.	3521		7,8	5,9	24,35897
16.	6521	опытная группа №6	6,9	5,1	26,08696
17.	2455		7,8	6,2	20,51282
18.	4892		6,6	5,1	22,72727
19.	8148	контрольная группа	6,3	6,1	3,174603
20.	5463		6,5	6,3	3,076923
21.	1572		6,9	6,3	8,695652

По условиям опыта всего было исследовано 42 свиноматки и у 14 из них установлена повышенная чувствительность к белкам сыворотки новорожденных, т.е. показатель аллергической альтерации эритроцитов составил 22% и выше.

Поросята, рожденные от свиноматок с повышенной чувствительностью к фетальным антигенам (показатель аллергической альтерации эритроцитов

22% и более) имели в 3 месячном возрасте сниженные показатели иммунологического статуса, что подтверждают данные по таблице 49.

Таблица 49 – Иммунологические показатели поросят опытных и контрольной групп

Показатели	Группы животных для исследования			
	1 месяц			
	1-2 опытные группы (n=5)	3-4 опытные группы (n=5)	5-6 опытные группы (n=5)	7 контрольная группа (n=5)
Лейкоциты, $10^9/л$	5,71±0,04*	7,31±0,21	6,57±0,16*	8,97±0,14*
Лимфоциты, %	32,69±0,15	38,89±1,55	38,45±0,56	41,44±0,29
Т-лимфоциты $10^9/л$	1,98±0,06	2,24±0,17	1,92±0,05	2,51±0,5
В-лимфоциты $10^9/л$	1,01±0,01	1,35±0,04	1,06±0,01	1,69±0,12
Эритроциты, $10^{12}/л$	3,96±0,35*	4,88±0,13*	4,37±0,22*	6,78±0,17*
Гемоглобин г/л	51,3±0,43*	62,6±0,19*	62,4±0,11*	85,8±0,21*
ФАН, %	34,28±0,34	32,64±0,18	35,92±2,26	48,32±0,27
ФИ	7,1±0,02	6,28±0,04	7,84±0,07	8,96±0,08
ФЧ	5,14±0,11	5,55±0,03	6,73±0,02	7,11±0,03
ФЕК, тыс./мм ³	13,31±0,11	15,43±0,22	14,08±0,36	20,49±0,31
БАСК, %	44,57±1,04	46,49±0,47	37,16±0,21	58,12±0,79
ЛАСК, %	30,46±0,34	37,15±0,63	32,14±0,30	41,09±0,25
Ig A, г/л	1,01±0,01*	1,42±0,05	1,15±0,02*	1,97±0,08*
Ig G, г/л	12,97±0,34*	18,77±0,06*	16,78±0,15*	26,36±0,33*
Ig M, г/л	0,98±0,03	1,22±0,07	1,05±0,03	1,57±0,07

**P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой*

Определение иммунологических параметров проводилось на 7 группах новорожденных поросят по 5 голов в каждой. В опытную группу вошли поросята, у маток которых наблюдалась повышенная чувствительность к антигенам новорожденных. Контрольная группа была представлена поросятами от несенсибилизированных свиноматок. Различия между свиноматками по показателям аллергической альтерации эритроцитов были статистически достоверными. Этот показатель со средним значением в группе

свиноматок с повышенной чувствительностью составил $22,20 \pm 0,12\%$, а в контрольной группе – $7,38 \pm 0,09\%$.

У поросят контрольных и опытных групп в суточном возрасте исследовали кровь по показателям естественной резистентности. В течении 9 месяцев учитывалась заболеваемость и летальность животных.

Как видно из таблицы 49, опытная и контрольная группы поросят существенно отличались друг от друга по показателям, характеризующим состояние естественной резистентности. При анализе гематологических показателей установлено, что поросята, родившиеся от сенсibilизированных свиноматок, имеют меньшее количество эритроцитов в 1 мм^3 крови ($6,53 \pm 0,12$) по сравнению со средними показателями поросят контрольной группы ($8,41 \pm 0,08$). Идентичные различия наблюдаются между группами животных по содержанию гемоглобина, скорости оседания эритроцитов (СОЭ). По содержанию лейкоцитов в 1 мм^3 крови существенных различий между группами животных не установлено. Однако функциональная активность лейкоцитов у животных опытной группы была значительно ниже, чем у контрольной.

Фагоцитарная активность нейтрофилов у поросят контрольной группы в возрасте 1 месяц составила $48,32 \pm 0,27\%$, а у поросят опытных групп она была в среднем соответственно $35,76 \pm 0,02\%$. Имели место различия и по другим показателям лейкоцитарного фагоцитоза (ФИ, ФЧ).

Лизоцимная активность сыворотки крови поросят также имелись достоверные различия, причем эти показатели у животных контрольной группы значительно превосходили аналогичные опытной.

Установлено, что за названный период наблюдения поросята от свиноматок опытных групп по абсолютному приросту, среднесуточному привесу достоверно превосходили на $52,4\%$ и $75,6\%$, контрольную группу. Причем сохранность поросят в контрольной группе составила 100% , заболеваемость – $19,7\%$. В то же время как у особей из опытных групп сохранность была $70,2\%$, заболеваемость – $44,8\%$, а смертность – $29,8\%$.

Таким образом, по показателям естественной резистентности поросят, рожденные от свиноматок с повышенной чувствительностью к белкам сыворотки крови, существенно отличались от своих сверстников. Слабое проявление естественной резистентности связано с нарушением плацентарного барьера, явлениями изоиммунизации материнского организма антигенами плода и неблагоприятным влиянием иммунологических факторов материнского организма на процессы роста и развития плода.

Доказательством того, что изоиммунизация в период беременности имела место, может служить увеличение скорости оседания эритроцитов и снижения их количества у поросят опытной группы по отношению к контрольной.

Мы предполагаем, что изоиммунные антитела, попадая в организм плода через плаценту, вступают в иммунологическую реакцию с эритроцитами новорожденного, которые содержат антитела. Это приводит к изменению коллоидных свойств оболочек эритроцитов, в результате чего они легко агглютинируют и подвергаются разрушению.

При нарушении плацентации (плацентарного барьера) возникает состояние иммунного конфликта, характеризующегося реакцией антиген–антитело и осуществляющегося через плаценту (по отношению к плоду), либо через молоко после рождения (по отношению к новорожденному организму).

2.2.5.3 Определение иммунологической реактивности животных

В качестве объекта исследования использовали эритроцитарные клетки супоросных свиноматок в количестве 126 голов (вторая половина беременности) 2-х групп, 3 группа служила контролем.

У животных отбирали 500 мкл капиллярной крови в пробирку, содержащую 45 мкл консерванта ЭДТ. После центрифугирования и удаления супернатанта к 200 мкл эритроцитарной массы добавляли 1,4 мл 100 мкМ раствора нильского голубого. Пробу центрифугировали при 3 тыс. об/мин 10 мин и супернатант удаляли. К 200 мкл эритроцитарной массы добавляли 1,4 мл 100 мкМ нильского голубого, приготовленного на физиологическом растворе с рН 7,4. Смесь перемешивали инкубировали при комнатной температуре 20 мин, затем центрифугировали 5-10 мин при 3 тыс.об/мин и измеряли оптическую плотность в супернатанте при 630 нм. Чтобы исключить концентрационное снижение оптической плотности красителя, отобранную пробу супернатанта разводили в 2 раза дистиллированной водой и измеряли поглощение в кювете толщиной 0,5 см

Опытные группы животных подвергались гипериммунизации (использовали вирус-вакцину против болезни Ауэски) во время беременности, а контрольная группа особей оставалась на тривиальной (принятой в хозяйстве) антигенной нагрузке. В первойопытной группе проводили инъекцию вирус-вакциной однократно в дозе $2,0 \cdot 10^8$ ЛКД₅₀. Второй группе вирусвакцину вводили двукратно в дозе $3,0 \cdot 10^{12}$ ЛКД₅₀ на одно введение, третья группа служила контролем, которой вводили дозу $2,0 \cdot 10^4$ ЛКД₅₀. Полученные данные при двукратном и трехкратном введении вируса свидетельствуют об изменении иммунологической реактивности животных.

Адсорбирующую способность проводили при инкубации отмытых эритроцитов (три раза) в растворе Хэнкса. (80 % раствор смеси). Инкубацию проводили с интервалом времени от 30 минут до 3 часов. Показатели адсорбционной способности устанавливали по степени угнетения НСТ-теста компетентными клетками (нейтрофилами).

Полученные результаты свидетельствуют о значительной вариабельности в зависимости от групп животных, использованных при исследовании (таблица 50).

Таблица 50 – Показатели адсорбционной способности по степени угнетения НСТ-теста

Исследуемый параметр	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Подавление НСТ-активности, %	10,5±0,11	22,8±0,02*	22,6±0,06*
Сорбционная активность эритроцитов в НСТ-тесте %	49,8±0,23	61,8±0,01*	60,2±0,02*
Подавление фагоцитоза, %	10,5±0,21	20,9±0,01	14,2±0,11
Сорбционная способность в фагоцитарном тесте, %	42,5±0,18	60,7±0,08	54,5±0,19
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Сорбционная активность эритроцитов у контрольной группы особей характеризуется незначительным падением биологической активности в НСТ-тесте до 40%. Более выраженное падение сорбционной активности установлено в опытных группах из-за изменения содержания белков, повышения эластичности, снижения прочности и иммунологической активности.

У опытных групп животных выявлено достоверно повышенное подавление НСТ-активности в среднем до 27,0 % и сорбционной активности эритроцитов в НСТ-тесте до 62,1%

Таким образом наиболее активное подавление иммуносупрессорных свойств крови установлено при биологической активности в НСТ-тесте до 40%, а повышение связано с пределом рецепторной емкости данных клеток.

Доказательством того, что у свиноматок опытных групп в период беременности имело место быть снижение иммуносупрессорных свойств, может служить увеличение скорости оседания эритроцитов до 2,05±0,47 мм/час и снижения их количества у поросят опытных групп до 5,17±0,14мм/час по отношению к контрольной.

Известно, что изоиммунные антитела, а также сенсibilизированные лейкоциты, попадая в организм плода через плаценту или с молозивом, вступают в иммунологическую реакцию с эритроцитами новорожденного, которые содержат антитела. Это приводит к изменению коллоидных свойств оболочек эритроцитов, в результате чего они легко агглютинируют и подвергаются разрушению.

2.2.5.4 Определение изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плацента-потомство» у свиней

В период беременности со стороны материнского организма и со стороны плода устанавливается иммунобиологический контроль за антигенным постоянством в функциональной системе «мать-плацента-потомство». При возникающих нарушениях функционального состояния данной системы происходит нарушение иммунологического равновесия, что влечет за собой структурные нарушения иммунной системы матери и плода.

Для оценки антигенного влияния на иммунную систему материнского организма в период беременности у материнского организма сразу после родов из яремной вены и у полученного потомства из пуповинной крови до приема молозива отбирали кровь.

Часть крови (1/3) использовали для получения сыворотки крови материнского организма и новорожденного животного. В пипетку Панченкова отбирали сыворотку крови материнского организма до метки Р и переносили на часовое стекло. Затем после ополаскивания пипетки в растворе гепарина аналогичным способом до метки К отбирали кровь новорожденного организма и вносили в лунку часового стекла. После, в течение 1 минуты перемешивали концом пипетки и набирали пипетку (сыворотка крови материнского организма + кровь новорожденного организма) до метки К, устанавливая в штатив под 45°. В качестве контроля использовали постановку реакции, в которой вместо крови новорожденного использовали изотонический физиологический раствор NaCl 0,9 %.

Учет реакции проводили через 1 час, анализируя качественные изменения в пробирке Панченкова с наклоном на 45° в опытном и контрольном образцах. Животных относили в группу с нарушением антигенного равновесия в фетоплацентарном комплексе с разницей СОЭ в опытной и контрольной пробах в пределах 3,9-8,9 мм/час.

Для определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плацента-потомство» вычисляли коэффициент изоантигенной нагрузки по формуле 6:

$$K1 = \frac{COЭo1 - COЭк1}{COЭo1} \times 100$$

$$K2 = \frac{COЭo2 - COЭк2}{COЭo2} \times 100 \quad (\text{формула б})$$

где K1 и K2 - коэффициенты изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный»; COЭo1, COЭo2 - скорость оседания эритроцитов материнской крови в присутствии сыворотки крови новорожденного и скорость оседания эритроцитов крови новорожденного в присутствии сыворотки крови матери. COЭк1, COЭк2 - скорость оседания эритроцитов материнской крови в присутствии изотонического раствора хлористого натрия и скорость оседания эритроцитов крови новорожденного в присутствии изотонического раствора хлористого натрия.

Степень изоантигенной нагрузки определяли по результатам исследования скорости оседания эритроцитов в опыте и контроле через 1 ч. СОЭ опытных новорожденных поросят составляла в среднем в опыте 3.1 и 2.4 в контроле соответственно 2.3 и 1,7 мм/час. Коэффициент изоантигенной нагрузки у жизнеспособных новорожденных составил в пределах 26-29 и приведен в таблице 51.

Таблица 51 – Определение изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плацента–потомство»

Степень изоантигенной нагрузки	Количество животных		Скорость оседания эритроцитов мм/час		
	свиноматки	поросята	Контроль	Опытная 1 группа	Опытная 3 группа
Низкая	20	180	1.7±0,12	3.1±0,01	2.4±0,47
Средняя	11	96	4.7±0,08	9.2±0,09	8.3±0,85
Высокая	11	121	5,2±0,03	15.3±0,05	13,9±0,61
*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой					

У 20 свиноматок (низкая степень изоантигенной нагрузки) после родов и у полученных от них 180 поросят установлены незначительное изменение скорости оседания эритроцитов в опыте составило 2,6±0,18 мм/час, а в контроле 1.7±0,12 мм/час

У 10 свиноматок со средней антигенной нагрузкой изоантигенную нагрузку новорожденных животных определяли по результатам СОЭ в

опытной и контрольной пробах через 1 ч. Скорость оседания эритроцитов (средние значения) поросят составила в опытной реакции $7,76 \pm 0,18$ мм/час, а в контрольном опыте $4,7 \pm 0,08$ мм/час.

У 11 свиноматок с высокой антигенной нагрузкой и 121 поросенка скоростью оседания эритроцитов через 1 ч в опыте и контроле определяли степень жизнеспособности поросят при рождении. СОЭ у нежизнеспособных животных составила в среднем опыте 15,3 и 13,9 мм/ч. а в контроле соответственно 6,4 и 5,2 мм/ч. Коэффициент изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный» у нежизнеспособных поросят был высоким и составил в пределах 57-69.

2.2.5.5 Тестирование и определение уровня иммунологической толерантности у животных

Тестирование и определение уровня иммунологической толерантности производили путем иммунизации производителей их же семенем, затем ставили реакцию агглютинации семени со специфической сывороткой крови потомства в разведении 1:50-1:100, а по степени схожести белков соматических клеток крови и семени устанавливали степень толерантного состояния иммунной системы.

От хряка-производителя брали семя и накапливали его путем глубокого замораживания в жидком азоте. Получали сперму общепринятым искусственным способом (рисунок 14) на чучело т.е. при помощи специального спермиоприемника, подвижность спермиев которой предварительно оценивают по 10 бальной шкале (для проведения опыта подвижность спермиев не должна быть менее 7 баллов).



Рисунок 22 – Получение спермы у хряка общепринятым искусственным способом на чучело

Для иммунизации семя центрифугировали при 2000 об/мин, осадок сперматозоидов трехкратно промывали физиологическим раствором и снова центрифугировали при 1500 об/мин. Осадок разводили физиологическим раствором в соотношении 1:1 и вводили хряку-производителю подкожно.

Через 10 дней после последней инъекции у производителя берали кровь, из которой готовили иммунную специфическую сыворотку. Для постановки реакции агглютинации между активными сперматозоидами и сывороткой крови потомства в 10 пробах делали разбавления сыворотки физиологическим раствором в кратных соотношениях от 1:50 до 1:100, в одиннадцатой–контрольной был физиологический раствор. Затем сыворотку семенной жидкости центрифугировали с последующей трехкратной промывкой ее физиологическим раствором. Каплю отмытого семени разбавляли в 1,5 мл физиологического раствора для получения рабочей смеси.

В каждую из 10 проб к сыворотке добавляли одну каплю рабочей смеси и помещали в термостат при 37°C на 30 мин, после чего производили читку реакции. По выраженности реакции устанавливали степень схожести между белками соматических клеток крови и семени, а, следовательно, и степень передачи свойств производителя своему потомству. Положительная реакция проявляется в данном исполнении при агглютинации в разведении 1:50.

В таблице 52, приведена схема иммунизации антигеном хряков производителей.

По первому примеру приведены данные (таблицу 52), где указаны объемы семени, инъецируемые подкожно. Интервал между 1-й и 2-й инъекциями 5 дней, между 2-й и 3-й – 7 дней.

Таблица 52 – Объемы семени, инъецируемые подкожно

Вид животных	Объем семени (1:1), мл		
	1 инъекция	2 инъекция	3 инъекция
Свиньи	5-7	7-9	9-11
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Смешивание сыворотки крови новорожденного животного производили в пропорции 1:1 с нативной спермой самца-производителя, подвижность спермиев которой предварительно оценена по 10 бальной шкале, а по снижению активности спермиев на один балл относительно контроля новорожденные животные были отнесены к первой степени ареактивности, на 2 балла - второй степени, на три бала - третьей степени и так далее по 5 степеням (5-я степень ареактивности у потомства была очень тяжелая с летальным исходом). В нашем опыте подвижность спермиев составила 9 баллов.

Полученную сыворотку новорожденных поросят смешивали, с целью оценки иммунологической толерантности в раннем постнатальном периоде, в пропорции 1:1 с исследуемой спермой самца-производителя. Через 5 минут после смешивания определяли повторно подвижность спермиев. Контроль проводили по сыворотке, смешанной 1:1 с физиологическим раствором.

Снижение активности спермиев на один балл относительно контроля соответствовало первой степени ареактивности, на 2 балла - второй степени, на три бала 3 степени и так далее по 5 степеням. 5-я степень ареактивности у потомства - очень тяжелая с летальным исходом. По результатам опыта (таблица 53) реакция спермиев с сывороткой поросят первой опытной грцппы соответствовала 4 степени, второй опытной группы -1 степени, а реакция спермиев с сывороткой опытной третьей группы соответствовала четвертой степени.

Таблица 53 – Определение иммунологической толерантности животных

Вид животных	Оценка в баллах новорожденного потомства		
	Опытная 1 группа	Опытная 2 группа	Опытная 3 группа
Свиньи	2 степень	1 степень	4 степень
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Полученные данные позволят проводить пренатальный скрининг изоиммунизационных эффектов у потомства за счет выявления состояния реакции агглютинации между полученной иммунной сывороткой крови потомства и семенем биологического самца производителя, с формированием группы животных с признаками иммунологической толерантности.

2.2.5.6 Повышение репродуктивной способности беременных свиноматок крупной белой породы и жизнеспособности новорожденного потомства

В качестве объекта исследования были выбраны свиноматки крупной белой породы в количестве 126 голов и полученный приплод (поросята). Индивидуальную минимальную пирогенную дозу для свиноматок определяли путем внутримышечного введения препарата «Пирогенал» ремонтным свинкам из расчета 0,16, 0,08, 0,04 мкг на 1 кг массы тела. Наиболее оптимальная дозировка для животных составила 0,08 мкг на 1 кг массы тела, которая способствовала повышению общей температуры тела до 0,5 °С, что указывает на достаточность оптимальной пирогенной дозы. За 1 час до инъекции у каждой свиноматки дважды ректально проводили замеры температуры с интервалом не менее 30 мин. Различия в показаниях температуры у одного и того же животного не превышали 0,1 °С. Средний показатель повышения температуры составлял до 0,5 °С.

Для установления положительного эффекта применения препарата были сформированы 3 группы супоросных свиноматок крупной белой породы по 10 голов – две опытных и одна контрольная и рожденные от них поросята по 10 голов. Опытные группы были подвергнуты изоиммунному эффекту в период беременности.

Первой опытной группе внутримышечно вводили 0,08 мкг/кг препарата за 60 дней до опороса, один раз в день до утреннего кормления общим курсом 15 инъекций. Второй опытной группе препарат в дозе 0,08 мкг/кг массы тела вводили за 60 дней до опороса каждый день (5 инъекций), за 40 дней до родов с интервалом 1 день (5 инъекций), за 20 дней до опороса с интервалом 2 дня (5 инъекций), общим курсом 15 инъекций. Третья группа животных служила контролем, которой не применяли вышеназванный препарат. Продолжительность применения составила 30 суток.

В результате исследования было установлено, что при инъекции «Пирогенала» опытным свиноматкам со второй половины беременности у них значительно повысились показатели иммунологического статуса, с

нормализацией параметров клеточного и гуморального звена иммунитета, устраняя признаки иммунодефицитного состояния наблюдаемого со второй половины беременности (таблица 54).

Таблица 54 – Иммунологические показатели свиноматок опытных и контрольной групп

Показатели	Сроки исследования			
	60–ый дн. (n=126)	90–ый дн.		
		Контрольная группа (n=42)	Опытная 1 группа (n=42)	Опытная 2 группа (n=42)
Лейкоциты, $10^9/л$	5,91±0,04*	6,57±0,16	7,28±0,11	8,87±0,14*
Лимфоциты, %	34,69±0,12	38,45±0,56	35,89±1,55	41,44±0,29
Т–лимфоциты $10^9/л$	1,45±0,18	1,82±0,03	2,14±0,19	2,41±0,14*
В–лимфоциты $10^9/л$	1,22±0,04	1,12±0,71	1,47±0,01	1,84±0,44
Эритроциты, $10^{12}/л$	3,88±0,41	4,07±0,74	5,02±0,11*	5,48±0,22*
Гемоглобин г/л	50,8±0,52	64,6±0,03	81,3±0,07*	84,1±0,19*
ФАН, %	32,24±0,17	34,50±1,23	42,64±0,16*	47,22±0,88*
БАСК, %	40,41±0,18	36,11±0,34	42,18±0,22	59,41±0,33
ЛАСК, %	31,22±0,26	31,08±0,13	34,62±0,13	42,36±0,15
Ig A, г/л	1,11±0,05	1,28±0,09	1,64±0,01	1,84±0,06
Ig G, г/л	11,21±0,36	14,36±0,44	16,84±0,12	19,78±0,15
Ig M, г/л	0,86±0,18	1,57±0,22	1,14±0,01	1,18±0,06
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>				

Однако применение предложенной дозировки и кратности введения препарата для опытных групп нашли свои различия в исследуемых показателях. Так на 90-ый день беременности у опытных групп свиноматок, по сравнению с 60-м днем, стабилизировались иммунобиологические показатели от первоначального состояния. Однако, у животных контрольной группы выше приведенные значения не претерпели значительных изменений от исходного иммунодефицитного состояния и составляли соответственно: количество лейкоцитов $7,28±0,11×10^9/л$ у 1-ой опытной группы,

$8,87 \pm 0,14 \times 10^9/\text{л}$ – 2-ой опытной группы, в контрольной группе $6,57 \pm 0,16 \times 10^9/\text{л}$. У свиноматок опытных групп содержание Т-лимфоцитов превышало данный показатель контрольных животных на 14,9%, 27,5%, а по В-лимфоцитам на 23,8%, 24,5%.

Некоторые из показателей естественной резистентности у экспериментальных групп животных также составляли достоверно высокие значения, а именно: содержание эритроцитов на 90 день беременности в первой группе было – $5,02 \pm 0,11 \times 10^{12}/\text{л}$, для второй – $5,48 \pm 0,22 \times 10^{12}/\text{л}$; содержание гемоглобина – $81,3 \pm 0,07$; $84,1 \pm 0,19$ г/л, ФАН – $32,64 \pm 0,16\%$, $47,22 \pm 0,88\%$ БАСК – $42,64 \pm 0,16\%$; $47,22 \pm 0,88\%$.

Концентрация основных классов иммуноглобулинов на 90-ый день беременности у первой и второй группы была в нарастающей степени и составляла по Ig A – $1,64 \pm 0,01$ и $1,84 \pm 0,06$ г/л, Ig G – $16,84 \pm 0,12$ и $19,78 \pm 0,15$ г/л соответственно.

При достоверно положительных тенденциях по исследуемым показателям наблюдается снижение изоимуннизационного эффекта организма беременных свиноматок от применения «Пирогенала», но следует отметить, что наивысший положительный эффект от его использования прослеживался у 2-ой опытной группы особей.

Применение «Пирогенала» опытными свиноматкам со второй половины беременности оказывало более благоприятное влияние на физиологический статус и морфофункциональную зрелость их потомства в неонатальный период. Так появление уверенной позы стояния и сосательного рефлекса у новорожденных поросят, полученных от свиноматок опытных групп реализовывалось раньше у 1-ой группы на 15,5 и 14,5 минут, у 2-ой на 18,0 и 24,1 минут.

Среднесуточное отклонение температуры тела у поросят контрольной группы на 1-ые сутки жизни было на $0,8^{\circ}\text{C}$ и $1,0^{\circ}\text{C}$ выше, чем у поросят опытных групп, на 2-ые сутки на $0,9^{\circ}\text{C}$ и $1,2^{\circ}\text{C}$, а на третьи сутки на $2,0^{\circ}\text{C}$ и $2,3^{\circ}\text{C}$ соответственно (таблица 55).

Таблица 55 – Показатели метобалического статуса потомства опытных и контрольной групп свиноматок

Показатели	Группы поросят		
	Контроль ная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Отклонение температуры тела на 1–е сутки	1,6±0,01	0,8±0,02	0,6±0,01
Отклонение температура тела на 2–е сутки	1,4±0,05	0,5±0,04	0,2±0,07
Отклонение температура тела на 3–и сутки	2,4±0,04	0,4±0,01	0,1±0,06
Появление уверенной позы стояния, мин	78,1±0,31	62,6±0,47	60,1±0,6 4
Появление сосательного рефлекса, мин	96,8±0,19	82,3±0,82	72,7±0,74
Масса тела при рождении, кг	1,22±0,02	1,35±0,11	1,52±0,08
Масса тела через 24 часа после рождения, кг	1,03±0,03	1,48±0,03	1,87±0,04
Коэффициент катаболизма	0,84±0,01	1,09±0,08	1,59±0,02
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Из анализа полученных данных выявлено, что у поросят из контрольной группы при рождении температура тела имела более низкие значения, чем у остальных сверстников, причем среднее значение температуры тела за первые сутки новорожденности на 2, 4, 6, 12, 24 час после рождения было снижено до 36,24±0,03; 36,38±0,09; 36,34±0,02; 36,58±0,03; 36,67±0,04 °С. Среднее значение температуры тела по контрольной группе новорожденных при рождении составляет 36,27±0,03 °С в отношении к 37,24±0,03 °С у опытных поросят, что свидетельствует о динамически уменьшенных значениях становления температуры тела за выбранный временной интервал у анализируемого потомства относительно показателей сверстников из опытных групп.

По живой массе среди новорожденных поросят, за первые сутки жизни, установлены различия. Ранг распределения в контрольной группе по величине массы тела при рождении был наибольшим от минимального значения – 864 г, до максимального – 1544 г, а после первых 24 часов новорожденности

максимальное значение составило – 1528 г и минимальное – 836 г. Амплитуда вариации по массе тела у данных животных при рождении составил 680 г, а через 24 часа – 664 г, что свидетельствует об увеличении соотношения первоначального значения к значению за интервал времени.

При всем этом, у особей из контрольной группы наблюдалась транзиторная убыль массы тела за первые сутки жизни. В тоже время поросята опытных групп имели более высокие тенденции данных показателей относительно анализируемой группы, при этом среди данных животных не регистрируется транзиторная убыль массы тела, а наблюдается положительная динамика за установленный интервал времени. Выявленная тенденция, выразившаяся в превосходстве по массе, сохраняется и через 72 часа новорожденности.

Уровень морфофункциональной зрелости новорожденных поросят определяют по разработанной методике с вычислением коэффициента катаболизма по формуле $K_k = \frac{M_2}{M_1}$, где M_2 – масса тела животного через 24 часа после рождения, а M_1 – масса тела животного при рождении. Данный коэффициент составил для первой группы поросят $K_1 = 1,09 \pm 0,08$, для второй $K_2 = 1,59 \pm 0,02$ и для третьей $K_3 = 1,12 \pm 0,04$, что находилось в пределах физиологических значений. В то же время у поросят контрольной группы данный коэффициент был равен $K_{\text{конт.}} = 0,84 \pm 0,01$, который принимал значения ниже физиологического уровня равного 0,99–1,05. Новорожденные поросята с низким коэффициентом катаболизма при неблагоприятных воздействиях внешней среды предрасположены к заболеваниям.

Основным и наиболее значимым эффектом от применения «Пирогенала» служило становление показателей иммунобиологического статуса поросят, полученных от свиноматок опытных групп по отношению к животным контрольной группы. Так за неонатальный период у полученного потомства имеются следующие различия (таблица 56).

Таблица 56 – Становление показателей иммунобиологического статуса поросят, полученных от свиноматок опытных групп по отношению к животным контрольной группы

Показатели	Срок исследования		
	3-ий дн. (n=320)	5-ый дн. (n=320)	10-ый дн. (n=320)
Т-лимфоциты, %	21,44 ± 0,16	30,23 ± 0,17	35,36 ± 0,26
	<u>36,55 ± 0,12 *</u>	<u>40,42 ± 0,21</u>	<u>46,33 ± 0,18 *</u>
	21,12 ± 0,14	32,11 ± 0,22	30,67 ± 0,45
В-лимфоциты, %	11,18 ± 0,28	16,88 ± 0,23	16,35 ± 0,41
	<u>16,55 ± 0,13</u>	<u>23,14 ± 0,26 *</u>	<u>20,34 ± 0,26 *</u>
	10,31 ± 0,19	16,44 ± 0,26	13,21 ± 0,33
Эритроциты, 10 ¹² /л	2,65 ± 0,14	2,01 ± 0,06	3,35 ± 0,11
	<u>3,35 ± 0,26</u>	<u>2,47 ± 0,08</u>	<u>3,83 ± 0,18 *</u>
	2,36 ± 0,37	2,32 ± 0,05	2,17 ± 0,14
Гемоглобин, г/л	80,12 ± 0,26	43,16 ± 0,77	53,36 ± 0,14
	<u>85,47 ± 0,44 *</u>	<u>71,48 ± 1,52</u>	<u>58,23 ± 0,67 *</u>
	72,43 ± 0,61	48,59 ± 0,86	39,57 ± 0,91
ФАН, %	38,44 ± 1,02	31,46 ± 0,86	37,25 ± 0,96
	<u>41,67 ± 0,95</u>	<u>36,24 ± 0,65</u>	<u>41,62 ± 0,42</u>
	32,38 ± 0,62	22,40 ± 0,43	31,74 ± 0,84
БАСК, %	30,15 ± 0,35	28,32 ± 0,44	31,47 ± 0,68
	<u>34,28 ± 0,42</u>	<u>31,74 ± 0,81</u>	<u>39,30 ± 0,85 *</u>
	28,02 ± 0,58	23,26 ± 0,31	27,61 ± 0,42
ЛАСК, %	21,44 ± 0,44	20,25 ± 0,26	34,21 ± 0,83
	<u>28,51 ± 0,20 *</u>	<u>27,05 ± 0,87</u>	<u>43,66 ± 0,96 *</u>
	21,93 ± 0,23	23,64 ± 0,38	30,08 ± 0,34
Ig A, г/л	0,29 ± 0,01	0,26 ± 0,02	0,33 ± 0,05
	<u>0,33 ± 0,04</u>	<u>0,47 ± 0,04</u>	<u>0,42 ± 0,02 *</u>
	0,21 ± 0,07	0,23 ± 0,01	0,27 ± 0,01
Ig G, г/л	3,72 ± 0,02	3,12 ± 0,18	4,22 ± 0,16
	<u>4,04 ± 0,19</u>	<u>3,83 ± 0,04</u>	<u>4,34 ± 0,12 *</u>
	3,21 ± 0,11	2,75 ± 0,11	2,87 ± 0,07
Ig M, г/л	0,49 ± 0,04	0,42 ± 0,09	0,51 ± 0,15
	<u>0,64 ± 0,05 *</u>	<u>0,56 ± 0,01</u>	<u>0,56 ± 0,13</u>
	0,34 ± 0,06	0,32 ± 0,02	0,36 ± 0,04

Примечание: в числителе отражены показатели поросят 1-ой, 2-ой опытной группы, а в знаменателе – контрольной *P<0.05

Установлено, что на 10-е сутки после рождения показатели иммунобиологического потенциала у поросят, полученных от второй группы свиноматок, находятся на достаточно высоком уровне. Это выражается в том, что по количественному составу Т- и В-лимфоцитов эта группа превышает контрольных особей достоверно в Т-лимфоцитах на 51,1 % и на 53,9 % по В-

лимфоцитам. Такое состояние можно характеризовать как выраженный процесс лейкопоза у второй группы. Несмотря на это две другие группы поросят, полученных от опытных свиноматок так же имеют более повышенное содержание Т-лимфоцитов на 15,3%, а по В-лимфоцитам на 23,8%.

Выявлено стимулирующее действие применения препарата также и на гемопоэз – количество эритроцитов у поросят опытных групп в 10-ый день было выше у 1-ой группы на $1,18 \times 10^{12}/л$, у 2-ой на $1,66 \times 10^{12}/л$, а содержание гемоглобина превышало на 13,79 и 18,66 г/л соответственно.

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов (ФАН), бактерицидной (БАСК) и лизоцимной (ЛАСК) активности сыворотки крови у поросят указывают на то, что уровень неспецифической гуморальной защиты у животных из опытных групп был более выражен. Так ФАН для животных первой группы находятся на уровне – 37,25%, БАСК – 31,47%, а ЛАСК – 34,21%, для второй ФАН составляет – 41,62%, БАСК – 39,30% и ЛАСК – 43,46%. Однако, у поросят контрольной группы данные значения составляли соответственно: ФАН – 31,74%, БАСК – 27,61% и ЛАСК – 30,08%.

Показатели концентрации основных классов иммуноглобулинов у поросят, полученных от опытных групп также превышают контрольных по Ig А на – 22,2% и 55,4%; Ig G на – 47,1% и 51,2%, а Ig М на – 40,9%, 55,6% по анализируемым группам.

Для оценки эффективности апробированного способа за подопытными поросятами осуществляли наблюдение в течение 2-х месяцев после рождения по данным роста, развития и сохранности, которые представлены (таблица 57).

Таблица 57 – Показатели роста и развития поросят исследуемых групп

Показатель	Группы животных		
	Контрольная группа (n=320)	Опытная 1 группа (n=320)	Опытная 2 группа (n=320)
Живая масса 1 поросенка при рождении, кг	1,22±0,04*	1,35±0,11	1,52±0,08*
Живая масса 1 поросенка в 30 дней, кг	6,24±0,05*	8,63±0,01	9,61±0,09*
Прирост живой массы 1 поросенка, кг	5,02±0,11*	7,28±0,18	8,09±0,28*
Живая масса 1 поросенка в 60 дней, кг	8,93±0,19*	12,84±0,04	18,94±0,21*
Среднесуточный привес, кг	0,148±0,05*	0,214±0,02	0,316±0,03*
Заболеваемость за 60 дней, %	44,8%	25,6%	15,3%
Смертность за 60 дней, %	29,8 %	-	-
Сохранность за 60 дней, %	70,2%	100%	100%
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Установлено, что за названный период наблюдения поросята, полученные от свиноматок опытных групп по абсолютному приросту, среднесуточному привесу достоверно превосходили на 50,8 % и 81,1 %, животных контрольной группы. Причем сохранность в названных группах составила 100 %, заболеваемость – 19,7%, в то время как у особей из контрольной группы сохранность была равна 70,2 %, заболеваемость – 44,8%, а смертность – 29,8%.

Таким образом, изменение по становлению основных иммунобиологических и морфофункциональных показателей поросят в неонатальный период дают основания утверждать о высоком адаптивном потенциале новорожденных животных из 2-ой опытной группы в отношении

поросят анализируемых опытной и контрольной групп, что способствует созданию более высокого уровня адаптивного, метаболического потенциала и иммунобиологического статуса у рождаемого потомства. Учитывая вышеприведенные данные, мы считаем, что использование предлагаемого способа может служить основой для повышения репродуктивной способности беременных животных и жизнеспособности получаемого приплода.

Согласно теории системогенеза, в антенатальный период происходит избирательное ускоренное развитие тех структур, которые к моменту рождения должны обеспечить существование новорожденного во внеутробных условиях.

Несмотря на сложность системы регуляции, все центральные метаболические пути к настоящему времени уже почти полностью установлены, однако механизмы их регуляции остаются до сих пор неизученными. Таким образом, ключ к решению проблемы создания высокоэффективных лекарственных средств любой фармакотерапевтической группы - в разгадке механизма регуляции в функциональной системе «мать-плацента-потомство».

2.2.5.7 Оценка функциональных резервов новорожденных поросят

Оценка функциональных резервов новорожденного организма, включала исследование крови с проведением биологического теста, в качестве которого использовали реакцию лейкоцитолита крови материнского организма с присутствием сыворотки крови новорожденного животного. Все это сводится к определению жизнеспособности новорожденного животного путем осуществления контрастных реакций лейкоцитолита крови в биологической системе «мать-новорожденный». Благодаря этому представляется возможным по установленной формуле вычислить процент лизированных лейкоцитов материнского животного под воздействием сыворотки крови новорожденного животного. После чего провести оценку выполненной реакции и установить прогноз функциональных резервов новорожденного организма.

В две пробирки вносят по 0,3 мл слабо подкрашенного метиленовой синькой раствора ацидин-пепсина в концентрации 25 мг/мл. В первую (опытную) добавляли 0,1 мл сыворотки крови новорожденного, а во вторую (контрольную) – 0,1 мл стерильного физиологического раствора. Затем в каждую пробирку добавляли по 0,02 мл крови материнского животного организма. Пробы тщательно перемешивали и помещали в термостат на 2 часа при температуре 37,5 °С. Кислая среда раствора ацидин–пепсина создавала условия для осмотического разрушения эритроцитов исследуемой крови, лейкоциты при этом оставались не разрушенными.

Белки сыворотки крови новорожденных, содержащиеся в опытной пробе, вызывают специфические повреждения сенсibilизированных лейкоцитов крови материнского организма и не действуют на лейкоциты, которые по отношению к ним не проявляют повышенной чувствительности. Выявить повреждения лейкоцитов путем подсчета возможно лишь в том случае, если они будут полностью разрушены. Разрушение поврежденных лейкоцитов осуществляется ферментом пепсином, который в кислой среде действует только на поврежденные клетки и не действует на неповрежденные.

Такое избирательное действие пепсина на поврежденные лейкоциты обеспечивает разницу при их подсчёте.

После инкубирования содержимым обеих пробирок поочередно заполняли камеру Горяева и подсчитывали количество лейкоцитов в 25 больших квадратах по общепринятой тривиальной методике, принятой для подсчета лейкоцитов.

Для вычисления процента лизированных лейкоцитов материнского организма под воздействием сыворотки крови новорожденного животного использовали формулу 7:

$$\text{ПАА} = \frac{\text{Л контроль} - \text{Л опыт}}{\text{Л контроль}} \times 100\% \quad (\text{формула 7})$$

где, ПАА – показатель аллергической альтерации лейкоцитов;

Л – количество лейкоцитов.

В первые дни после опороса у 18 голов свиноматок и соответственно у 170 голов, полученных от них поросят, были взяты пробы крови и определены показатели аллергической альтерации лейкоцитов. Результаты представлены в таблице 58.

Таблица 58 – Показатель аллергической альтерации лейкоцитов

№ п/п	Инд. номер животного	Количество лейкоцитов, тыс.		Показатель аллергической альтерации лейкоцитов, %
		в контроле	в опыте	
Опытная группа	8333	4,0	2,0	50,0
	8561	5,8	3,8	34,5
	8661	5,8	4,0	31,03
	8914	7,8	6,6	15,8
	7274	5,2	4,0	23,07
Контрольная группа	3643	4,0	4,0	–
	7746	7,8	7,2	7,69
	8430	5,6	5,6	–
	8120	5,6	5,6	–
	8148	7,6	7,4	2,63

Из общего количества исследованных свиноматок у 8 животных установлена повышенная чувствительность к белкам сыворотки новорожденных, т.е. показатель аллергической альтерации лейкоцитов составил 10% и выше.

Поросята, рожденные от свиноматок с повышенной чувствительностью к фетальным антигенам (показатель аллергической альтерации лейкоцитов 10% и более) были менее жизнеспособными, что отражено в таблице 59.

Таблица 59 – Показатели естественной резистентности животных групп сравнения

Показатели	Ед. измерения	Группы поросят	
		опытная (n=320)	контрольная (n=320)
Живая масса	кг	1,096±0,12*	1,596±0,19
Эритроциты	10 ¹² /л	5,41±0,56*	7,84±0,28
Гемоглобин	г/л	56,3±0,46*	84,2±0,22
Лейкоциты	10 ⁹ /л	3,49±0,24	3,64±0,29
СОЭ	мм за 24 часа	5,88±0,75	3,44±0,19
Фагоцитарная активность (ФАН)	%	48,72±0,32	55,76±0,51
Фагоцитарная интенсивность (ФИ)	мкр.кл.	3,12±0,20	3,79±0,39
Фагоцитарное число (ФЧ)	мкр.кл.	2,26±0,23	3,33±0,35
Лизоцимная активность (ЛАСК)	%	23,40±0,28	38,20±0,44
<i>*P≤0,05 – достоверность различий с контрольной группой</i>			

Исследования проводили на двух группах новорожденных поросят. В опытную группу вошли поросята, полученных от свиноматок у которых наблюдалась повышенная чувствительность к антигенам новорожденных (таблица 59). Контрольная группа была представлена поросятами от несенсибилизированных свиноматок. Различия между свиноматками по показателям аллергической альтерации лейкоцитов были статистически достоверными. Этот показатель в группе свиноматок с повышенной

чувствительностью составил $26,90 \pm 0,59\%$, а в контрольной группе – $6,49 \pm 0,39\%$.

У поросят обеих групп в суточном возрасте исследовали кровь по показателям естественной резистентности. В течение 7 месяцев учитывали заболеваемость и летальность животных.

Как видно из представленных данных, поросята опытной и контрольной групп существенно отличались друг от друга по показателям, характеризующим состояние естественной резистентности. При анализе гематологических показателей установлено, что поросята, родившиеся от сенсibilизированных свиноматок, имели меньшее количество эритроцитов, составляющее $5,41 \pm 0,56 \times 10^{12}/л$ по сравнению с поросятами контрольной группы, аналогичный показатель которых достигал $7,84 \pm 0,28 \times 10^{12}/л$. Идентичные различия наблюдались между группами животных и по содержанию гемоглобина.

По содержанию лейкоцитов существенных различий между группами животных не установлено. Однако функциональная активность лейкоцитов у животных опытной группы было значительно ниже, чем у контрольной.

Фагоцитарная активность нейтрофилов у поросят контрольной группы составила в суточном возрасте $55,76 \pm 0,51\%$, а у поросят опытной группы она была равна соответственно $48,72 \pm 0,32\%$. Имели место различия и по другим показателям лейкоцитарного фагоцитоза (ФИ, ФЧ).

В величине лизоцимной активности сыворотки крови также имелись достоверные различия, причем эти показатели у животных контрольной группы значительно превосходили аналогичные у поросят опытной группы на $38,7\%$.

Поросята опытной и контрольной групп отличались между собой по живой массе. Так, масса тела у животных опытной группы составила $1,096 \pm 0,12$ кг, а у животных контрольной – $1,596 \pm 0,19$ со статистически достоверным различием соответственно. Таким образом, по показателям естественной резистентности в суточном возрасте поросята, рожденные от

матерей с повышенной чувствительностью к белкам сыворотки крови, существенно отличались от своих сверстников. Слабое проявление естественной резистентности и более низкая масса поросят у опытной группы связаны с нарушением плацентарного барьера, явлениями изоиммунизации материнского организма антигенами плода и неблагоприятным влиянием иммунологических факторов материнского организма на процессы роста и развития плода.

Важным критерием жизнеспособности новорожденных животных является их заболеваемость и летальность в процессе онтогенеза. В результате проведенных исследований было установлено, что в месячном возрасте заболеваемость в опытной группе поросят составила 16,0%, а в контрольной - 4,0%. Летальность в опытной группе животных составила 12,0%, при этом среди поросят контрольной группы случаев падежа не регистрировалось. Дальнейшие наблюдения за поросятами до 7 месячного возраста показали, что процент заболеваемости и летальности животных опытной группы был значительно выше, чем в контрольной. Всего пало в опытной группе 24,0%, а в контрольной - 4,0% от всего поголовья животных.

Учитывая высокую интенсивность процессов роста и развития, а также тот факт, что питание плода осуществляется через плаценту, важное значение имеет внутриутробное развитие и полноценность плацентарного барьера.

Барьерная функция плаценты проявляется только в физиологических условиях. Под воздействием патогенных факторов барьерная функция плаценты нарушается, и она становится проницаемой даже для таких веществ, которые в обычных физиологических условиях через нее проходят в ограниченном количестве.

Нарушение плацентарного барьера сказывается на уровне роста и развития плода с одной стороны, а с другой – происходит изоиммунизация материнского организма антигенами плода, сопровождающаяся повышением чувствительности организма с преобладающим проявлением клеточных феноменов, при отсутствии усиленного синтеза антител.

2.2.5.8 Мониторинг внутриутробного инфицирования с предотвращением ранних репродуктивных потерь у продуктивных животных и прогнозирование жизнеспособности у свиней

Электронный информационно-аналитический ресурс по интегральной системе мониторинга и прогнозирования внутриутробного инфицирования с предотвращением ранних репродуктивных потерь.

Главная страница (рисунок 23) представлена в доступной форме для пользователей различного уровня навыков по компьютерному интерфейсу.



Рисунок 23 – Главная страница программы ЭВМ №2018665662

Во второй вкладке возможно ознакомление с историческим аспектом научного развития ФГБОУ ВО Ставропольский государственный университет (рисунок 24).



Рисунок 24 – Исторический аспект развития университета

Третья вкладка (рисунок 25) позволяет ознакомиться с научно-исследовательским потенциалом факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Ставропольский государственный аграрный университет.



Рисунок 25 – Научно-исследовательский потенциал факультета ветеринарной медицины СтГАУ

Для расчета показателей аллергической альтерации лейкоцитов необходимо сделать выбор критериев (рисунок 26).



Рисунок 26 – Критерии оценки аллергической альтерации лейкоцитов у животных

Для вычисления процента лизированных лейкоцитов материнского животного под воздействием сыворотки крови новорожденного животного программа использует разработанную нами формулу 8:

$$\text{ПАА} = \frac{L_{\text{контроль}} - L_{\text{опыт}}}{L_{\text{контроль}}} \times 100\% \quad (\text{формула 8})$$

где, ПАА – показатель аллергической альтерации лейкоцитов;
L – количество лейкоцитов.

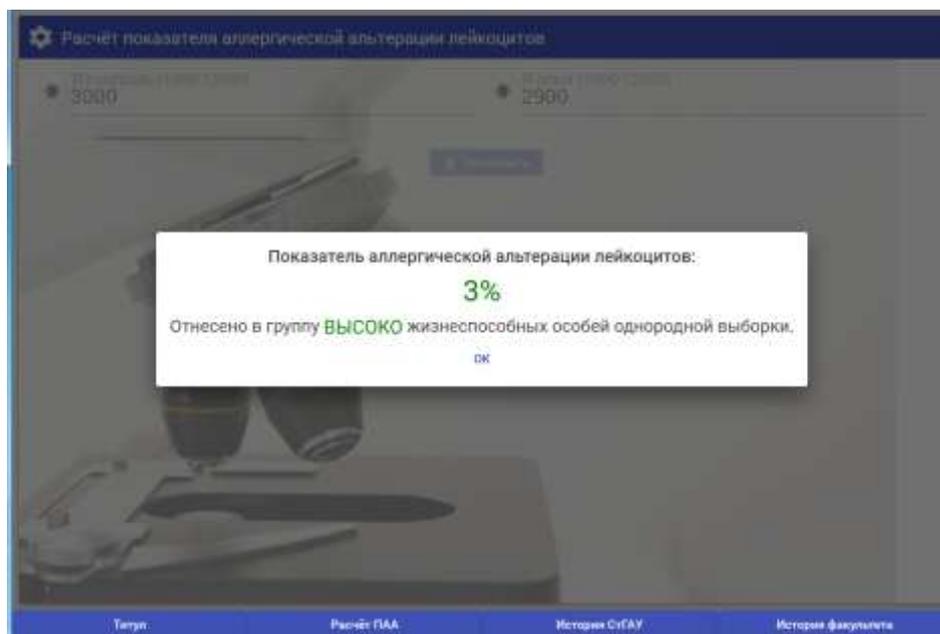


Рисунок 27 – Выявление животных с низким показателем альтерации лейкоцитов (ПАА <3%)

Затем необходимо провести выявление состояния повышенной чувствительности материнского организма к антигенам плода реакцией лейкоцитолита клеток в присутствии специфических белков новорожденного организма. Благодаря этому представляется возможным по установленной формуле вычислить процент лизированных лейкоцитов материнского животного под воздействием сыворотки крови новорожденного животного, после чего провести оценку выполненной реакции и установить прогноз функциональных резервов новорожденного организма.

При значении показателя аллергической альтерации лейкоцитов более 10% животных относят к группе с повышенной чувствительностью (рисунки 27, 28).

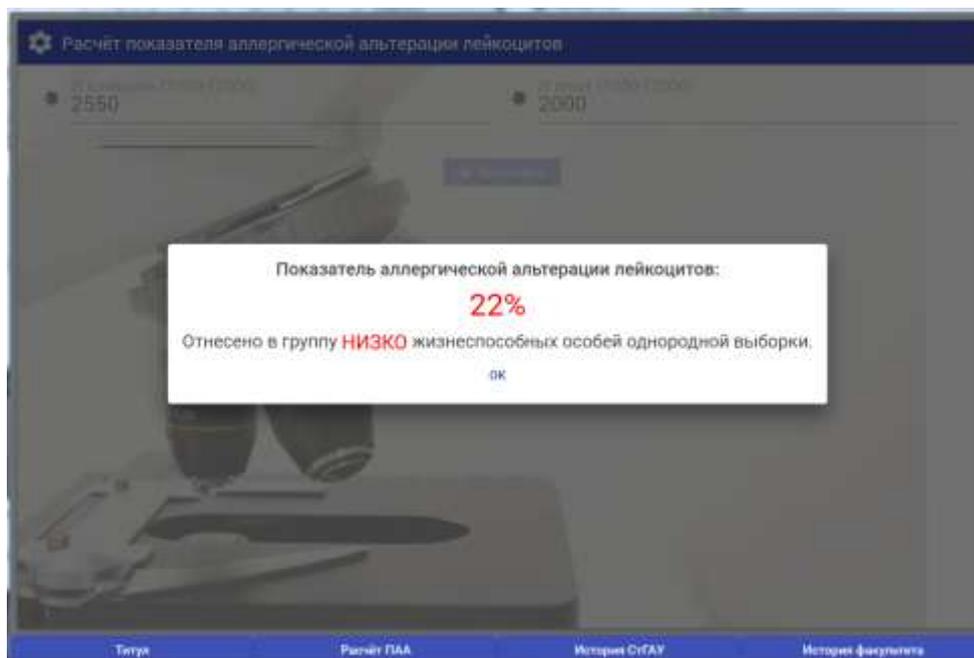


Рисунок 28 – Выявление животных с низким показателем альтерации лейкоцитов (ПАА >22%)

Взаимозащита матери и плода от воздействия иммунологических факторов связана с наличием биологических барьеров – плаценты, плодных оболочек и околоплодной жидкости. Наличие плацентарного барьера исключает возможность иммунизации (изоиммунизации) организма матери антигенами плода и наоборот, попадание иммунологических факторов материнского организма в организм плода.

Теоретическая и практическая значимость программы для ЭВМ заключается в том, что:

- состояние повышенной чувствительности материнского организма к антигенам плода устанавливается в реакции лейкоцитолита клеток в присутствии специфических белков новорожденного организма;
- предлагаемая разработка является доступной по техническому выполнению на любом сельскохозяйственном предприятии, учитывая важное значение внутриутробного развития и полноценность плацентарного барьера.

Нами установлено, что изоиммунизация материнского организма антигенами плода, сопровождающаяся повышением чувствительности организма с преобладающим проявлением клеточных феноменов.

Электронный информационно-аналитический ресурс по интегральной системе оценки и прогнозирования жизнеспособности сельскохозяйственных животных и птицы.

Главная страница представлена следующим образом (рисунок 29) в доступной форме для пользователей различного уровня навыков по компьютерному интерфейсу.

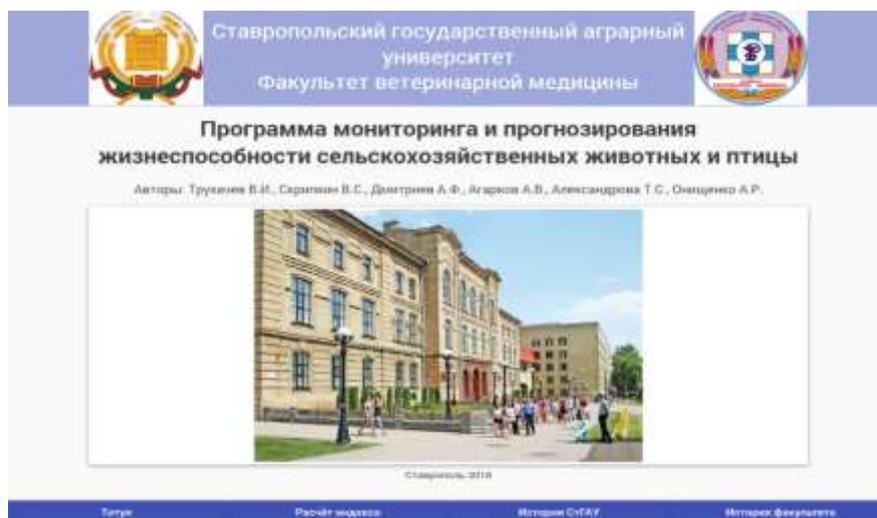


Рисунок 29 – Главная страница программы ЭВМ №2018660665

Во второй вкладке возможно ознакомление с историческим аспектом научного развития ФГБОУ ВО Ставропольский государственный университет (рисунок 30).



Рисунок 30 – Исторический аспект ФГБОУ ВО Ставропольского ГАУ

Третья вкладка (рисунок 31) позволяет ознакомиться с научно-исследовательским потенциалом факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».



Рисунок 31 – Научно-исследовательский потенциал факультета ветеринарной медицины

Для оценки жизнеспособности необходимо сделать выбор критериев оценки и прогнозирования жизнеспособности новорожденных животных (рисунок 32).

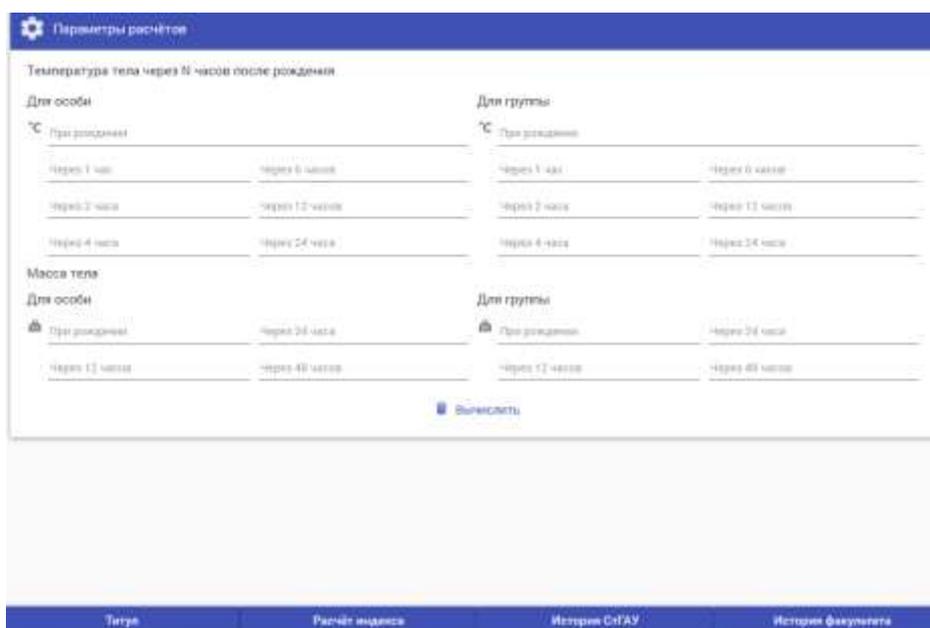


Рисунок 32 – Критерии оценки и прогнозирования жизнеспособности

Осуществление прогноза проводится следующим образом: после родов у новорожденных животных и молодняка сельскохозяйственной птицы измеряется температура тела и ее изменения в интервале через 1, 2, 4, 6, 12, 24 часа. Массу тела животного и молодняка сельскохозяйственной птицы определяют сразу после рождения и через 24 часа жизни. Выбранный временной интервал для измерения температуры тела характеризуется тем, что в эти часы в течение первых суток после рождения (вылупления) регистрируется наибольшая и наименьшая амплитуда колебаний значений температуры тела, а для измерения массы тела интервал 1-24 часа позволяет характеризовать суточный метаболический потенциал новорожденного организма.

Затем проводят вычисление отклонений средних арифметических значений (температуры и массы тела) после рождения (вылупления) и в установленном временном аспекте. Полученные значения параметров конкретного животного (птицы) сопоставляют с теми же значениями в среднем по группе (среднее значение температуры тела группы животных и молодняка сельскохозяйственной птицы при рождении $\bar{X} T_{гр.р}$ и через временной интервал после рождения $\bar{X} T_{гр.}$), массу тела – по среднему значению у группы животных (молодняка сельскохозяйственной птицы) при рождении ($\bar{X} M_{гр.р}$) и среднему значению через 24 часа после рождения ($\bar{X} M_{гр.}$). Затем рассчитывают отношение среднего значения температуры и массы тела конкретной особи к аналогичным значениям по группе формулы 9, 10:

$$T = \left(\frac{\bar{X} T_{о.} - T_{о.р}}{\bar{X} T_{гр.} - \bar{X} T_{гр.р}} \right) \quad (\text{формула 9}) \quad \text{где,}$$

T – отношение среднего значения температуры тела конкретной особи к аналогичным значениям по группе;

$T_{о.р}$ – температура тела конкретной особи при рождении;

$\bar{X} T_{о.}$ – среднее значение температуры тела конкретной особи через 1, 2, 4, 6, 12, 24 часа после рождения;

$\bar{X} T_{гр.р}$ – среднее значение температуры тела группы животных (молодняка сельскохозяйственной птицы) при рождении;

$\bar{X} T_{гр.}$ – среднее значение измерений температуры тела группы животных (молодняка сельскохозяйственной птицы) через 1, 2, 4, 6, 12, 24 часа после рождения.

$$M = \left(\frac{M_{o.} - M_{o.p}}{\bar{X} M_{gr.} - \bar{X} M_{gr.p}} \right) \quad (\text{формула 10}) \quad \text{где,}$$

M – отношение среднего значения массы тела конкретной особи к аналогичным значениям по группе;

$M_{o.p}$ – масса тела конкретной особи при рождении;

$M_{o.}$ – масса тела конкретной особи через 24 часа после рождения;

$\bar{X} M_{gr.p}$ – среднее значение массы тела у группы животных (молодняка сельскохозяйственной птицы) при рождении;

$\bar{X} M_{gr.}$ – среднее значение массы тела у группы животных (молодняка сельскохозяйственной птицы) через 24 часа после рождения.

На основании полученных средних значений температуры и массы тела животных вычисляют индекс жизнеспособности ($ИЖ$). Расчет осуществляют по формуле 11:

$$ИЖ = T + M \quad (\text{формула 11}) \quad \text{где,}$$

$ИЖ$ – индекс жизнеспособности;

T – отношение среднего значения температуры тела конкретной особи к аналогичным значениям по группе;

M – отношение среднего значения массы тела конкретного животного к аналогичным значениям по группе.

Со значением индекса $ИЖ > 2$ животных (сельскохозяйственной птицы) относят в группу **высокожизнеспособных**, при значении индекса $ИЖ < 2$ животных (сельскохозяйственную птицу) относят в группу **низкожизнеспособных** (рисунок 33).

Параметры расчетов

Температура тела через N часов после рождения

Для особи		Для группы	
Пол рожд.	Пол рожд.	Пол рожд.	Пол рожд.
36	36	36	36
Через 1 час	Через 5 часов	Через 1 час	Через 5 часов
37	38	36	39
Через 2 часа	Через 11 часов	Через 2 часа	Через 12 часов
39	38	39.1	37.5
Через 4 часа	Через 20 часов	Через 4 часа	Через 20 часов
39	36	38.6	40

Масса тела

Для особи		Для группы	
Пол рожд.	Пол рожд.	Пол рожд.	Пол рожд.
1.2	1.85	1.25	1.35
Через 11 часов	Через 20 часов	Через 11 часов	Через 20 часов
1.5	0.95	1.26	1.88

Вычислить

Результат

ИЖ = 2,8; (0,77 + 2,03)
ИЖ > 2 – отнесено в группу **Высокожизнеспособных**

Титул Расчет индекса История СГГАУ История факультета

Рисунок 33 – Вычисление индекса жизнеспособности животных

На основании представленных материалов можно утверждать, что наиболее благоприятный прогностический критерий отбора жизнеспособных особей на ранних этапах неонатального периода является – динамика температуры и массы тела за первые 24 часа жизни.

Простота, универсальность и динамическая характеристика критериев весьма существенны для оценки и прогнозирования течения неонатального периода. Способ позволит повысить чувствительность и информативность, упростить и сократить время определения жизнеспособности новорожденных животных в первые сутки жизни.

Теоретическая и практическая значимость программы для ЭВМ заключается в том, что:

- расширяется представления о функциональных возможностях новорожденного организма (потомства птицы);
- разработка может служить физиологической основой организации режима выращивания и профилактики заболеваний животных (сельскохозяйственной птицы);
- при использовании возможно прогнозирование риска летального исхода.

Таким образом, получены данные, позволяют выявлять скрытые закономерности, обусловленные влиянием изоиммунизации на функциональное состояние новорожденного организма, определяя его жизнеспособность для дальнейшего существования.

Разработка и внедрение в практику таких критериев оценки и прогнозирования жизнеспособности будет составлять основу эффективных превентивных профилактических мероприятий при выращивании животных в хозяйствах любых форм собственности.

3. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате наших исследований было показано, что у частично толерантных животных понижена антителообразующая активность. При индукции толерантности в эмбриональном и раннем постнатальном периоде ее длительность зависит от персистенции антигена в функциональной системе «мать-плод». Состояние ареактивности у взрослых животных возникает не только от высоких доз антигена, но и при дробном его введении в минимальных иммуногенных и субиммуногенных количествах. Патогенетические механизмы толерантного состояния у животных зависят от их иммунобиологического статуса. Ареактивность, возникающая у новорожденных животных, носит фазовый характер. После однократного введения антигена иммунная реакция на последующие тест-инъекции оказывается в той или иной мере сниженной.

Причины изоиммунизационного явления лежат в относительной морфофункциональной незрелости защитных систем организма, что является специфичным для раннего периода постнатальной жизни.

До настоящего времени перед ветеринарной наукой и практикой стоят вопросы зависимости здоровья новорожденных животных от состояния иммунной системы материнского организма, не раскрыты все тонкости механизмов изоиммуннизации существует необходимость разработки новых методик определения жизнеспособности новорожденных животных.

Специфика иммунологических взаимоотношений, которые формируются в процессе развития функциональной системы «мать-плацента-потомство» связана с основными формами иммунного реагирования. В процессе внутриутробного развития между организмом матери и плодом в норме складываются взаимоотношения, препятствующие иммунизации организма матери антигенами плода, которые значительно отличаются от материнских. Не наблюдается в этот период и передачи антител от матери к плоду, что связано со строением плаценты свиней (эпителиохориальный тип плацентации).

Исследованиями по выявлению изоимуннизации антигенами плода, при помощи реакций аллергической альтерации, варьировало от 27,8 до 34,8% у свиноматок первого опроса и колебалась в пределах 44,7-52,8% у свиноматок у которых наблюдалась в последующих беременностях. Становление механизмов неспецифической реактивности поросят, полученных от изоимунных свиноматок по сравнению с нереагирующими животными было изучено в динамике. Общей закономерностью является отставание во времени реализации генетического потенциала механизмов защитных реакций, скорости роста, развития и продуктивности молодняка от реагирующих свиноматок.

Потомство не изоимуннизированных свиноматок превосходило поросят, рожденных животными, имеющими изоимунный эффект по содержанию эритроцитов, гемоглобина, иммуноглобулинов. Скорость оседания эритроцитов у изоимунного потомства была выше, чем у их сверстников от нереагирующих матерей, фагоцитарная активность нейтрофилов крови, бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови была выше у потомства от матерей не подвергшихся изоиммунизации фетальными антигенами, заболеваемость среди оптного потомства была выше в 1,7-2,45 раза, смертность выше в 2,2-3,8 раза.

Иммунизации животных без учета физиологического состояния, изоимунной чувствительности организма к фетальным антигенам, кратности введения и интервалов их поступления препаратов в организм, очередности введения различных отдаленных поствакцинальных реакций научно необоснованы и обуславливают возникновение не только аутоиммунных процессов, но и иммунопатологических состояний.

Антигенные нагрузки вызывают длительную перестройку организма. Насыщенность ветеринарных обработок на фоне выявленного изоиммунизационного состояния в функциональной системе «мать-плацента-потомство» ведет к снижению устойчивости организма животных и к риску возникновения заболеваний. Для любой защитной реакции существует

определенный «порог», превышение которого индуцирует деструктивные процессы, чем интенсивнее патогенное воздействие, тем шире круг систем, находящихся в состоянии деструкции.

Один и тот же антиген, в зависимости от иммунобиологического состояния организма, различных условий его применения, может вызвать диаметрально противоположные по характеру реакции организма - иммунитет, т.е. устойчивость, аллергию или повышенную чувствительность и иммунологическую толерантность (невосприимчивость).

Научно-обоснованные суждения о целесообразности и эффективности применения лечебно-профилактических средств, используемых в ветеринарной практике, могут быть только на основе сопоставления взаимно противоположных свойств их качества лечебно-профилактической активности, степени повреждающего действия и отдаленных нарушений функциональных систем.

Поэтому специфика иммунобиологического взаимоотношения в функциональной системе «мать-плацента-потомство» дает основание для суждения об полноценности условий развития плода и жизнеспособности потомства.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все формы иммунологической реактивности характеризуются приспособлением функциональных механизмов живого организма к выполнению специализированных функций по поддержанию постоянства внутренней среды. Все патологические процессы сопровождаются быстрым фазовым повышением устойчивости организма. При этом фазовые изменения в течение отдельных стадий адаптационного синдрома, проявляются в альтерации и регенерации, угнетении и стимуляции жизненных функций, отражают противоречивость любой реакции организма, направленной на восстановление нарушенного гомеостаза.

Единство защитного и повреждающего в механизмах иммунитета прослеживается при анализе биологической роли антител. Следует обратить внимание на ошибочность взглядов, рассматривающих синтез антител и их биологическое действие только на защитную реакцию организма. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что иммунные комплексы (антиген-антитело) в зависимости от природы и локализации антигена в организме, характера антитела и условий, в которых они образуются и действуют, могут быть и фактором защиты, и причиной возникновения тяжелых патологических состояний.

Для удобства рассмотрения протективные функции антител, проявляющиеся самостоятельно или в кооперации с другими защитными механизмами, можно систематизировать в следующем виде:

- Опсонизация антителами чужеродных частиц (микробов, клеток), облегчающая захват и переваривание их клетками-фагоцитами.
- Усиление фиксации комплемента на поверхности комплекса антиген-антитело, в результате чего значительно активизируется действие ферментов, совершающих лизис антигенных частиц.
- Экранирование противовирусными антителами восприимчивой клетки, препятствующее адсорбции на ней вирионов. Разрушение антителами рецепторов вирусов, необходимых для прикрепления их к клетке.

- Использование молекул антител или их фрагментов для синтеза клеточных структур, клеточных мембран, избирательно задерживающих проникновение в клетку антигенов, а также для образования специфических по отношению к данному антигену клеточных ферментов.
- Стимуляция антителами размножения гомологичных клеток, что является своеобразной реакцией их на повреждение ферментных систем. Усиление митотической активности клеток сопровождается повышением их физиологических функций, в том числе и синтеза антител.
- Осуществление антителами, фиксированными на поверхности иммунокомпетентных клеток, функции распознавания антигена при повторном его введении в организм.
- Обеспечение антителами корпускуляризации антигена, в результате чего увеличивается антигенфиксирующая и антителопродуцирующая способность клеток лимфатических узлов.

Повреждающее действие антител также имеет многообразные формы проявления. В качестве примера мы приводим результаты наших исследований изоиммунизации в функциональной системе «мать-плацента-потомство». Установленный изоиммунизационный эффект является следствием прямого повреждающего влияния антител материнского организма на иммуногенный фон новорожденного, обусловленные иммунологическими комплексами антиген-антитело в фетоплацентарном комплексе.

Полученными результатами показано, что новорожденные поросята подвергнутые в фетальный период изоиммунизации отвечают синтезом специфических антител. При изучении антителообразования у нормальных плодов свиноматок на введение антигенов вирус-вакцины против болезни Ауэски было обнаружено, что полученное потомство синтезирует в высоком

титре специфические агглютинины после стимуляции их в поздние стадии супоросности.

Доказательством иммунного ответа является не только антителообразование, но и иммунологическая толерантность. В экспериментах показано индуцирование иммунологической толерантности к материнским антигенам.

По нашему мнению, основным условием индуцирования иммунологической толерантности является внутриутробный контакт антигена с развивающимся хорионом плода. В одних случаях это закапчивается аборт, в других рождается толерантный организм, у которого при повторном инфицировании возникает ареактивное состояние.

Таким образом, проведенными исследованиями со всей очевидностью показано, что плоды свиноматок в период антенатального развития обладают иммунологической реактивностью и на антигенное стимулирование в зависимости от пути воздействия, характера патогена, стадии беременности и степени созревания Т- и В-клеточных систем иммунитета отвечают синтезом специфических антител или у них индуцируется толерантность.

На основании полученных данных можно сделать вывод, что продукцию антител следует рассматривать как особый физиологический механизм, являющийся не только защитным приспособлением. Одинаковый по своей сущности этот механизм может принимать участие в защитных функциях организма и в его метаболических процессах, а также в патологических реакциях.

Из общего числа свиноматок (42 головы) которые имели дихориальное диамниотическое расположение плодов у 9 или 21,4% имела место изоиммунизация антигенами новорожденного потомства. Остальные животные в период беременности не были подвержены изоиммунизационному эффекту. У остальных 78,6% беременных животных изоиммунизация отсутствовала.

Таким образом, механизм адаптационного синдрома представляет собой демонстративное проявление противоречивости иммунного ответа, единства и взаимосвязи стереотипных и специфических его форм. Результаты диссертационного исследования подтверждают положение о том, что специфические иммунные реакции развиваются на фоне общих адаптационных сдвигов, но специфический иммуногенез индуцируется лишь после предварительного комплекса стереотипных изменений и поэтому данные процессы следует рассматривать как единое целое.

Поскольку онтогенез в сокращенном виде повторяет филогенез, на ранних этапах эмбрионального развития, когда система иммуногенеза еще не сформировалась морфологически и не созрела функционально, организм не способен различать «свое» и «чужое», а также реагировать специфической продукцией антител в ответ на внедрение конкретного антигена. Этот период является очень ответственным для формирования организма. В это время организм чрезвычайно чувствителен к повреждающему действию экзогенных факторов, а также изоантител.

В онтогенезе первыми формируются филогенетически более древние факторы неспецифической реактивности, которые играют ведущую роль в защите раннего постнатального периода (до появления способности к активному специфическому иммуногенезу) от различных экзогенных факторов. В ходе онтогенеза изменяется лишь выраженность тех или иных форм реагирования, а также характер взаимоотношений их между собой. Это необходимо учитывать при оценке состояния иммунореактивности здорового и больного животного, а также при проведении иммунизации.

При попадании в организм различных антигенов неспецифические факторы защиты включаются первыми в их обезвреживание. Являясь носителями генетически чужеродной информации, антигены захватываются макрофагами. Следовательно, функция выработки антител оказывается прямым продолжением и развитием фагоцитоза. В этом процессе находит отражение единство и противоречивость механизмов специфической и

неспецифической иммунологической реактивности. Так без предварительной обработки антигена ферментами макрофагов в большинстве случаев антителопродуцирующая система не включается и антиген индуцирует не синтез антител, а иммунологическую толерантность. В свою очередь, синтезированные антитела активизируют важный фактор неспецифической резистентности – фагоцитоз, делают его более быстрым и завершенным. Итак, любой антиген, вызывая в организме общую (стереотипную) реакцию, направленную на восстановление гомеостаза, индуцирует одновременно и специфическую перестройку белкового синтеза, ускоряющую выведение данного патогенного фактора. В этом и есть единство общих и специфических форм иммунореактивности. Противоположность их заключается в следующем.

Во-первых, при высоком уровне активности факторов неспецифической резистентности возможна полная дезинтеграция чужеродных агентов уже на первом этапе иммуногенеза. В этом случае антитела не образуются что лишает организм специфической защиты к повторному попаданию данной вредности и исключает возможность формирования иммунологической памяти, без которой нельзя обеспечить ревакцинальный эффект. Поэтому и дефект, и высокая активность макрофагального звена иммуногенеза могут обусловить ингибицию антителообразования, хотя причины и конечные последствия ее будут различные.

Во-вторых, индуцированный антигеном специфический иммуногенез может сопровождаться временным угнетением неспецифической резистентности организма. Этот факт служит необоснованным поводом для противопоставления стереотипных и специфических факторов защиты, для доказательства наличия только антагонистических взаимоотношений между ними. Между тем всесторонний анализ механизма иммуногенеза показывает, что значительное и продолжительное угнетение неспецифической резистентности наблюдается, как правило, при назначении искусственной

иммунизации без учета физиологических возможностей организма (введение антигенов в период иммунологической незрелости или во время развившейся иммунодепрессии, назначение чрезмерно интенсивных циклов иммунизации) или при естественном инфицировании организма большими дозами высоковирулентных возбудителей. В этих случаях наблюдается значительная поломка адаптационных механизмов, сопровождающаяся резким угнетением не только неспецифических факторов защиты, но и специфического иммуногенеза. Во всех остальных случаях временное угнетение неспецифической резистентности сменяется в процессе иммуногенеза или после его завершения восстановлением исходного состояния и повышением общей резистентности до более высокого уровня.

Животноводство несет большие потери поголовья в процессе его выращивания и эксплуатации. Важно при этом выявлять причины столь существенных потерь и значение технологических нарушений условий промышленной технологии. Значительные потери (падеж молодняка раннего возраста) обусловлены нарушением условий внутриутробного периода развития. Они сопровождаются рождением потомства с признаками пониженной жизнеспособности, высокой его заболеваемостью и смертностью.

В связи с тем, что нарушение условий внутриутробного развития обнаруживаются несколько позднее т.е. при проявлении новорожденных животных, эффективность применения профилактических мероприятий весьма незначительна чтобы получать молодняк, приспособленный к условиям промышленной технологии необходимо новые, простые и достаточно эффективные методы раннего определения степени жизнеспособности и потенциальных возможностей (функциональных резервов) в отношении их дальнейшего роста и развития.

Раннее определение пламенной и хозяйственной ценности новорожденных животных выявление среди них ослабленных, с пониженной жизнеспособностью особей позволит предотвратить возможность

возникновения заболеваний и принять необходимые меры для предупреждения их гибели.

Большинство проблем, связанных с инфекционными и незаразными заболеваниями свиней в свиноводческих хозяйствах вызываются эндогенными инфекциями. Другими словами, патологии у свинопоголовья в большинстве случаев вызываются не заносом агента извне, а накоплением и активацией возбудителей, встречающихся в том числе и в благополучных хозяйствах из-за нарушений условий плацентации (изоиммунизация) в функциональной системе «мать-плацента-потомство», учитывая особенности иммунологической реактивности у новорожденных поросят. На основании вышесказанного можно отметить следующее:

1. Организм новорожденных поросят способен реагировать на антигены как образованием антител, так и клеточными иммунными реакциями. Однако состояние иммунологической толерантности обуславливает относительную ареактивность.
2. Иммунологическая толерантность связана с тем, что организм плода в утробе матери подвергается влиянию иммунологических факторов материнского организма.
3. Процесс иммунологического созревания характеризуется снижением иммунологической толерантности и усилением способности как к гуморальному иммунному ответу, так и к клеточным реакциям связанных с повышением способности к узнаванию и отторжению чужеродных клеток.
4. Новорожденные поросята уже в первые дни после рождения способны давать четкий иммунный ответ. Однако пассивно полученные материнские антитела, оказывают иммуносупрессивное действие.

Все полученные экспериментальные данные основаны на принципе целостности и структурности иммунологического статуса, который позволил исследовать механизм иммунитета и его регуляцию на различных уровнях живого организма, применяя системно-структурный анализ. Этот принцип

исключил одностороннюю оценку роли отдельных уровней и позволил представить систему иммуногенеза во взаимосвязи с другими системами целостного организма, вскрыть диалектику внутреннего и внешнего в иммунитете.

5. ВЫВОДЫ

1. Теоретической основой оценки и прогнозирования жизнеспособности новорожденных животных явилась установленная нами зависимость между состоянием иммунологической реактивности материнского организма и признаками жизнеспособности потомства.
2. При оценке иммунологической реактивности свиноматок (после родов) выявлены случаи циркулирующих антител и сенсibilизированных клеток по отношению к антигенным субстанциям своего потомства, что является следствием изоиммунизации организма матери в процессе беременности.
3. Специфика иммунологических взаимоотношений, которые формируются в процессе развития функциональной системы «мать-плацента-потомство», связана с основными формами иммунного реагирования и может проявляться возникновением гиперчувствительности материнского организма на белки сыворотки крови своего потомства.
4. Состояние изоиммунизации свиноматок сопровождается повышенной альтерацией лимфоцитов, эритроцитов в присутствии белков сыворотки крови потомства и может диагностироваться с помощью показателей лимфоцитолита более 10% и эритрогемолиза более 20%.
5. Показатели естественной резистентности у поросят с признаками изоиммунизации достоверно были ниже сверстников из контрольной группы, а именно фагоцитарная активность нейтрофилов (ФАН) на 35,7%, фагоцитарное число (ФЧ) на 22,6%, фагоцитарный индекс (ФИ) на 27,5%, фагоцитарная емкость крови (ФЕК) на 36,3%, бактерицидная активность сыворотки крови на 39,5%, лизоцимная активность сыворотки крови на 41,4% за 9 месячный период исследования соответственно.
6. По показателям роста и развития в постнатальном периоде онтогенеза поросята, полученные от изоиммунизированных матерей, значительно уступали своим сверстникам. Установлена достоверное снижение

- величины стандартного отклонения их живой массы на 38,0 %.
- Выявлена степень влияния изоиммунизации на дисперсионное распределение среднесуточных приростов у опытных групп поросят.
7. Для выявления новорожденных животных с признаками пониженной жизнеспособности можно использовать показатели чувствительности материнского организма по отношению к белкам сыворотки крови своего потомства путем постановки реакции лейкоцитолита (более 10%) и эритрогемолиза (более 20%). С помощью реакции альтерации лимфоцитов и эритроцитов у 36,19 % новорожденных поросят в преколостральных сыворотках крови обнаруживались изоантитела.
 8. Потомство изоиммунизированных свиноматок уступало в абсолютном и относительном содержании по количеству эритроцитов, гемоглобина, иммуноглобулинов; по показателям фагоцитарной активности нейтрофилов, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, заболеваемость среди опытного потомства была выше в 1,7-2,45 раза, а смертность – в 2,2-3,8 раза.
 9. Установлено, что у 18% особей встречалась дихориальная диамниотическая плацентация. При данных плацентарных условиях у 38,46% беременных животных была выявлена изоиммунизация фетальными антигенами.
 10. Под влиянием «Пирогенала» развивается сложная реакция активации целого комплекса защитно-приспособительных реакций. Детальное исследование этих механизмов позволяет более целенаправленно применять подобные соединения с учетом особенностей многокомпонентной реакции, вызываемой ими в организме животного.
 11. Установлена тесная корреляционная связь между индексом иммунологической реактивности и эффектом изоиммунизации ($r=0.78$). При оценке иммунологического статуса новорожденных поросят, подвергнутых изоиммунизационному эффекту в фетальный период развития установлены высокие пределы колебаний их иммунного

состояния в отношении интактных животных. У опытных животных иммунобиологические показатели находились ниже средних значений, характерных для контрольной группы особей. Различия между группами статистически были достоверны с высокой вероятностью суждения ($P < 0,05$).

12. Морфофункциональные изменения в плаценте свиней при беременности, осложненной изоиммунизацией заключались в уменьшении клеточных элементов с разрыхлением стромальной основы и очаговой атрофии, поствоспалительных лимфоидно-лимфоцитарных инфильтратах плаценты; наличии инволюционного или поствоспалительного процесса плацент свиноматок опытных групп; отложении фибриноида (фибриноидных масс) в подэпителиальной основе плаценты свиноматок опытных групп.
13. При изоиммунизации у потомства проявляются отчетливо выраженные иммуноморфологические изменения в селезенке, мезентериальных лимфатических узлах, легких, печени, почках. Эти изменения характеризуются лимфоцитарными, макрофагальными, плазмоклеточными реакциями, которые приводят к значительному повреждению структуры внутренних органов как по степени, так и по времени.
14. Гипериммунизация свиноматок во вторую половину беременности обуславливает наиболее выраженную толерантность у потомства с высокими титрами изоантител. Различие в изменении титров изоантител между животными контрольных и опытных групп составило $2 \log_2$. У поросят опытных групп отмечалась выраженная изоиммунная реакция в титрах $1,63-2,51 \log_2$. Наличие специфических изоантител в преколостральных сыворотках с высоким титром позволяют проводить диагностику изоиммунизации потомства свиней.

6. РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. При проведении профилактических и противоэпизоотических мероприятий для оценки иммунобиологических взаимоотношений в функциональной системе «мать-плацента-потомство» своевременно проводить иммунологический мониторинг, используя для этих целей высокоэффективный – «Способ определения иммунологической реактивности организма животных» (патент на изобретение №2737336, от 20.05.2020 г.).

2. Для диагностики плацентарной недостаточности (латентных форм заболеваний) следует использовать данные по изучению становления параметров иммунологической толерантности в пренатальный и ранний постнатальный периоды развития животных – «Способ тестирования иммунологической толерантности животных» (патент на изобретение № 2743363, от 03.06.2020 г.).

3. Оценку адаптивного потенциала животных в условиях промышленного свиноводства следует проводить простыми и достаточно эффективными методами раннего определения степени жизнеспособности и потенциальных возможностей (функциональных резервов) в отношении их дальнейшего роста и развития – «Способ оценки функциональных резервов новорожденного организма» (патент на изобретение №2685273, от 17.04.2019 г.), «Способ определения жизнеспособности новорожденных животных» (Евразийский патент на изобретение № 025833 от 28.02.2017 г.).

4. Для снижения репродуктивных и ранних постнатальных потерь, а также нарушений развития молодняка сельскохозяйственных животных использовать полученные результаты исследования – «Способ повышения репродуктивной способности беременных свиноматок и жизнеспособности новорожденного потомства» (патент на изобретение №2654563, от 21.05.2018 г.), «Способ повышения иммунобиологического статуса новорожденных поросят» (патент на изобретение №2614733, от 28.04.2017 г.).

5. Применять разработанные программы мониторинга и прогнозирования жизнеспособности потомства сельскохозяйственных

животных (свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ №2018660665, от 28.08.2018 г.) и оценки внутриутробного инфицирования у продуктивных животных (свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ №2018665662, от 06.12.2018 г.) для снижения уровня пренатальных потерь у сельскохозяйственных животных на ранних этапах постнатального развития.

б. Определение признаков жизнеспособности новорожденных животных рекомендуется проводить как необходимое звено селекционно-племенной работы, а диагностику процессов изоиммунизации в функциональной системе «мать-плацента-потомство» – как неотъемлемый элемент промышленной технологии выращивания молодняка сельскохозяйственных животных.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Теоретическое и практическое значение проблемы изоиммунизации, разумеется, не исчерпывается приведенными выше фактами, результатами выполненных исследований и заключениями. Главное в перспективном плане для дальнейшей разработки проблемы состоит в том, что изучение данного явления должно стать неотъемлемой частью всех отраслей современной иммунологии – иммуноморфологии, иммунохимии, иммуногенетики, инфекционной иммунологии и иммунопатологии.

Новые перспективы открываются для установления принципов и механизмов, обеспечивающих, как правило бесконфликтное формирование плода в организме матери с объяснением принципов аллогенной стимуляции при беременности. Полученные результаты сформировали концепцию для дальнейшего изучения фундаментальных основ ауторегуляции иммунного ответа в функциональной системе «мать-плацента-потомство».

7. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

WBC – количество лейкоцитов

GRA – содержание гранулоцитов

LYM – содержание лимфоцитов

MON – количество моноцитов

RBC – количество эритроцитов

HEM – содержание гемоглобина

MCV – средний объём эритроцита

MCH – среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците

MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците

RDW – относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму, показатель гетерогенности тромбоцитов

RDW-SD – относительная ширина распределения эритроцитов по объёму, стандартное отклонение

PLT – количество тромбоцитов

MPV – средний объём тромбоцитов

HCT – гематокрит

ФАН – фагоцитарная активность нейтрофилов

ФИ – фагоцитарный индекс

ФЧ – фагоцитарное число

ФЕК – фагоцитарная емкость крови

БАСК – бактерицидная активность сыворотки крови

ЛАСК – лизоцимная активность сыворотки крови

ИЖ – индекс жизнеспособности

ПАА – показатель аллергической альтерации лейкоцитов

ПАЭ – показатель аллергической альтерации эритроцитов

К – критерий изоантигенной нагрузки

СОЭ₀₁ – скорость оседания эритроцитов материнской крови в присутствии сыворотки крови новорожденного

СОЭ₀₂ – скорость оседания эритроцитов крови новорожденного в присутствии сыворотки крови матери.

СОЭ_{к1} – скорость оседания эритроцитов материнской крови в присутствии изотонического раствора хлористого натрия

СОЭ_{к2} – скорость оседания эритроцитов крови новорожденного в присутствии изотонического раствора хлористого натрия

ПМТМ – показатель макрофагальной трансформации мононуклеаров

ЛКД – показатель иммуногенности вакцины (50%-ная летальная доза для кроликов)

ТЦД – титр инфекционности вакцины (определяют по методу Рида и Менча)

НСТ-тест – спонтанный тест с нитросиним тетразолием, используется для выявления так называемых активированных гранулоцитов и моноцитов

РСК – реакция связывания комплемента

РА – реакция агглютинации

CD4 – мономерный трансмембранный гликопротеин надсемейства Ig.

CD8 – трансмембранный гликопротеин, служащий корцептором Т-клеточных рецепторов (TCR)

CD16 – трансмембранный белок суперсемейства иммуноглобулинов (низкоаффинный рецептор)

CD19 – белок, ко-рецептор, расположенный на поверхности В-лимфоцитов

CD56 – прототипный маркер

NK – естественные клетки-киллеры

IgG – содержание иммуноглобулинов класса G

IgA – содержание иммуноглобулинов класса A

IgM – содержание иммуноглобулинов класса M

ЛДГ – показатель лактатдегидрогеназы

ГГТ – показатель гаммаглутамилтрансферазы

АсТ – показатель аспартатаминотрансферазы

АлТ – показатель аланинаминотрансферазы

ЩФ – показатель щелочной фосфатазы

8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агарков, А. В. Формирование иммунобиологического статуса новорожденных поросят : специальность 06.02.01 «Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных» : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Агарков Александр Викторович ; Ставропольский ГАУ. – Ставрополь, 2015. – 155 с
2. Агарков, А. В. Диагностика клеточных взаимодействий в реакциях специфического иммунитета у животных / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, Н. В. Агарков. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2020. – 17 с.
3. Агарков, А. В. Иммунологические основы интегральной системы оценки жизнеспособности животных и сельскохозяйственной птицы : монография / А. В. Агарков. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2020. – 120 с.
4. Агарков, А. В. Клинико-инструментальные исследования животных и птицы при незаразной патологии : учебное пособие / Б. М. Багамаев, А. В. Агарков, Э. В. Горчаков. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2020. – 88 с.
5. Агарков, А. В. Научно-обоснованные принципы оценки иммунологической реактивности животных / А. В. Агарков, А. Р. Онищенко // Инновационные технологии в сельском хозяйстве, ветеринарии и пищевой промышленности : сб. научных статей по материалам 85-й Междунар. науч.-практ. конф. «Аграрная наука-Северо-Кавказскому федеральному округу» (Ставрополь, 15 мая 2020 г.). – Ставрополь, 2020. – С. 268–272.
6. Айламазян, Э. К. Акушерство: национальное руководство / Э. К. Айламазян; под ред. В. И. Кулакова, В. Е. Радзинского, Г. М. Савельевой. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 1200 с.
7. Активность ферментов сыворотки крови свиней в период беременности / В. И. Трухачев, В. С. Скрипкин, А. Н. Квочко, А. В. Агарков // Вопросы

- нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 4. – С. 85–88.
8. Артымук, Н. В. Перинатальные исходы и отдаленные последствия при задержке роста плода / Н. В. Артымук, А. Г. Тришкин, Е. С. Бикметова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – № 6. – С. 68–75.
9. Аршавский, И. А. Физиологические механизмы и закономерности индивидуального развития / И. А. Аршавский. – Москва : Наука, 2002. – 258 с.
10. Багамаев, Б. М. Клиническая диагностика : краткий курс лекций для студентов специальности «Ветеринария» / Б. М. Багамаев, А. В. Агарков, Э. В. Горчаков. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2020. – 52 с.
11. Бакшеев, А. Ф. Становление, породные особенности и возможности коррекции иммунной системы у свиней : специальность 16.00.03 «Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология и иммунология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Бакшеев Анатолий Филиппович ; Новосибирский ГАУ. – Новосибирск, 1998. – 37 с.
12. Барина, И. В. Особенности морфологической и пространственной структуры плаценты при антенатальной гипоксии плода / И. В. Барина, С. В. Савельев, Ю. Б. Котов // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2015. – № 1. – С. 25–31.
13. Безмен, В. А. Продуктивность и естественная резистентность свиноматок / В. А. Безмен // Аграрная наука. – 2002. – № 7. – С. 17–18.
14. Белкина, Н. Н. Суточная динамика клеточных и гуморальных факторов естественной резистентности свиней / Н. Н. Белкина, А. А. Павлуненко, К. А. Кривенко // Сельскохозяйственная биология Серия «Биология животных». – 1992. – № 4. – С. 148–151.

15. Березовский, Ю. С. Иммунокомпетентные клетки в децидуальной ткани при нормальной беременности и раннем невынашивании / Ю. С. Березовский // Архив патологии. – 2001. – № 4. – С. 44–48.
16. Биологические основы ветеринарной неонатологии : монография / Х. Б. Баймишев, Б. В. Криштофорова, В. В. Лемещенко, И. В. Хрусталева, Ж. Г. Стегней. – Самара : РИЦ СГСХА, 2013. – 452 с.
17. Блощинская, И. А. Вазорегулирующая функция сосудистого эндотелия при физиологической беременности и гестозе / И. А. Блощинская, Т. А. Петричко, И. М. Давидович // Журнал акушерства и женских болезней. 2003. – Т. LII, № 1. – С. 26–32.
18. Болезни свиней / В. А. Сидоркин, В. Г. Гавриш, А. В. Егунова, С. П. Убираев. – Москва : Аквариум, 2007. – 333 с.
19. Борисенко, Е. А. Оценка иммуностимулирующего действия пробиотического препарата при отъёмном стрессе у поросят / Е. А. Борисенко, К. В. Жучаев // Адаптация, здоровье и продуктивность животных: сб. науч. тр. – Новосибирск, 2008. – С. 61–63.
20. Брюс, П. Практическая статистика для специалистов Data Science / П. Брюс, Э. Брюс ; пер. с англ. – Санкт-Петербург : БХВ-Петербург, 2018. – 314 с.
21. Бузлама, В. С. Влияние синтетических олигопептидов на процессы анаболизма, кроветворение и иммунитет у животных / В. С. Бузлама, И. В. Трутаев, С. В. Шабунин // Ветеринария. – 2007. – № 1. – С. 46–49.
22. Васильев, Ю. Г. Цитология с основами патологии клетки / Ю. Г. Васильев. – Москва : Зоомедлит, 2007. – 231 с.
23. Взаимосвязь конституциональных типов свиней с мясной продуктивностью / Е. И. Растоваров, В. С. Скрипкин, А. Н. Квочко, А. В. Агарков, В. Ф. Филенко // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2019. – № 2 (76). – С. 239–242.
24. Влияние комбинированного пренатального стресса на физическую выносливость, болевую чувствительность и поведение крыс / Л. Е.

- Беляева, А. Н. Федченко, И. В. Лигецкая [и др.] // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2015. – Вып. 1, Т. 14. – С. 26–33.
25. Внутренние болезни животных. Профилактика и терапия / Г. Г. Щербаков, А. В. Коробов, Б. М. Анохин, И. М. Карпуть, И. П. Кондрахин, В. В. Костиков, С. Н. Копылов, Л. Н. Соколова, С. В. Старченков, Б. В. Уша, В. И. Федюк, А. В. Яшин ; под ред. Г. Г. Щербакова, А. В. Коробова. – 5-е изд., испр. и доп. – Санкт-Петербург : Изд-во «Лань», 2009. – 736 с.
26. Внутриутробная задержка развития эмбриона и плода у коров / А. Г. Нежданов, В. И. Михалёв, Н. Т. Климов, Е. В. Смирнова // Ветеринария. – 2014. – № 3. – С. 36–39.
27. Володин, Н. Н. Иммунология перинатального периода: проблемы и перспективы / Н. Н. Володин, М. В. Дегтярева // Педиатрия. – 2001. – № 4. – С. 4–8.
28. Галактионов, В. Г. Иммунология / В. Г. Галактионов. – Москва : Нива России, 2000. – 488 с.
29. Гистологическая техника / В. В. Семченко, С. А. Барашкова, В. И. Ноздрин, В. Н. Артемьев. – Омск : Омская областная типография, 2006. – 290 с.
30. Глуховец, Б. И. Патогенетические основы внутриутробных инфекций / Б. И. Глуховец, Н. Г. Глуховец // Архив патологии. – 2007. – № 5. – С. 74–77.
31. Глуховец, Б. И. Патология последа / Б. И. Глуховец, Н. Г. Глуховец – Санкт-Петербург : ГРААЛЬ, 2002. – 448 с.
32. Говалло, В. И. Иммунология репродукции / В. И. Говалло. – Москва : Медицина, 1987. – С. 149–286.
33. Гороховский, Н. Л. Структура плаценты / Н. Л. Гороховский // Ветеринария. – 1984. – № 10. – С. 46–48.

34. Григорьев, В. В. Морфофизиологические и продуктивные особенности свиноматок разных генотипов и их потомства : специальность 03.00.13 «Физиология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Григорьев Владимир Васильевич ; Самарская ГСА. – Чебоксары, 2004. – 19с.
35. Гужвина, Е. Н. / Плацентарная недостаточность с позиции концепции о типах адаптации матери и плода к родовому стрессу / Е. Н. Гужвина, О. Б. Мамиев // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2012. – С. 81–85.
36. Действие цито- и синцитиотрофобласта плаценты на Т-лимфоциты в условиях культуры клеток / В. Ю. Талаев, И. Е. Заиченко, О. Н. Бабайкина, М. А. Ломунова, Е. Б. Талаева // Russian Journal of Immunology. – 2005. – Vol. 9, S. 2. – P. 108–114.
37. Декомпенсированная плацентарная недостаточность и критическое состояние плода / И. В. Игнатко, М. А. Карданова, Ю. И. Толкач, И. А. Федюнина // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2015. – № 5. – С. 36–46.
38. Денисова, Т. Г. Медикаментозная профилактика синдрома задержки роста плода / Т. Г. Денисова, Э. Н. Васильева, Е. В. Портнова // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 1. – С. 54.
39. Джобава, Э. М. Дисфункция эндотелия и система гемостаза в группах риска по развитию акушерской патологии. Системный подход к диагностике и терапии / Э. М. Джобава, К. Р. Некрасова, Д. П. Артизанова // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2013. – № 1. – С. 45–53.
40. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиальных клеток в крови / Н. Н. Петрищев, О. А. Беркович, Т. Д. Власов [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – № 1. – С. 50–52.

41. Диагностические маркеры степени тяжести поздних гестозов беременных / Е. И. Кравцова, Е. И. Кравцова, Н. В. Колесникова, Б. Г. Ермошенко, Г. А. Чудилова // Terra Medica Nova. – 2004. – Том. 3, № 1. – С. 4–10.
42. Дмитриев, А. Ф. Диагностика жизнеспособности потомства у продуктивных животных в неонатальный период / А. Ф. Дмитриев, А. В. Агарков // Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве – основа модернизации агропромышленного комплекса России : сб. научных статей по материалам Междунар. науч.-практ. конф. научных сотрудников и преподавателей. – Ставрополь, 2019. – С. 311–315.
43. Дмитриев, А. Ф. Разработка способа коррекции иммунобиологического статуса новорожденных животных / А. Ф. Дмитриев, А. В. Агарков // Ветеринария кубани. – 2017. – № 6. – С. 15–17.
44. Дмитриев, А. Ф. Сущность процессов в инфекционной паразитарной системе хронических инфекций у продуктивных животных / А. Ф. Дмитриев, А. В. Агарков, О. Ю. Черных ; Ставропольский ГАУ, Кропоткинская ветеринарная лаборатория // Сборник научных трудов. – Краснодар, 2018. – С. 258–263.
45. Дмитриев, А. Ф. Эффективность ветеринарно-санитарных, противоэпизоотических мероприятий и пути ее повышения на сельскохозяйственном предприятии / А. Ф. Дмитриев, А. В. Агарков // Инновационные технологии в сельском хозяйстве, ветеринарии и пищевой промышленности. – Ставрополь, 2017. – С. 251–254.
46. Долгих, В. Т. Основы иммунологии / В. Т. Долгих. – Москва : Медицинская книга ; Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2000. – 204 с.
47. Донозологическая диагностика иммунологической недостаточности, её значение в ветеринарной медицине / П. Н. Смирнов, Н. В. Ефанова, Л. М. Осина, А. В. Ухлова, Е. А. Борисенко // Физиологические механизмы

- адаптации животных в меняющихся условиях существования : сб. докл. Межрегион. науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2010. – С. 59–60.
- 48.Дорош, М. В. Болезни свиней / М. В. Дорош. – Москва : Вече, 2002. – С. 83–84.
- 49.Дроздова, Л. И. Гистогематические барьеры и их роль в патологии / Л. И. Дроздова // Омский научный вестник. – 2004. – № 26. – С. 179–180.
- 50.Дроздова, Л. И. Морфология гисто-гематических барьеров при хламидиозе свиней / Л. И. Дроздова, Н. А. Татарникова. – Пермь, 2003. – 137 с.
- 51.Дроздова, Л. И. Патоморфология плацентарного барьера животных / Л. И. Дроздова. – Екатеринбург : УрГСХА, 2010. – С. 246.
- 52.Дуброва, Т. А. Статистические методы прогнозирования / Т. А. Дуброва. – Москва : Юнити-Дана, 2003. – 206 с.
- 53.Дубровин, М. М. Развитие иммунной системы плода / М. М. Дубровин, Е. С. Дубровина, А. Г. Румянцев // Педиатрия. – 2001. – № 4. – С. 67–72.
- 54.Ефанова, Л. И. Защитные механизмы организма. Иммунодиагностика и иммунопрофилактика инфекционных болезней животных / Л. И. Ефанова, Е. Т. Сайдуллин ; под ред. Шахова А. Г. – Воронеж : ВГАУ, 2004. – 391 с.
- 55.Ефанова, Н. В. Влияние контакта стрессированных свиней на иммунную систему интактных животных / Н. В. Ефанова, П. Н. Смирнов // Достижение науки и техники АПК. – 2012. – № 2. – С. 79–80.
- 56.Жаров, А. В. Патологическая физиология и патологическая анатомия животных / А. В. Жаров. – Москва : КолосС, 2007. – С. 194–195.
- 57.Жучаев, К. В. Иммунодефицит поросят в молочный период и возможности их коррекции / К. В. Жучаев, Е. А. Борисенко // Инновационные технологии в свиноводстве: материалы междунар. науч.-практ. конф. – Краснодар : КубГАУ, 2008. – С. 193–195.
- 58.Жучаев, К. В. Формирование адаптивных качеств и продуктивности свиней в процессе микроэволюции : специальность 06.02.01

- «Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Жучаев Константин Васильевич ; МГАВМиБ. – Москва, 2005. – 41 с.
59. Закурина, А. Н. Плацентарная недостаточность – морфо-функциональные параллели / А. Н. Закурина, Д. Э. Коржевский, Р. Г. Павлова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – № 5. – С. 51–55.
60. Зудова, Т. А. Влияние беременности на показатели естественной резистентности у свиней / Т. А. Зудова, А. А. Зудов, М. М. Серых // Сборник научных трудов Самарской ГСХА. – Самара, 1999. – С. 30–31.
61. Иванова, Л. А. Роль цитокинов в патогенезе гестоза / Л. А. Иванова, Е. В. Мозговая // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 3–4. – С. 335.
62. Йегер, Л. Клиническая иммунология и аллергология / Л. Йегер. – Москва : Медицина, 1990. – 528 с.
63. Изменение содержания различных естественных аутоантител при гестационных осложнениях / Р. С. Замалева, Н. А. Черепанова, А. В. Фризина, С. В. Букатина, Д. В. Фризин // Казанский медицинский журнал. – 2017. – № 4. – С. 591–596.
64. Изменения в эндотелиальной системе сосудов беременных при гестозе / В. В. Авруцкая, В. И Орлов, А. Ю. Пономарева, И. И. Крукиер, А. В. Вишина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2007. – Т. 1. – С. 1–7.
65. Илизарова, Н. А. Привычное невынашивание беременности: Патоморфологический анализ эндометрия, клинические особенности и обоснование стратегии терапии: специальность 14.00.15 «Патологическая анатомия», 14.00.01 «Акушерство и гинекология» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Илизарова Наталья Александровна : ГУ "Научно-исследовательский

- институт региональной патологии и патологической морфологии Сибирского отделения РАМН". – Новосибирск, 2009. – 253 с.
66. Иммунобиологические механизмы стимуляции естественной резистентности организма в условиях измененной реактивности / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, А. Н. Квочко, В. С. Скрипкин, Н. В. Агарков // Вопросы нормативно–правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 1. – С. 292–294.
67. Иммунологические аспекты материнско-плодовых взаимоотношений / М. А. Пальцев, И. Н. Волощук, Е. М. Демидова, А. В. Мещерякова, В. Б. Носов // Медицинская иммунология. – 2009. – № 5. – С. 32–36.
68. Иммунологические маркеры угрозы прерывания беременности раннего срока / М. А. Левкович, В. И. Орлов, Е. А. Ефанова, О. О. Стояненко // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 3–4. – С. 338–339.
69. Иммунологические принципы оценки и прогнозирования жизнеспособности новорожденных поросят / А. В. Агарков, А. Ф., Дмитриев, В. С. Скрипкин, В.И. Дорожкин и др. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2021. – 37 с.
70. Иммунология свиньи / А. Ф. Бакшеев, Н. В. Ефанова, П. Н. Смирнов, К. А. Дементьева. – Новосибирск, 2003. – 143 с.
71. Иммуномодуляция и иммунорегуляция на системном и локальном уровне при беременности / Н. Ю. Сотникова, Ю. С. Анциферова, Н. В. Крошкина, А. В. Кудряшова // Медицинская иммунология. – 2001. – Т. 3, № 2. – С. 259.
72. Исаева, А. Г. Иммунологическая характеристика популяции свиней в зоне Среднего Урала / А. Г. Исаева, И. М. Донник // Аграрная Россия. – 2004. – № 5. – С. 43–44.
73. Исмагилова, А. Ф. Иммунный статус животных. Возможности коррекции иммунодефицитных состояний новыми производными глицирризиновой кислоты / А. Ф. Исмагилова, Г. В. Базекин. – Уфа : БГАУ, 2001. – 157 с.

- 74.Каиров, Г. Т. Механизмы формирования нарушений компенсаторно–приспособительных реакций при осложненном течении беременности: специальность 14.00.16 «Патологическая физиология», 14.00.01 «Акушерство и гинекология»: Автореф. диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Каиров Гайса Тлепович. – Томск, 1999. – 44 с.
- 75.Калаева, Е. А. Теоретические основы и практическое применение математической статистики в биологических исследованиях и образовании: учебник / Е. А. Калаева, В. Г. Артюхов, В. Н. Калаев. – Воронеж : ВГУ, 2016. – 284 с.
- 76.Кириллов, Н. К. Повышение естественной резистентности организма поросят-сосунов с помощью искусственной аэроионизации / Н. К. Кириллов, И. А. Алексеев, А. Н. Анин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – Казань, 2005. – Т. 181. – С. 116–117.
- 77.Клинико-гематологический и биохимический статус коров при гестозе / А. Г. Нежданов, М. И. Рецкий, Ю. Н. Алехин, В. А. Сафонов, В. И. Шушлебин, Н. Е. Папин, Т. П. Брехов, Е. В. Шишкина // Сельскохозяйственная биология. – 2010. – № 4. – С. 118–123.
- 78.Клиническая биохимия животных : учебное пособие для студентов вузов по специальности 36.05.01 «Ветеринария» / Э. В. Горчаков, Б. М. Багамаев, Н. В. Федота, А. В. Агарков, В. А. Орбец. – Ставрополь : Цех оперативной полиграфии ВНИИОК, 2019. – 183 с.
- 79.Клопов, М. И. Нейрогуморальная регуляция физиологических систем и обмена органических веществ у животных : учеб. пособие / М. И. Клопов, В. В. Арепьев, О. В. Першина. – Москва : Изд-во «ФГБОУ ВПО РГАЗУ», 2012. – 162 с.
- 80.Козлов, Н. А. Частная гистология домашних животных / Н. А. Козлов // Москва : Зоомедлит, 2007. – 279 с.

81. Колгушкина, Т. Н. Основы перинатологии / Т. Н. Колгушкина. – Москва : Медицинское информационное агентство, 2006. – 320 с.
82. Крапивина, Е. В. О влиянии иммунного статуса свиноматок на выживаемость потомства / Е. В. Крапивина, Ю. Н. Фёдоров, В. П. Иванов // Сельскохозяйственная биология. – 2001. – № 6. – С. 80–84.
83. Крапивина, Е. В. О влиянии иммунного статуса свиноматок на иммунограмму их потомства / Е. В. Крапивина, В. П. Иванов // Сельскохозяйственная биология. – 2001. – № 2. – С. 84–88.
84. Криштофорова, Б. В. Морфологические критерии жизнеспособности организма неонатальных телят / Б. В. Криштофорова // Ученые записки УО ВГАВМ. – 2011. – № 47. – С. 259–262.
85. Криштофорова, Б. В. Провизорные органы и жизнеспособность новорожденных животных: монография / Б. В. Криштофорова, Н. В. Саенко. – Санкт-Петербург : Изд-во «Лань», 2018. – 404 с.
86. Криштофорова, Б. В. Структурно-функциональные особенности сосудов фетальной части плаценты коров при различном статусе организма новорожденных телят / Б. В. Криштофорова, Н. В. Саенко // Актуальш проблеми ветеринарної медицини в умовах сучасного ведення тваринництва: наук. практ. конф. (26 травня – 2 червня 2003 р). – А. Р. Крим, 2003. – С. 330–332.
87. Крукиер, И. И. Процессы радикалообразования в плаценте при плацентарной недостаточности / И. И. Крукиер // Российский Вестник акушеров-гинекологов. – 2004. – № 4. – С. 6–8.
88. Кудрявцев, А. А. Клиническая гематология животных / А. А. Кудрявцев, Л. А. Кудрявцева. – Москва, 1974. – 399 с.
89. Кузнецов, Н. И. Оценка физиологического состояния свиноматок методом распознавание образов показателей белкового обмена / Н. И. Кузнецов, Л. А. Есаулова // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 4. – С. 50–52.

90. Кузнецова, А. В. Клинико-морфологическая характеристика плацентарной недостаточности / А. В. Кузнецова, О. Н. Аржанова // Критические состояния в акушерстве и неонатологии. – 2005. – С. 118–119.
91. Кулаков, В. И. Плацентарная недостаточность и инфекция / В. И. Кулаков, Н. В. Орджоникидзе. – Москва : МИА, 2004. – 494 с.
92. Кульберг, А. Я. Молекулярная иммунология / А. Я. Кульберг. – Москва : Высшая школа, 1985. – С. 7–226.
93. Липатова, О. А. Эффективность Т-активина для повышения естественной резистентности у новорожденных поросят при гипотрофии / О. А. Липатова // Современные проблемы интенсификации и производства свинины : сб. научных трудов XIV Междунар. науч.-практ. конф. по свиноводству. – Ульяновск, 2007. – С. 312–316.
94. Литвицкий, П. Ф. Врожденный иммунитет: механизмы реализации и патологические синдромы / П. Ф. Литвицкий, Т. Г. Синельникова // Вопросы современной педиатрии. – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 52–59.
95. Медвинский, И. Д. Роль синдрома системной воспалительной реакции в патогенезе гестоза (прогноз развития, диагностика, выбор метода анестезиологической защиты) : специальность 14.00.16 «Патофизиология», 14.00.37 «Анестезиология и реаниматология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Медвинский Игорь Давыдович ; Институт иммунологии и физиологии УрО РАН. – Челябинск, 2004. – 50 с.
96. Метод оценки и прогнозирования функциональных резервов новорожденных сельскохозяйственных животных / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, В. С. Скрипкин, Е. И. Растоваров, Н. В. Агарков // Ветеринарная патология. – 2019. – № 1(67). – С. 29–34.
97. Методическое пособие по диагностике и профилактике нарушений антенатального и интранатального происхождения у телят / А. Г. Шахов,

- Ю. Н. Алёхин, С. В. Шабунин [и др.]. – Воронеж : Изд-во «Истоки», 2013. – 92 с.
98. Механизм иммунобиологической толерантности во время беременности в функциональной системе «мать–плод–новорожденный» / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, А. Н. Квочко, Н. В. Агарков // Вестник КрасГАУ. – 2020. – № 5(158). – С. 119–124.
99. Милованов, А. П. Патология системы мать–плацента–плод : руководство для врачей / А. П. Милованов. – Москва : Медицина, 1999. – 448 с.
100. Михайленко, А. А. Роль корреляционных взаимосвязей в оценке функциональных возможностей иммунной системы / А. А. Михайленко, Т. А. Федотова // Иммунология. – 2000. – № 6. – С. 59–61.
101. Михин, Г. Г. Определение жизнеспособности новорождённых телят / Г. Г. Михин // Известия ОГАУ. – 2010. – № 1. – С. 66–68.
102. Момот, А. П. Допустимые значения различных показателей системы гемостаза при физиологически протекающей беременности / А. П. Момот, И. В. Молчанова, Д. Е. Белозеров // Лабораторная медицина (Казахстан). – 2014. – № 4. – С. 51–59.
103. Новиков, Б. В. Основные параметры иммунного статуса клинически здоровых свиней / Б. В. Новиков, В. В. Дмитриенко // Ветеринария. – 1993. – № 2. – С. 22–25.
104. Определение иммунологической реактивности свиноматок в зависимости от степени иммунного ответа на фетальные антигены / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, А. Н. Квочко, Н. В. Агарков // Иммунология и ветеринария. – 2021. – № 1(39). – С. 49–55.
105. Осина, Л. М. Применение биологически активных добавок в качестве адаптогенных средств / Л. М. Осина, О. И. Петров // Адаптация, здоровье и продуктивность животных : сб. докл. Сибирской Межрегион. науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2008. – С. 169–172.

106. Особенности гормональной адаптации плода у беременных с гипотиреозом и гипертиреозом / Л. И. Титченко, О. А. Ефимушкина, С. А. Витушко, В. А. Петрухин, Ф. Ф. Бурумкулова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2005. – № 1. – С. 9–12.
107. Особенности перинатального периода при нарушениях иммунных реакций / Б. В. Цхай, Е. И. Прахин, А. В. Даценко, И.О. Ульянова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2002. – № 6. – С. 14–17.
108. Оценка антигенной нагрузки свиноматок во время беременности и выявления признаков изоиммунизации у полученного потомства / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, А. Н. Квочко, Н. В. Агарков, А. Р. Онищенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 3. – С. 95–99.
109. Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных : методические рекомендации / П. Н. Смирнов, М. И. Гуликин, Ю. Н. Федоров, В. В. Храмцов, В. В. Макаров, А. Ф. Бакшеев [и др.]. – Новосибирск : НГАУ, 2003. – С. 9–15.
110. Оценка иммунобиологического статуса новорожденных поросят в раннем постнатальном онтогенезе, осложненном признаками изоиммунизации / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, А. Н. Квочко, Н. В. Агарков // Иппология и ветеринария. – 2021. – № 1(39). – С. 44–48.
111. Оценка иммунологических критериев ранней адаптации у новорожденного потомства животных и сельскохозяйственной птицы: методические рекомендации / А. В. Агарков, А. Ф., Дмитриев, В. С. Скрипкин, В. А. Орбец, А. Р. Онищенко – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2021. – 115 с.
112. Оценка морфофункциональных изменений в плаценте свиней при беременности осложненной изоиммунизацией / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, А. Н. Квочко, В. В. Михайленко. Н. В. Агарков, А. Р. Онищенко // Вестник КрасГАУ. – 2020. – № 12. – С. 110–116.

113. Оценка морфофункциональных изменений новорожденных поросят в раннем постнатальном онтогенезе, осложненном признаками изоиммунизации / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, А. Н. Квочко, В. В. Михайленко. Н. В. Агарков, А. Р. Онищенко // Ветеринарная патология. – 2020. – № 4(74). – С. 30–37.
114. Павлов, О. В. Иммунология репродукции: старые догмы и новые представления / О. В. Павлов, С. А. Сельков // Журнал акушерства и женских болезней. – 2004. – Т. III, № 1. – С. 89–97.
115. Палиева, Н. В. Влияние морфо-функциональных асимметрий системы «мать – плацента – плод» на гемодинамические процессы в маточноплацентарном комплексе в зависимости от характера метаболизма в женском организме / Н. В. Палиева, Т. Л. Боташева, В. А. Линде // Вестник Адыгейского государственного университета. – 2016. – № 2. – С. 108–114.
116. Пасман, Н. М. Значение адаптационных реакций в фетоплацентарном комплексе при гестозе / Н. М. Пасман, Т. В. Бачурина, С. М. Кустов // Актуальные вопросы акушерства и гинекологии. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 66–67.
117. Патент № 025833 Евразийский патент. Способ определения жизнеспособности новорожденных животных : заявл. 16.07.2014 ; опубл. 25.11.2017 / Дмитриев А. Ф., Агарков А. В. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».
118. Патент № 2555550 Российская Федерация, МПК А 01К 67/02. Способ определения жизнеспособности новорожденных поросят : № 2014129349/10 : заявл. 16/07/2014 : опубл. 10/07/2015 / Дмитриев А. Ф., Агарков А. В. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 19. – 15 с.

119. Патент № 2581663 Российская Федерация, МПК А 23К 50/30, А23К. Способ приготовления кормовой смеси для профилактики гипотрофии поросят в плодный период : № 2014149814/13 заявл. 09/12/2014; опубл. 20/04/2016, / Дмитриев А. Ф., Агарков А. В. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 11. – 16 с.
120. Патент № 2050130 Российская Федерация, МПК А01К 67/02,(1995.01) G01N 33/53 (1995.01). Способ определения жизнеспособности животных: № 5043633/15; заявл. 31.03.1992; опубл. 20.12.1995 / А. Ф. Дмитриев, А. К. Булашаев, К. Т. Шенжанов ; заявители и патентообладатели Ставропольский сельскохозяйственный институт (RU) и Целиноградский сельскохозяйственный институт (KZ). – Бюл. № 35. – 3 с.
121. Патент № 2614733 Российская Федерация, МПК А 61К 31/739, А61К 35/74, А61Р 37/00. Способ повышения иммунобиологического статуса новорожденных поросят : № 2016109530 : заявл. 16.03.2016 : опубл. 28.03.2017 / Трухачев В. И., Скрипкин В. С., Дмитриев А. Ф., Агарков А. В., Агарков Н. В. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 10. – 14 с.
122. Патент № 2654563 Российская Федерация, МПК А01К 67/02 (2006.01), А01К 67/02 (2006.01). Способ повышения репродуктивной способности беременных свиноматок крупной белой породы и жизнеспособности новорожденного потомства: № 2017119099/10 заявл. 31/05/2017; опубл. 21/05/2018 / Дмитриев А. Ф., Агарков А. В., Агарков Н. В.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 15. – 12 с.
123. Патент № 2685273 Российская Федерация, МПК G 01N 33/48 (2006.01), G01N 33/48 (2019.02). Способ оценки функциональных

- резервов новорожденного организма : № 2017137185 заявл. 23/10/2017; опубл. 17/04/2019 / Дмитриев А. Ф., Агарков А. В. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 11. – 13 с.
124. Патент № 2737336 Российская Федерация, МПК G 01N 33/50(2006.01), G01N 33/50 (2020.08). Способ определения иммунологической реактивности организма животных: № 2020117936 заявл. 20/05/2020; опубл. 27/11/2020 / Дмитриев А. Ф., Агарков А. В., Агарков Н. В. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 33. – 14 с.
125. Патент № 2743363 Российская Федерация, МПК А 61В 5/00(2006.01), G 01N 33/53(2006.01), Способ тестирования иммунологической толерантности у животных: № 2020119229 заявл. 03/06/2020 ; опубл. 17/02/2021/ Дмитриев А. Ф., Агарков А. В., Агарков Н. В.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 5. – 12 с.
126. Патент № 2749026 Российская Федерация, МПК G01N 33/53. Способ диагностики изоиммунизации животных : № 2020119204 заявл. 03/06/2020; опубл. 03/06/2021 / Дмитриев А. Ф., Агарков А. В., Агарков Н. В., Онищенко А. Р.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 16. – 17 с.
127. Патент № 2750787 Российская Федерация, МПК G 01N 33/53, А 01К 67/02 5/00. Способ определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный : № 2020128866 заявл. 31/08/2021; опубл. 02/07/2021 / Дмитриев А. Ф., Агарков А. В., Агарков Н.В.; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 19. – 14 с.

128. Патофизиология плода и плаценты / А. Н. Стрижаков, Е. В. Тимохина, И. В. Игнатко, Л. Д. Белоцерковцева. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 176 с.
129. Пестряева, Л. А. Разработка информативных лабораторных критериев в оценке степени тяжести эндогенной интоксикации при патологически протекающей беременности : специальность 03.00.04 «Биохимия», 14.00.46 «Клиническая лабораторная диагностика» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Пестряева Людмила Анатольевна ; Науч.-исслед. ин-т физико-хим. медицины МЗ РФ. – Москва, 2002. – 29 с.
130. Петрищев, Н. Н. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / Н. Н. Петрищев. – Санкт-Петербург : Изд-во СПбГМУ, 2003. – 184 с.
131. Петров, О. И. Сравнительная динамика показателей иммунной системы поросят, родившихся от свиноматок, получавших биологически активные добавки : специальность 03.00.13 «Физиология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Петров Олег Игоревич ; Новосиб. гос. аграр. ун-т. – Новосибирск, 2007. – 22 с.
132. Петров, Р. В. Иммунология / Р. В. Петров. – Москва, 1982. – 368 с.
133. Петров, Р. В. Искусственные антигены и вакцины / Р. В. Петров, Р. М. Хаитов. – Москва : Медицина, 1988. – С. 82–231.
134. Плацента – регулятор гомеостаза матери / А. П. Милованов, П. А. Кирющенко, Р. Г. Шмаков, А. А. Оразмурадов, М. Т. Хубецева // Акушерство и гинекология. – 2001. – № 3. – С. 3–6.
135. Показатели белкового и азотистого обмена свиней в течении беременности / В. С. Скрипкин, В. И. Трухачев, А. Н. Квочко, А. В. Агарков // Вестник КрасГАУ. – 2020. – № 12. – С. 152–155.
136. Показатели иммунитета беременного организма в раннем прогнозе развития фетоплацентарной недостаточности / А. А. Останин,

- С. М. Кустов, Т. В. Тыринова, М. А. Тихонова, Н. А. Хонина, Н. М. Пасман, Е. Р. Черных // *Акушерство и гинекология*. – 2010. – № 1. – С. 33–38.
137. Пол, У. Иммунология : в 3 т. / У. Пол. – Москва : Мир, 1987. – Т. 3. – С. 476.
138. Продукция цитокинов культурой ворсин хориона больных поздним гестозом в условиях гипоксии./ А. Ю. Криворучко, В. А. Аксененко А. Н. Квочко, Р. В. Павлов // *Журнал акушерства и женских болезней*. –2000. – № 4. – С. 82–85
139. Путилова, Н. В. Тромбофилии и беременность. Патологические основы перинатальных осложнений и оптимизация тактики ведения: монография / Н. В. Путилова, Н. В. Башмакова, Ю. С. Шуплецова. – Екатеринбург : НИИ ОММ, 2014. – 112 с.
140. Разработка способа оценки иммунологической реактивности организма животного / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, А. Н. Квочко, Н. В. Агарков // *Ветеринарная патология*. – 2021. – № 1 (75). – С. 43–47.
141. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – Москва : Медиа Сфера, 2003. – 312 с.
142. Резников, А. Г. Патогенетический базис профилактики синдрома пренатального стресса / А. Г. Резников // *Актуальные проблемы транспортной медицины*. – 2008. – №1 (11). – С. 16– 21.
143. Рецкий, М. И. Метаболические адаптации телят в ранний постнатальный период / М. И. Рецкий, Г. Н. Близнецова, С. В. Шабунин. – Воронеж : Изд-во ВГУ, 2010. – 228 с.
144. Родин, П. В. Гистологические изменения в плаценте крупного рогатого скота при гестозе / П. В. Родин, В. С. Авдеенко // *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. – 2015. – № 2. – С. 233–235.

145. Ройт, А. Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – Москва : Мир, 2000. – С. 4–230.
146. Ройт, А. Основы иммунологии / А. Ройт. – Москва : Мир, 1991. – 328 с.
147. Роль регуляторных Т-клеток в формировании иммунной толерантности при беременности / Е. О. Степанова, М. А. Николаева, А. А. Бабаян, В. Ю. Смольникова, Л. В. Ванько, Л. В. Кречетова // *Акушерство и гинекология*. – 2013. – № 2. – С. 24–28.
148. Савченков, Ю. И. Плодо-материнские отношения в норме и патологии / Ю. И. Савченков, С. Н. Шилов. – Красноярск : Универс, 2001. – 416 с.
149. Салов, И. А. Дисфункция эндотелия как один из патогенетических факторов расстройств микроциркуляции при гестозе / И. А. Салов, Т. Н. Глухова, Н. П. Чеснокова // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2006. – Т. 6, № 6. – С. 4–9.
150. Сапин, М. Р. Иммунная система, стресс и иммунодефицит / М. Р. Сапин, Д. Б. Никитюк. – Москва : АПП «Джангар», 2000. – 184 с.
151. Сароян, М. Ю. Сдвиги уровня пролактина в крови беременных крыс, подвергнутых хроническому стрессу, и у их потомства / М. Ю. Сароян, А. Д. Худавердян // *Медицинская наука Армении НАН РА*. – 2014. – Т. LIV, № 4 – С. 45–51.
152. Свидетельство 2018660665 Российская Федерация. Программа мониторинга и прогнозирования жизнеспособности сельскохозяйственных животных и птицы : программа для ЭВМ : № 2018617547 : заявл. 19.07.2018 : опубл. 28.08.2018 / Трухачев В. И., Скрипкин В. С., Дмитриев А. Ф., Агарков А. В., Александрова Т. С., Онищенко А. Р. ; правообладатель ФГБОУ ВО "Ставропольский государственный аграрный университет". – Бюл. № 9. – 11 Мб.
153. Свидетельство № 2018665662 Российская Федерация. Программа мониторинга и прогнозирования внутриутробного инфицирования

- предотвращением ранних репродуктивных потерь у продуктивных животных : программа для ЭВМ : № 2018662604 : заявл. 12.11.2018 : опубл. 06.12.2018 / Трухачев В. И., Скрипкин В. С., Дмитриев А. Ф., Агарков А. В., Агарков Н. В., Онищенко А. Р., Самойленко В. С.; заявитель и правообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 12. – 10 Мб.
154. Секретция цитокинов тканью ворсинчатого хориона при различных исходах беременности / О. В. Павлов, Д. В. Лалаян, И. Н. Ожиганова, С. А. Сельков // Медицинская иммунология. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 281–282.
155. Сельков, А. В. Цитокиновая сеть и макрофаги плаценты в регуляции родовой деятельности / С. А. Сельков, О. В. Павлов, А. В. Селютин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – Т. 129, № 6. – С. 606–610.
156. Сельков, С. А. Цитокиновая сеть плаценты. Возможная роль в инициации родовой деятельности / С. А. Сельков, О. В. Павлов, Д. В. Лалаян // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 3–4. – С. 341.
157. Сергиенко, В. И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева. – Москва : ГЭОТАР Медицина, 2001. – 256 с.
158. Сердюк, Г. Н. Иммунологические маркеры и их использование для повышения эффективности селекции свиней : специальность 03.00.15 «Генетика» : диссертация в форме научного доклада на соискание ученой степени доктора биологических наук / Сердюк Григорий Николаевич ; Всерос. науч.-исслед. ин-т генетики и разведения с.-х. животных. – Санкт-Петербург – Пушкин, 2000. – 58 с.
159. Серов, В. Н. Плацентарная недостаточность / В. Н. Серов // Трудный пациент. – 2005. – Т.3, № 2. – С. 17–20.

160. Серова, О. Ф. Новые аспекты генеза ранних репродуктивных потерь / О. Ф. Серова, Н. В. Зароченцева, С. Ю. Марченко // АГ-Инфо. – 2007. – Т. 1. – С. 12–14.
161. Сидорова, И. С. Фетоплацентарная недостаточность: клинико-диагностические аспекты / И. С. Сидорова, И. О. Макаров. – Москва : Медицина, 2010. – 127 с.
162. Синдром задержки роста плода. Патогенез. Диагностика. Лечение. Акушерская тактика / А. Н. Стрижаков, И. В. Игнатко, Е. В. Тимохина, Л. Д. Белоцерковцева. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 120 с.
163. Скрипкин, В. С. Интегральная система оценки и прогнозирования жизнеспособности молодняка крупного и мелкого рогатого скота и сельскохозяйственной птицы: методические рекомендации / В. С. Скрипкин, А. В. Агарков, Т. А. Лесняк – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2018. – 28 с.
164. Сорокина, С. Э. Внутриматочная гипоксия плода (монография) / С. Э. Сорокина. – Москва : Изд-во «Директ-Медиа», 2012. – 90 с.
165. Сотникова, Н. Ю. Возможности использования иммунологических параметров для раннего прогнозирования осложнений беременности / Н. Ю. Сотникова, М. И. Пелевина, А. В. Кудряшова // Медицинская иммунология. – 2005. – Т. 7, № 2–3. – С. 190–191.
166. Султанов, С. Н. Иммунологическая реактивность животных // Медицинская иммунология. – 2004. – Т. 6, № 3–5. – С. 386–387.
167. Сухих, Г. Т. Иммунные механизмы в физиологии и патологии беременности / Г. Т. Сухих, Л. В. Ванько // Russian Journal of Immunology. – 2005. – Vol. 9, S. 2. – P. 103–107.
168. Сухих, Г. Т. Иммунология беременности / Г. Т. Сухих, Л. В. Ванько. – Москва : Изд-во РАМН, 2003. – 400 с.
169. Сухих, Г. Т. Иммунология беременности / Г. Т. Сухих, Л. В. Ванько. – Москва : Изд-во РАМН, 2003. – 400 с.

170. Таранов, А. Г. Лабораторная диагностика в акушерстве и гинекологии : справочник / А. Г. Таранов. – Москва : ЭликсКом, 2004. – 80 с.
171. Терехов, В. И. Динамика изменения иммунобиологического статуса у поросят в период отъёма / В. И. Терехов, С. Н. Тельнов // Актуальные проблемы диагностики, профилактики и терапии болезней животных в современных экологических условиях : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Барнаул, 2001. – С. 64–65.
172. Тимохина, Е. В. Синдром задержки роста плода : патогенез, прогнозирование, акушерская тактика : специальность 14.01.01 «Акушерство и гинекология» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Тимохина Елена Владимировна ; Московская медицинская академия. – Москва, 2012. – 229 с.
173. Тихонов, В. Н. Молекулярно-генетические проблемы микроэволюции породных популяций свиней в связи с динамикой их гетерозиготности / В. Н. Тихонов // Сельскохозяйственная биология. – 2005. – № 4. – С. 13–28.
174. Тотолян, А. А. Клетки иммунной системы / А. А. Тотолян, И. С. Фрейдлин. – Санкт-Петербург : Наука, 2000. – Т. 1/2. – 231 с.
175. Трунова, Л. А. Реакции трансплантационного иммунитета при физиологически протекающей беременности / Л. А. Трунова // Акушерство и гинекология. – 1975. – № 1. – С. 1–7.
176. Трухачев, В. И. Гематологические показатели при выращивании поросят раннего отъёма / В. И. Трухачёв, О. А. Огнева // Вестник ветеринарии. – 2001. – № 2. – С. 52–56.
177. Тютюнник, В. Л. Морфофункциональное состояние системы «мать – плацента – плод» при плацентарной недостаточности и инфекции / В. Л. Тютюнник, В. А. Бурлев, З. С. Зайдиева // Акушерство и гинекология. – 2003. – № 6. – С. 11–16.

178. Уша, Б. В. Клиническое обследование животных / Б. В. Уша, С. В. Шабунин, С. Э. Жавнис. – Saarbrücken : LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, 2013. – 364 с.
179. Ушаков, И. Б. Адаптационный потенциал / И. Б. Ушаков, О. Г. Сорокин // Вестник РАМН. – 2004. – № 3. – С. 8–13.
180. Ушакова, Г. А. Регуляторные и адаптационные процессы в системе мать – плацента – плод при гестозе различной степени тяжести / Г. А. Ушакова, Ю. В. Рец // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 4. – С. 11–16.
181. Фёдоров, Ю. Н. Иммунокоррекция: применение и механизм действия иммуномодулирующих препаратов / Ю. Н. Фёдоров // Ветеринария. – 2005. – № 2. – С. 3–6.
182. Федюк, В. В. Иммунобиологический статус свиней универсальных и мясных генотипов / В. В. Федюк, И. М. Косухин // Современные проблемы устойчивости развития агропромышленного комплекса России : материалы Межрегион. дистанц. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых (пос. Персиановский, 2003). – Пос. Персиановский, 2003. – С. 109–110.
183. Филиппов, О. С. Плацентарная недостаточность / О. С. Филиппов. – Москва : МЕДпресс-информ, 2009. – 160 с.
184. Фонталин, Л. Н. Иммунологическая толерантность / Л. Н. Фонталин, Л. А. Певницкий. – Москва : Медицина, 1978. – 312 с.
185. Формирование специфической иммунологической ареактивности в период беременности у супоросных свиноматок / А. В. Агарков, А. Ф. Дмитриев, А. Н. Квочко, Н. В. Агарков // Международный вестник ветеринарии. – 2020. – № 1. – С. 110–115.
186. Фризе, К. Инфекционные заболевания беременных и новорожденных / К. Фризе, В. Кахель. – Москва : Медицина, 2003. – 423 с.

187. Хаитов, Р. М. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2003. – № 4. – С. 196–203.
188. Хонина, Н. А. Проявления и механизмы формирования иммуносупрессии на различных этапах репродуктивного процесса в норме и при патологии : специальность 14.00.36 «Аллергология и иммунология» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Хонина Наталья Алексеевна ; Науч.-исслед. ин-т клин. иммунологии СО РАН. – Новосибирск, 2007. – 195 с.
189. Цигулева, О. А. Патология гомеостаза и иммунитета при беременности, осложненной гестозом / О. А. Цигулева // Аллергология и иммунология. – 2003. – Т. 4, № 2. – С. 155.
190. Черданцева, Г. А. Иммунофизиологические аспекты развивающейся беременности / Г. А. Черданцева, О. Ю. Севостьянова, С. Н. Теплова // Аллергология и иммунология. – 2003. – Т. 4, № 2. – С. 154.
191. Шабалов, Н. П. Неонатология : в 2 т. / Н. П. Шабалов. – Москва : МЕДпресс-информ, 2006. – Т. 2. – С. 195–240.
192. Шабунин, С. В. Перинатальная патология у крупного рогатого скота – актуальная проблема ветеринарной медицины / С. В. Шабунин, Ю. Н. Алехин, А. Г. Нежданов // Ветеринария. – 2015. – № 1. – С. 3–10.
193. Шахов, А. Г. Этиология факторных инфекций животных и меры их профилактики / А. Г. Шахов // Ветеринарная патология. – 2005. – № 3. – С. 22–24.
194. Ширшев, С. В. Гормональные механизмы регуляции иммунной системы при физиологически протекающей беременности / С. В. Ширшев // Russian Journal of Immunology. – 2005. – Vol. 9, S.2. – P. 129–135.

195. Ширшев, С. В. Иммунология материнско-фетальных взаимодействий / С. В. Ширшев. – Екатеринбург : РАН УО Ин-т экологии и генетики микроорганизмов, 2009. – 582 с.
196. Шкуратова, И. А. Клинический и иммунобиохимический статус продуктивных животных в условиях техногенного загрязнения / И. А. Шкуратова, А. Д. Шушарин // Известия ОГАУ. – 2004. – № 3. – С. 131–133.
197. Щербаков, В. И. Фетальное программирование / В. И. Щербаков, Т. И. Рябиченко, Г. А. Скосырева // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2012. – Т. 10, вып. 3. – С. 210–221.
198. Экспериментальная модель в патологии / В. А. Черешнев, Е. И. Самоделкин, Т. В. Гаврилова, Ю. И. Шилов. – Пермь : УНТ, 2006. – 190 с.
199. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И. А. Волчегорский, И. И. Долгушин, О. И. Колесников, В. Э. Цейликман, Н. В. Тишевская. – Челябинск: ЧГПУ, 2000. – 187 с.
200. Эффективность применения синбиотического комплекса для коррекции физиологического статуса поросят-гипотрофиков / Е. И. Растоваров, В. С. Скрипкин, А. Н. Квочко, А. В. Агарков, В. Ф. Филенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 1. – С. 166–168.
201. Ярилин, А. А. Иммунология : учебник / А. А. Ярилин. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 752 с.
202. A novel in vitro model of trophoblast-mediated decidual blood vessel remodeling / C. Dunk, L. Petkovic, D. Baczyk, J. Rossant, E. Winterhager, S. Lye // Lab. Invest. – 2003. – Vol. 83. – P. 1821–1828.
203. Activating T regulatory cells for tolerance in early pregnancy – the contribution of seminal fluid / S. A. Robertson, L. R. Guerin, L. M.

- Moldenhauer, J. D. Hayball // *Journal of reproductive immunology*. – 2009. – Vol. 83, № 1. – P. 109–116.
204. Activation of NK cells by an endocytosed receptor for soluble HLA-G / S. Rajagopalan, Y. T. Bryceson, S. P. Kuppusamy, D. E. Geraghty, I. Joosten, E. O. Long // *PLoS biology*. – 2006. – Vol. 4, № 1. – P. 70–86.
205. Adaptation of the immune system as a response to pregnancy / L. Milasinovic, S. Bulatovic, D. Ilic, L. Ivanovic, M. Zupanski // *Med. Pregl.* – 2002. – Vol. 55, № 7 – 8. – P. 305–308.
206. Aggarwal, B. B. Signalling pathways of the TNF superfamily: double-edged sword / B. B Aggarwal // *Nat. Rev. Immunol.* – 2003. – Vol. 3. – P. 745–756.
207. Agrawal, A. A. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species / A. A. Agrawal // *Science*. – 2001. – Vol. 294. – P. 321–326.
208. Agrawal, S. Prevalence of MLR blocking antibodies before and after immunotherapy / S. Agrawal, M. K. Pandey, A. Pandey // *Journal of hematotherapy & stem cell research*. – 2000. – Vol. 9, № 2. – P. 257–262.
209. Allport, J. R. Monocytes induce reversible focal changes in vascular endothelial cadherin complex during transendothelial migration under flow / J. R. Allport, W. A. Muller, F. W. Luscinskas // *J. Cell Biol.* – 2000. – Vol. 148. – P. 203–216.
210. Alteration of Th17 and Treg cells in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion before and after lymphocyte immunization therapy / L. Wu, L. H. Luo, Y. X. Zhang, Q. Li, B. Xu, G. X. Zhou, H. B. Luan, Y. S. Liu // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2014. – Vol. 12, № 1. – A. 74.
211. Aluhivare, V. R. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to fetus / V. R. Aluhivare, M. Kallikourdis, A. G. Betz // *Nature immunology*. – 2004. – Vol. 5, № 3. – P. 266–271.
212. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis / J. H. Distler, A. Hirth, M. Kurowska-Stolarska, R. E. Gay, S. Gay, O. Distler // *Q. J. Nucl. Med.* – 2003. – Vol. 47, № 3. – P. 149–161.

213. Armulik, A. Endothelial/pericyte interactions / A. Armulik, A. Abramsson, C. Betsholtz // *Circ. Res.* – 2005. – Vol. 97. – P. 512–523.
214. Asymmetric antibodies and pregnancy / A. C. Zenclussen, T. Gentile, G. Kortebani, A. Mazzolli, R. Margni // *American Journal of Reproductive Immunology.* – 2001. – Vol. 45, № 5. – P. 289–294.
215. Asymmetric antibodies: a protective arm in pregnancy / G. Gutierrez, T. Gentile, S. Miranda, R.A. Margni // *Immunology of Pregnancy. Chemical Immunology and Allergy* / ed. by Markert U.R. – Basel : Karger Publishers, 2005. – Vol. 89. – P. 158–168.
216. Aw, D. The effect of age on the phenotype and function of developing thymocytes / D. Aw, A. B. Silva, D. B. Palmer // *Journal of comparative pathology.* – 2010. – Vol. 142, № 1. – P. 45–59.
217. Barakonyi, A. The role of gamma/delta T–cell receptor–positive cells in pregnancy: part II / A. Barakonyi, B. Polgar, J. Szekeres-Bartho // *American Journal of Reproductive Immunology.* – 1999. – Vol. 42, № 2. – P. 83–87.
218. Barnea, E. R. Applying embryo-derived immune tolerance to the treatment of immune disorders / E. R. Barnea // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 2007. – Vol. 1110, № 1. – P. 602–618.
219. Barta, O. Lymphocyte transformation test in veterinary clinical immunology / O. Barta, P. P. Oyekan // *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases.* – 1981. – Vol. 4, № 2. – P. 209–221.
220. Beer, A. E. Histocompatibility gene polymorphisms and maternal–fetal interactions / A. E. Beer, R. E. Billingham // *Transplantation proceedings.* – 1977. – Vol. 9, № 2. – P. 1393–1401.
221. Beer, A. E. Immune lymphocytes from the maternal blood can traverse the placenta and cause disease in the progeny / A. E. Beer, R. E. Billingham // *Science.* – 2013. – Vol. 179. – P. 240–243.
222. Beer, A. E. Immunobiology of mammalian reproduction / A. E. Beer, R. E. Billingham // *Advances in immunology.* – 1971. – Vol. 14. – P. 1–84.

223. Beer, A. E. New horizons in the diagnosis, evaluation and therapy of recurrent spontaneous abortion / A. E. Beer // Clinics in obstetrics and gynaecology. – 1986. – Vol. 13, № 1. – P. 115–124.
224. Beer, A. E. The immunobiology and immunopathology of the maternal-fetal relationship / A. E. Beer, J. F. Quebbeman // Progress in clinical and biological research. – 1982. – Vol. 87, № 2. – P. 289–326.
225. Bell, S. C. Humoral immune responses in murine pregnancy. I. Anti-paternal alloantibody levels in maternal serum / S.C. Bell, W.D. Billington // Journal of reproductive immunology. – 1981. – Vol. 3, № 1. – P. 3–13.
226. Besser, T. E. Decreased colostrum immunoglobulin absorption in calves with postnatal respiratory acidosis / T. E. Besser, O. Szenci, C. C. Gay // J. Am Vet Med Assoc. – 1990. – Vol. 196, № 8. – P. 1239–1243.
227. Bidirectional cytokine interactions in the maternal – fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon / T. G. Wegmann, H. Lin, L. Guilbert, T. R. Mosmann // Immunol. Today. – 2003. – Vol. 14. – P. 353–356.
228. Bodnar, R. J. Isoimmunization blocks vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell motility and tube formation via inhibition of calpain / R. J. Bodnar, C. C. Yates, A. Wells // Circ. Res. – 2006. – Vol. 98. – P. 617–625.
229. Brandes, R. P. Endothelial aging / R. P. Brandes, I. Fleming, R. Busse // Cardiovasc Res. – 2005. – Vol. 66. – P. 286–294.
230. Brunton, P. Attenuated hypothalamo-pituitary-adrenal axis responses to immune challenge during pregnancy: the neurosteroid-opioid connection / P. Brunton, J. Russell // J. Physiol. – 2008. – Vol. 586. – P. 369–375.
231. Bulmer, J. N. Macrophage population in the human placenta and amniochorion / J. N. Bulmer, P. M. Johnson // Clin.Exp.Immunol. – 1984. – Vol. 57. – P. 393–403.
232. Burrows, P. D. Ig A deficiency / P. D. Burrows, M. D. Cooper // Adv. Immunol. – 1997. – Vol. 65, № 3. – P. 245–276.

233. Carole, R. Mendelson. Minireview: fetal–maternal hormonal signaling in pregnancy and labor / R. Carole // *Mol. Endocrinol.* – 2009. – Vol. 23, № 7. – P. 947–954.
234. CD56(bright)CD25+ NK cells are preferentially recruited to the maternal/fetal interface in early pregnancy / Y. Tao, Y. H. Li, H. L. Piao, W. J. Zhou, D. Zhang, Q. Fu, S.C. Wang, D. J. Li, M. R. Du // *Cellular & molecular immunology.* – 2015. – Vol. 12, № 1. – P. 77–86.
235. Cellular allo reactivity against paternal HLA antigens in normal multiparous females as detected by intracellular cytokine flow cytometry remains elevated over years despite diminution of anti-HLA antibody levels / M. Toyoda, S. Ge, A. Pao, A. Vo, N. Deer, A. Aguiluz, A. Karasyov, S.C. Jordan // *Transplant immunology.* – 2010. – Vol. 23, № 3. – P. 133–140.
236. Changes in lymphocyte subsets during normal pregnancy / M. Kuhnert, R. Strohmeier, M. Stegmuller, E. Halberstadt // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2008. – Vol. 76, № 2. – P. 147–151.
237. Changes in T, B, and NK lymphocyte subsets during and after normal pregnancy / M. Watanabe, Y. Iwatani, T. Kaneda, Y. Hidaka, N. Mitsuda, Y. Morimoto, N. Amino // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2007. – Vol. 37. – P. 368–377.
238. Characteristics of immune cell changes before and after immunotherapy and their clinical significance in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion / L. Gao, J. P. Zhang, H. Chen, S. N. Zhang, L. B. Chen, J. P. Tan, M. L. Liu, L. L. Meng, Y. H. Wang, R. Zhang, Y. L. Liu, W. B. Cai // *Genet Mol Res.* – 2014. – Vol. 13, № 1. – P. 1169–1178.
239. Characterization of lymphocyte subsets from mucosal tissues in neonatal swine / G. I. Solano-Aguilar, K. G. Vengroski, E. Beshah [et al.] // *Developmental and Comparative Immunology.* – 2001. – Vol. 25, № 3. – P. 245–263.
240. Charnock–Jones, S., Placental vascular morphogenesis // *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* – 2004. – Vol. 14. – P. 953–968.

241. Check, J. H. A practical approach to the prevention of miscarriage: part 2—active immunotherapy / J. H. Check // *Clinical and Experimental Obstetrics and Gynecology*. – 2010. – Vol. 37, № 1. – P. 5–9.
242. Chisolm, G. M. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview / G. M. Chisolm // *Free Radic Biol Med*. – 2000. – Vol. 28. – P. 1815–1826.
243. Chylomicron metabolism. Chylomicron uptake by bone marrow in different animal species / M. M. Hussian, R. W. Mahley, J. K. Boyles, P. A. Lindquist, W. J. Brecht, T. L. Innerarity // *J. Biol Chem*. – 2009. – Vol. 264. – P. 9571–9582.
244. Clinical implication of recent advances in our understanding of IL-17 and reproductive immunology / S. Saito, A. Nakashima, M. Ito, T. Shima // *Expert review of clinical immunology*. – 2011. – Vol. 7, № 5. – P. 649–657.
245. Concentrations of serum granulocyte–colony–stimulating factor in normal pregnancy / K. Matsubara, H. Ochi, H. Kitagawa, K. Yamanaka, Y. Kusanagi, M. Ito // *Hypertens. Pregnancy*. – 2002. – Vol. 18, № 1. – P. 95–106.
246. Cooke, R. F. Effects on animal health and immune function / R. F. Cooke // *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. – 2019. – Vol. 35, № 2. – P. 331–341.
247. Correction of condition hypoxia of pregnant sows and postnatal adaptation of piglets / V. I. Trukhachev, V. S. Skripkin, A. V. Agarkov, M. N. Verevkina, R. A. Tcygansky // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2016. – Vol. 7 (2). – P. 1403–1408.
248. Coulam, C. B. Does immunotherapy for treatment of reproductive failure enhance live births? / C. B. Coulam, B. Acacio // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2012. – Vol. 67, № 4. – P. 296–304.
249. Davis, G. E. Endothelial extracellular matrix: biosynthesis, remodeling, and functions during vascular morphogenesis and neovessel stabilization / G. E. Davis, D. R. Senger // *Circ. Res*. – 2005. – Vol. 97. – P. 1093–1107.

250. Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and – spontaneous abortion cases / Y. Sasaki, M. Sakai, S. Miyazaki, S. Higuma, A. Shiozaki, S. Saito // *Mol. Human Reprod.* – 2004. – Vol. 10, № 5. – P. 347–353.
251. Dejana, E. Endothelial cell-cell junctions / E. Dejana // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2004. – Vol. 5. – P. 261–270.
252. Dejana, E. Interendothelial junctions and their role in the control of angiogenesis, vascular permeability and leukocyte transmigration / E. Dejana // *Thromb. and Haem.* – 2001. – Vol. 86. – P. 308–315.
253. Detection of soluble HLA-G molecules in plasma and amniotic fluid / V. Rebmann, K. Pfeiffer, M. Passler, S. Ferrone, S. Maier, E. Weiss, H. Grosse-Wilde // *Tissue Antigens.* – 2009. – Vol. 53. – P. 14–22.
254. Determination of clinical cellular immune markers / S. K. Lee, B. J. Na, J. Y. Kim, S. E. Hur, M. Lee, A. Gilman-Sachs, J. Kwak-Kim // *American Journal of Reproductive Immunology.* – 2013. – Vol. 70, № 5. – P. 398–411.
255. Development of a method for estimation functional reserves of a newborn organism / A. V. Agarkov, I. I. Nekrasova, A. N. Shulunova, A. I. Sidelnikov, N. V Agarkov // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* – 2018. – Vol. 9 (2). – P. 817–821.
256. Development of anti-idiotypic antibodies to HLA antigens during pregnancy / S. Agrawal, R. K. Sharma, R. Kishore, S. S. Agarwal // *The Indian journal of medical research.* – 1994. – Vol. 99. – P. 42–46.
257. Do Natural T Regulatory Cells become Activated to Antigen Specific T Regulatory Cells in Transplantation and in Autoimmunity? / B. M. Hall, G. T. Tran, N. D. Verma, K. M. Plain, C. M. Robinson, M. Nomura, S. J. Hodgkinson // *Frontiers in immunology.* – 2013. – Vol. 4. – P. 208.
258. Dosiou, C. Natural killer cells in pregnancy and recurrent pregnancy loss: endocrine and immunologic perspectives / C. Dosiou, L. C. Giudice // *End. Rev.* – 2005. – Vol. 26, № 1. – P. 44–62.

259. Duckitt, K. Recurrent miscarriage / K. Duckitt, A. Qureshi // *BMJ clinical evidence*. – 2011. – Vol. 1. – P. 1–23.
260. Early Pregnancy Factor Enhances the Generation and Function of CD4+CD25+ Regulatory T Cells / Q. Chen, X. Zhu, R. Chen, J. Liu, P. Liu, A. Hu, L. Wu, H. Hua, H. Yuan // *Tohoku Journal of Experimental Medicine*. – 2016. – Vol. 240, № 3. – P. 215–220.
261. Effect of postnatal nutrition restriction on the oxidative status of neonates with intrauterine growth restriction in a pig model / L. Che, Y. Xuan, L. Hu, Y. Liu, Q. Xu, Z. Fang, Y. Lin, S. Xu, D. Wu, K. Zhang, D. Chen // *Neonatology*. – 2015. – Vol. 107, № 2. – P. 93–99.
262. Effect of the level of maternal energy intake prepartum on immunometabolic markers, polymorphonuclear leukocyte function, and neutrophil gene network expression in neonatal Holstein heifer calves / J. S. Osorio, E. Trevisi, M. A. Ballou, G. Bertoni, J. K. Drackley, J. J. Looor // *J. Dairy Sci.* – 2013. – Vol. 96, № 6. – P. 3573–3587.
263. Efficiency, physico-chemical, commodity technological properties and biological value of pork depending on fattening technologies / V. A. Pogodaev, V. S. Skripkin, E. I. Rastovarov, V. A. Orobets, A. V. Agarkov, N. V. Agarkov // *Ecology, Environment and Conservation*. – 2019. – Vol. 25 (2). – P. 34–40.
264. Embryonic regulation of endometrial epithelial apoptosis during implantation / A. Galan, J. Remohi, A. Pellicer, C. Simon // *Hum. Reprod.* – 2000. – Vol. 15, № 6. – P. 74–80.
265. Endothelial cell-derived foam cells fail to express adhesion molecules (ICAM-1 and VCAM-1) for monocytes / E. Constantinescu, D. Alexandru, V. Alexandru Raicu M. [et al.] // *J. Submicrosc Cytol Pathol.* – 2015. – Vol. 32. – P. 195–201.
266. Erlebacher, A. Mechanisms of T cell tolerance towards the allogeneic fetus / A. Erlebacher // *Nature Reviews Immunology*. – 2013. – Vol. 13, № 1. – P. 23–33.

267. Ernerudh, J. Regulatory T Helper Cells in Pregnancy and their Roles in Systemic versus Local Immune Tolerance / J. Ernerudh, G. Berg, J. Mjosberg // *American journal of reproductive immunology*. – 2011. – Vol. 66, № 1. – P. 31–43.
268. Evaluation of immunity system in newborns pigs from sow with various degrees of immunological load / A. V. Agarkov, N. V. Agarkov, A. N. Shulunova, I. I. Nekrasova, A. I. Sidelnikov // *International Journal of Veterinary Science*. – 2020. – Vol. 9 (1). – P. 145–148.
269. Evidence for the involvement of SDF-1 and CXCR4 in the disruption of endothelial cell-branching morphogenesis and angiogenesis by TNF- α and IFN- γ / O. Salvucci, M. Basik, L. Yao, R. Bianchi, G. Tosato // *J. Leukoc. Biol.* – 2004. – Vol. 76. – P. 217–226.
270. Factors influencing success rate of leukocyte immunization and anti-paternal antibodies in spontaneous recurrent miscarriage / S. Chaichian, S. Shoaee, A. Saremi, S. Pedar, F. Firouzi // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2007. – Vol. 57, № 3. – P. 169–176.
271. Fas ligand is positioned in mouse uterus and placenta to prevent trafficking of activated leukocytes between the mother and the conceptus / J. S. Hunt, D. Vassmer, T. A. Ferguson, L. Miller // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 158. – P. 4122–4128.
272. Favorable immune phenotype predicts successful implantation and pregnancy / V. P. Chernyshov, B. V. Dons'koi, I. O. Sudoma, Y. O. Goncharova // *Immunology letters*. – 2014. – Vol. 162, № 2. – P. 217–221.
273. Ferrara, N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis / N. Ferrara // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2001. – Vol. 280. – P. 1358–1366.
274. First trimester trophoblast cells secrete Fas ligand which induces immune cell apoptosis / V. M. Abrahams, S. L. Straszewski-Chavez, S. Guller, G. Mor // *Mol. Hum. Reprod.* – 2004. – Vol. 10. – P. 55–63.

275. Flow cytometric analysis of cord blood lymphocytes / M. Pictruczuk, A. Wasiluk, S. Jaworski, M. Dabrowska // *Ginecol. Pol.* – 2008. – Vol. 69, № 4. – P. 182–187.
276. Flow cytometric analysis of activation markers on stimulated T cells and their correlation with cell proliferation / A. Caruso, S. Licenziati, M. Corulli, A. D. Canaris, M.A. De Francesco, S. Fiorentini, L. Peroni, F. Fallacara, F. Dima, A. Balsari, A. Turano // *Cytometry.* – 1997. – Vol. 27, № 1. – P. 71–76.
277. Flow cytometric analysis of activation markers on stimulated T-cells and their correlation with cell proliferation / A. Caruso, S. Licenziati, M. Corulli, A. D. Canaris, M. A. DeFrancesco, S. Fiorentini, L. Peroni, F. Fallacara, F. Dima, A. Balsari, A. Turano // *Cytometry.* – 2007. – Vol. 27, № 1. – P. 71–76.
278. Folkman, J. Angiogenesis / J. Folkman // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 267. – P. 10931–10934.
279. Formby, B. Immunologic response in pregnancy. Its role in endocrine disorders of pregnancy and influence on the course of maternal autoimmune diseases / B. Formby // *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* – 2005. – Vol. 24. – P. 187–205.
280. Frank, J. S. Ultrastructure of the intima in WHHL and cholesterol-fed rabbit aortas prepared by ultrarapid freezing and freeze etching / J. S Frank // *J. Lipid Res.* – 2009. – Vol. 30. – P. 967–978.
281. Gadd, J. Ensure newborns don't miss the colostrum bus / J. Gadd // *Pigs.* – 1990. № 6. – P. 26–28.
282. Garcia, G. G. Ex vivo enzymatic treatment of aged CD4 T cells restores antigen-driven CD69 expression and proliferation in mice / G. G. Garcia, R. A. Miller // *Immunobiology.* – 2011. – Vol. 216, № 1. – P. 66–71.
283. Gill, T. J. Mechanisms of action of major-histocompatibility-complex-linked genes affecting reproduction / T. J. Gill // *American Journal of Reproductive Immunology.* – 1999. – Vol. 41, № 1. – P. 23–33.

284. Gluckman, P. D. Maternal constraint of fetal growth and its consequences / P. D. Gluckman, M. A. Hanson // *Semin Fetal Neonatal Med.* – 2004. – P. 419–425.
285. Goasduf, B. The importance of the post weaning period / B. Goasduf // *Int. Pig. Pop.* – 2009. – Vol. 14, № 6. – P. 41–43.
286. Guerin, L. R. Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? / L. R. Guerin, J. R. Prins, S. A. Robertson // *Human reproduction update.* – 2009. – Vol. 15, № 5. – P. 517–535.
287. Gumbiner, B. M. Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis / B. M. Gumbiner // *Cell.* – 2006. – Vol. 84. – P. 345–357.
288. Hammon, H. M. Metabolic and endocrine traits of neonatal calves are influenced by feeding colostrum for different durations or only milk replacer / H. M. Hammon, J. W. Blum // *J. Nutr.* – 1998. – Vol. 128, № 3. – P. 624–632.
289. Hanlon-Lundberg, K. M. Umbilical vein white blood cell count as a marker of acidemia in term neonates / K. M. Hanlon-Lundberg, R. S. Kirby // *J. Matern Fetal Med.* – 2000. – Vol. 9, № 6. – P. 327–329.
290. Heightened peripheral blood lymphocyte CD69 expression is neither sensitive nor specific as a noninvasive diagnostic test for renal allograft rejection / M. Karpinski, D. Rush, J. Jeffery, D. Pochinco, D. Milley, P. Nickerson // *Journal of the American Society of Nephrology.* – 2003. – Vol. 14, № 1. – P. 226–233.
291. Histological investigations into the relationship between low-birth-weight and spontaneous bowel damage in the neonatal piglet / J. C. Thornbury, P. D. Sibbons, D. Vanvelzen, R. Trickey, L. Spitz // *Pediatr. Pathol.* – 1993. – Vol. – P. 59–69.
292. HLA-G has a concentration-dependent effect on the generation of an allo-CTL response / K. Kapasi, S. E. Albert, S. Yie, N. Zavazava, C. L. Librach // *Immunology.* – 2000. – Vol. 101. – P. 191–200.

293. Hung, T. H. In vitro ischemia–reperfusion injury in term placenta as a model for oxidative stress in pathological pregnancies / T. H. Hung, J. N. Skepper, G. Burton // *Am J. Pathol.* – 2001. – Vol. 159. – P. 1031–1043.
294. Hunt, J. S. Cytokine networks in the uteroplacental unit: Macrophages as pivotal regulatory cells / J. S. Hunt // *J. Reprod. Immunol.* – 2019. – Vol. 16. – P. 10–17.
295. Hunt, J. S. Immunologically relevant cells in the uterus / J. S. Hunt // *Biol. Reprod.* – 2004. – Vol. 50. – P. 461–466.
296. Huppertz, B. Apoptosis in the trophoblast role of apoptosis in placental morphogenesis / B. Huppertz, J. C. Kingdom // *J. Soc. Gynecol. Investig.* – 2004. – Vol. 11. – P. 353–362.
297. ICAM-1 in maternal serum and amniotic fluid as an early marker / G. Baviera, R. D'Anna, F. Corrado, A. Ruello, M. Buemi, V. M. Jasonni // *J. Reprod. Med.* – 2002. – Vol. 47, № 3. – P. 191–193.
298. IgG asymmetric molecules with antipaternal activity isolated from sera and placenta of pregnant / I. M. Borel, T. Gentile, J. Angelucci, J. Pividori, M.C. Guala, R. A. Binaghi, R.A. Margni // *Journal of reproductive immunology.* – 1991. – Vol. 20, № 2. – P. 129–140.
299. Immunobiological mechanisms of stimulation of the body's natural resistance in conditions of altered reactivity / v.I. Trukhachev, A. V. Agarkov, A. F. Dmitriev, N. V. Agarkov, A. N. Shulunova, A. I. Sidelnikov, L. I. Malysheva // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.* – 2019. – Vol. 403 (1). – A. 012062.
300. Immunological characteristics of umbilical cord blood cells: phenotypic and functional analysis / E. Racadot, J. P. Schaal, P. Van Lemmens, M. Billot, P. Herve // *J. Hematother.* – 2003. – Vol. 2 (2). – P. 251–253.
301. Immunological evaluation of patients with recurrent abortion / S. S. Souza, R. A. Ferriani, C. M. Santos, J. C. Voltarelli // *Journal of reproductive immunology.* – 2002. – Vol. 56, № 1. – P. 111–121.

302. Immunological modes of pregnancy loss / J. Kwak-Kim, J. C. Park, H. K. Ahn, J. W. Kim, A. Gilman–Sachs // American journal of reproductive immunology. – 2010. – Vol. 63, № 6. – P. 611–623.
303. Immunological modes of pregnancy loss: inflammation, immune effectors, and stress / J. Kwak-Kim, S. Bao, S.K. Lee, J.W. Kim, A. Gilman–Sachs // American Journal of Reproductive Immunology. – 2014. – Vol. 72, № 2. – P. 129–140.
304. Immunologically mediated abortion (IMA) / E. Giacomucci, C. Bulletti, V. Polli, R.A. Prefetto, C. Flamigni // The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. – 1994. – Vol. 49, № 2. – P. 107–121.
305. Immunosuppressive effect of pregnant mouse serum on allostimulatory activity of dendritic cells / J. Shojaeian, S. M. Moazzeni, S. Nikoo, M. Bozorgmehr, M. Nikougoftar, A. H. Zarnani // Journal of reproductive immunology. – 2007. – Vol. 75, № 1. – P. 23–31.
306. Increased levels of macrophage colony–stimulating factor in the placenta and blood / M. Hayashi, K. Hoshimoto, T. Ohkura, N. Inaba // Am. J. Reprod. Immunol. – 2002. – Vol. 47, № 1. – P. 19–24.
307. Increased levels of macrophage migration inhibitory factor (MIF) / T. Todros, S. Bontempo, E. Piccoli, F. Ietta, R. Romagnoli, M. Biolcati, M. Castellucci, L. Paulesu // European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2005. – Vol. 123, № 2. – P. 162–166.
308. Increased prevalence of T helper 17 (Th17) cells in peripheral blood and decidua in unexplained recurrent spontaneous abortion patients / W. J. Wang, C. F. Hao, Yi-Lin, G. J. Yin, S. H. Bao, L. H. Qiu, Q. D. Lin // Journal of reproductive immunology. – 2010. – Vol. 84, № 2. – P. 164–170.
309. Inflammation and pregnancy: the role of the immune system at the implantation site / G. Mor, I. Cardenas, V. Abrahams, S. Guller // Annals of the New York Academy of Sciences. – 2011. – Vol. 1221, № 1. – P. 80–87.
310. Innate and adaptive immunity at mucosal surfaces of the female reproductive tract: stratification and integration of immune protection against

- the transmission of sexually transmitted infections / D. K. Hickey, M. V. Patel, J. V. Fahey, C. R. Wira // *Journal of reproductive immunology*. – 2011. – Vol. 88, № 2. – P. 185–194.
311. Interaction of decidual CD56+ NK with trophoblast cells during normal pregnancy and recurrent spontaneous abortion at early term of gestation / N. Sotnikova, D. Voronin, Y. Antsiferova, E. Bukina // *Scandinavian journal of immunology*. – 2014. – Vol. 80, № 3. – P. 198–208.
312. Interferon gamma in successful pregnancies / S. P. Murphy, C. Tayade, A. A. Ashkar, K. Hatta, J. Zhang, B. A. Croy // *Biol. Reprod.* – 2009. – Vol. 80, № 5. – P. 48–59.
313. Interpretation of blocking activity in maternal serum depends on the equation used for calculation of mixed lymphocyte culture results / M. I. Park, S. S. Edwin, J. R. Scott, D. W. Branch // *Clinical & Experimental Immunology*. – 1990. – Vol. 82, № 2. – P. 363–368.
314. Immunophenotypic characterization of cord blood B-lymphocytes. / K. Paloczi, A. Batai, L. Gopcsa, R. Ezsi, G. G. Petranfy // *Bone Marrow Transplant.* – 2008. – Vol. 22 (4). – P. 89–91.
315. Jiang, S. P. Multiple mechanisms of peripheral T cell tolerance to the fetal allograft / S. P. Jiang, M. S. Vacchio // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 160. – P. 3086–3090.
316. Kampon, K. Infiltration by cells of the immune system in the sow endometrium / K. Kampon // *Acta univ. agr. Sueciae. Vet.* – 2002. – № 136. – P. 1–63.
317. Kaufmanna, P. Aspects fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis / P. Kaufmanna, T. M. Mayhewb, D. S. Charnock-Jonesc // *Placenta*. – 2004. – Vol. 25. – P. 114–126.
318. Kaufmanna, P. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation / P. Kaufmanna, S. Black, B. Huppertz // *Biol. Reprod.* – 2003. – Vol. 69. – P. 1–7.

319. Keever, C. A. Characterization of cord blood lymphocyte subpopulations / C. A. Keever // *J. Hematother.* 2003. – Vol. 2 (2). – P. 203–206.
320. Khong, T. Y. Immunohistologic study of the leukocytic infiltrate in maternal uterine tissues in normal and preeclamptic pregnancies at term / T. Y. Khong // *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* – 2007. – Vol. 15. – P. 1–8.
321. Kinnunen, A. K. Repeated variable prenatal stress alters pre- and postsynaptic gene expression in the rat frontal pole / A. K. Kinnunen, J. L. Koenig, G. Bilbe // *J. Neurochem.* – 2003. – Vol. 86, № 3. – P. 736–748.
322. Koch, C. A. Natural mechanisms for evading graft rejection: the fetus as an allograft / C. A. Koch, J. L. Platt // *Springer Seminars in Immunopathology.* – 2003. – Vol. 25, № 2. – P. 95–117.
323. Koch, C. A. T cell recognition and immunity in the fetus and mother / C. A. Koch, J. L. Platt // *Cellular immunology.* – 2007. – Vol. 248, № 1. – P. 12–17.
324. Kovac, M. A successful outcome of pregnancy in a patient with congenital antithrombin deficiency / M. Kovac, Z. Mikovic, L. Rakirevic // *Vojnosanit Pregl.* – 2010. – Vol. 68, № 2. – P. 175–177.
325. Krishna, U. Placental insufficiency and fetal growth restriction / U. Krishna, S. Bhalerao // *J. Obstet. Gynaecol. India.* – 2011. – Vol. 61, № 5. – P. 505–711.
326. Kudo, T. Telomerase activity and apoptosis as indicators of ageing in placenta with and without intrauterine growth retardation / T. Kudo, T. Izutsu, T. Sato // *Placenta.* – 2000. – Vol. 21. – P. 493–500.
327. Kwak-Kim, J. Recurrent pregnancy loss: a disease of inflammation and coagulation / J. Kwak-Kim, K. M. Yang, A. Gilman-Sachs // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research.* – 2009. – Vol. 35, № 4. – P. 609–622.
328. Labarrere, C. Acute atherosclerosis. A histopathological hallmark of immune aggression / C. Labarrere // *Placenta.* – 2008. – Vol. 9. – P. 95–108.

329. Lanier, L. L. NK cells: from no receptors to too many / L. L. Lanier // *Immunity*. – 2007. – Vol. 6. – P. 371–378.
330. Lanzavecchia, A. Mechanisms of antigen uptake for presentation / A. Lanzavecchia // *Curr Opin Immunol*. – 2001. – Vol. 8. – P. 348–354.
331. Lashley, E. E. Beneficial or harmful effect of antipaternal leukocyte antibodies on pregnancy outcome? A systematic review and meta-analysis / E. E. Lashley, T. Meuleman, F. H. J. Claas // *American journal of reproductive immunology*. – 2013. – Vol. 70, № 2. – P. 87–103.
332. Lauritsen, J. G. Materno–fetal ABO incompatibility as a cause of spontaneous abortion / J. G. Lauritsen, N. Grunnet, O. M. Jensen // *Clinical genetics*. – 1975. – Vol. 7, № 4. – P. 308–316.
333. Lauritsen, J. G. Significance of HLA and blood–group incompatibility in spontaneous abortion / J. G. Lauritsen, J. Jørgensen, F. Kissmeyer-Nielsen // *Clinical genetics*. – 1976. – Vol. 9, № 6. – P. 575–582.
334. Lindner, V. Basic fibroblast factor stimulates endothelial regrowth and proliferation in denuded arteries / V. Lindner, R. A. Majack, M. A. Reidy // *J. Clin Invest*. – 2000. – Vol. 85. – P. 2004–2008.
335. Long-term effects of social stress on antiviral immunity in pigs / J. de Groot, M. A. Ruis, J. W. Schönten [et al.] // *Physiology and Behavior*. – 2001. – Vol. 73, № 1–2. – P. 145–158.
336. Longtine, M. S. Placental dysfunction and fetal programming: the importance of placental size, shape, histopathology, and molecular composition / M. S. Longtine, D. M. Nelson // *Semin. Reprod. Med*. – 2011. – Vol. 29, № 3. – P. 187–196.
337. Lower macrophage migration inhibitory factor concentrations in maternal serum before pre–eclampsia onset / S. Cardaropoli, F. Ietta, R. Romagnoli, A. Rolfo, L. Paulesu, T. Todros // *Journal of Interferon & Cytokine Research*. – 2014. – Vol. 34, № 7. – P. 537–542.

338. Lu, L. F. Molecular orchestration of differentiation and function of Regulatory T cells / L. F. Lu, A. Rudensky // *Genes & development*. – 2009. – Vol. 23, № 11. – P. 1270–1282.
339. Lymphocyte phenotyping to distinguish septic from nonseptic critical illness / S. J. Schwulst, J. T. Muenzer, K. C. Chang, T. S. Brahmabhatt, C. M. Coopersmith, R. S. Hotchkiss // *Journal of the American College of Surgeons*. – 2008. – Vol. 206, № 2. – P. 335–342.
340. Lymphocyte subpopulations in pregnancy complicated by hypertension / F. Mahmoud, A. Omu, H. Abul, S. El-Rayes, D. Haines // *Journal of Obstetrics & Gynaecology*. – 2003. – Vol. 23, № 1. – P. 20–26.
341. Macrophage migration inhibitory factor in the human endometrium: expression and localization during the menstrual cycle and early pregnancy / F. Arcuri, C. Ricci, F. Ietta, M. Cintorino, S. A. Tripodi, I. Cetin, E. Garzia, F. Schatz, P. Klemi, R. Santopietro, L. Paulesu // *Biology of reproduction*. – 2001. – Vol. 64, № 4. – P. 1200–1205.
342. Macrophage-induced angiogenesis is mediated by tumour necrosis factor- α / S. J. Leibovich, P. J. Polverini, H. M. Shepard, D. M. Wiseman, V. Shively, N. Nuseir // *Nature*. – 2007. – Vol. 329. – P. 630–632.
343. Macrophages and apoptotic cell clearance during pregnancy / V. M. Abrahams, Y. M. Kim, S. L. Straszewski, R. Romero, G. Mor // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2004. – Vol. 51. – P. 275–282.
344. Makarenko, M. V. Morphological changes in the placenta in different forms of fetal growth retardation / M. V. Makarenko // *Journal of Health Sciences*. – 2014. – P. 103–110.
345. Malassine, A. A comparison of placental development and endocrine functions between the human and mouse model / A. Malassine, J. L. Frendol, D. Evain-Brion // *Human Reprod. Update*. – 2003. – Vol. 9, № 6. – P. 531–539.
346. Maternal decidual macrophages inhibit NK cell killing of invasive cytotrophoblasts during pregnancy / E. C. Co, M. Gormley, M. Kapidzic, D.

- B. Rosen, M. A. Scott, H. A. Stolp, M. McMaster, L. L. Lanier, A. Barcena, S. J. Fisher // *Biology of reproduction*. – 2013. – Vol. 88 (6), № 155. – P. 1–9.
347. Maternal peripheral blood lymphocyte subpopulations in normal and pathological pregnancies / G. Makrydimas, N. Plachouras, M. T. Higuera, B. Thilaganathan, K. Nicolaides // *Fetal. Diagn. Tlier.* – 1994. – Vol. 9, № 6. – P. 371–378.
348. Maternal serum progesterone–induced blocking factor at 11-13 weeks' gestation in spontaneous early preterm delivery / J. Beta, J. Szekeres–Bartho, E. Skyfta, R. Akolekar, K.H. Nicolaides // *Fetal diagnosis and therapy*. – 2011. – Vol. 29, № 3. – P. 197–200.
349. Matthiesen, L. Multiple pregnancy failures: an immunological paradigm / L. Matthiesen, S. Kalkunte, S. Sharma // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2012. – Vol. 67, № 4. – P. 334–340.
350. Mayhew, T. M. Villous trophoblast placenta: coherent view of its turnover, repair and contributions to villous development and maturation / T. M. Mayhew // *Histol Histopathol.* – 2001. – Vol. 16. – P. 1213–1224.
351. Mazzatenta, A. Pathologies currently identified by exhaled biomarkers / A. Mazzatenta, C. Di Giulio, M. Pokorski // *Respiratory Physiology & Neurobiology*. – 2013. – Vol. 187, № 1. – P. 128–134.
352. Mechanisms of immune tolerance relevant to food allergy / B. P. Vickery, A. M. Scurlock, S. M. Jones, A. W. Burks // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2011. – Vol. 127, № 3. – P. 576–584.
353. Medavar, P. B. Some immunological and endocrinological problems raised by evolution of viviparity in vertebrates / P. B Medavar // *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1953. – Vol. 7. – P. 320–328.
354. Mestan, K. K. Fetal origins of neonatal lung disease: understanding the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia / K. K. Mestan, R. H. Steinhorn // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. – 2011. – Vol. 301, № 6. – P. L858–L859.

355. Method development for correction the immunological status of newborn animals / V. I. Trukhachev, A. F. Dmitriev, V. S. Skripkin, A. V. Agarkov, N. V. Agarkov // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2017. – Vol. 8 (1). – P. 1852–1856.
356. Meyer, D. M. Characterization of intercellular adhesion molecule-1 ectodomain (sICAM-1) as an inhibitor of lymphocyte function–associated molecule-1 interaction with ICAM-1 / D. M. Meyer, M. L. Dustin, C. P. Carron // *J. Immunol.* – 1995. – Vol. 155, № 7. – P. 3578 – 3584.
357. MICA triggering signal for NK cell tumor lysis is counteracted by HLA-G 1-mediated inhibitory signal / C. Menier, B. Riteau, E. D. Carosella, N. Rouas-Freiss // *Int. J. Cancer*. – 2002. – Vol. 100. – P. 63–70.
358. Miekisch, W. Diagnostic potential of breath analysis focus on volatile organic compounds / W. Miekisch, J. K. Schubert, G. F. Noeldge-Schomburg // *Clinica chimica acta*. – 2004. – Vol. 347, № 1–2. – P. 25–39.
359. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions / J. A. Berliner, M. C. Territo, A. Sevanian, S. Ramin, J. A. Kim, B. Bamshad, M. Esterson, A. M. Fogelman // *J. Clin Invest.* – 2009. – Vol. 85. – P. 1260–1266.
360. Mixed lymphocyte reaction blocking factors (MLR–Bf) as potential biomarker for indication and efficacy of paternal lymphocyte immunization in recurrent spontaneous abortion / N. A. Khonina, E. V. Broitman, E.Y. Shevela, N. M. Pasma, E. R. Chernykh // *Archives of gynecology and obstetrics*. – 2013. – Vol. 288, № 4. – P. 933–937.
361. Modern methods for food safety / R. S. Omarov, A. V. Agarkov, E. I. Rastovarov, S. N. Shlykov // *Engineering for Rural Development*. – 2017. – Vol 16. – P. 960–963.
362. Modern views on the problem of intrauterine infection progeny producing animals / V. I. Trukhachev, V. S. Skripkin, A. V. Agarkov, M. N. Verevkina, V. A. Meshcheryakov // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2016. – Vol. 7 (4). – P. 1336–1339.

363. Moldenhauer, L. M. Utilising T cell receptor transgenic mice to define mechanisms of maternal T cell tolerance in pregnancy / L. M. Moldenhauer, J. D. Hayball, S. A. Robertson // *Journal of reproductive immunology*. – 2010. – Vol. 87, № 1. – P. 1–13.
364. Mor, G. The immune system in pregnancy: a unique complexity / G. Mor, I. Cardenas // *American journal of reproductive immunology*. – 2010. – Vol. 63, № 6. – P. 425–433.
365. Morphofunctional changes assessment in newborn piglets in early postnatal ontogenesis complicated by isoimmunization symptoms / A. V. Agarkov, A. F. Dmitriyev, N. V. Agarkov, A. N. Shulunova, A. I. Sidelnikov // *E3S Web of Conferences*. – 2020. – Vol. 210. – A. 06025.
366. Murray, C. F. Newborn calf vitality: risk factors, characteristics, assessment, resulting outcomes and strategies for improvement / C. F. Murray, K. E. Leslie // *Vet J*. – 2013. – Vol. 198, № 2. – P. 322–328.
367. Nor, J. E. Role of endothelial cell survival and death signals in angiogenesis / J. E. Nor, P. J. Polverini // *Angiogenesis*. – 2003. – Vol. 3. – P. 101–116.
368. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25⁺ CD4⁺ regulatory T-cell subset / D. A. Somerset, Y. Zheng, M. D. Kilby, D. M. Sansom, M. T. Drayson // *Immunology*. – 2004. – Vol. 112, № 1. – P. 38–43.
369. Ormerod, M. G. Flow cytometry: a practical approach / M. G. Ormerod. – 3–rd ed. – Oxford : University Press, 2000. – 276 p.
370. Oxidative stress in neonatology. A review / M. Mutinati, M. Pantaleo, M. Roncetti, M. Piccinno, A. Rizzo, R. L. Sciorsci // *Reprod. Dom. Anim*. – 2014. – Vol. 49, № 1. – P. 7–16.
371. Oxidized low density lipoprotein and innate immune receptors / Y. I. Miller, M. K. Chang, C. J. Binder, P. X. Shaw, J. L. Witztum // *Curr Opin Lipidol*. – 2003. – Vol. 14. – P. 437–445.

372. Ozenci, C. C. Immunohistochemical detection of CD45+, CD56+, and CD 14+ cells during early pregnancy / C. C. Ozenci, E. T. Korgun, R. Demir // *Early Pregn.* – 2001. – Vol. 5. – P. 164–175.
373. Pabst, R. Postnatal development of lymphocyte subsets in different compartments of the small intestine of piglets / R. Pabst, H. J. Rothkottes // *Vet. Immunol, and Immunopathol.* – 2002. – Vol. 72, № 1–2. – P. 167–173.
374. Palmer, G. W. Pregnancy and immunology: selected aspects / G. W. Palmer, H. N. Claman // *Ann. Allergy. Asthma Immunol.* – 2002. – Vol. 89, № 4. – P. 350–359.
375. Paul, W. E. *Fundamental Immunology* / W. E. Paul. – New-York : Lippincott – Raven, 1999. – 360 p.
376. Peripheral blood T- and B-cell immunophenotypic abnormalities in selected with unexplained recurrent miscarriage / J. Carbone, E. Sarmiento, A. Gallego, N. Lanio, J. Navarro, S. García, E. Fernandez-Cruz // *Journal of reproductive immunology.* – 2016. – Vol. 113. – P. 50–53.
377. Peterson, R. A. Regulatory T-cells: diverse phenotypes integral to immune homeostasis and suppression / R. A. Peterson // *Toxicologic pathology.* – 2012. – Vol. 40, № 2. – P. 186–204.
378. Petroff, M. G. Review: Fetal antigens-identity, origins, and influences on the maternal immune system / M. G. Petroff // *Placenta.* – 2011. – Vol. 32. – P. 176–181.
379. Physiological alterations associated with intrauterine growth restriction in fetal pigs: causes and insights for nutritional optimization / J. Wang, C. Feng, T. Liu, M. Shi, G. Wu, F. W. Bazer // *Molecular Reproduction & Development.* – 2017. – Vol. 84, № 9. – P. 897–904.
380. Piccinni, M. P. Role of hormone-controlled T-cell cytokines in the maintenance of pregnancy / M. P. Piccinni, E. Maggi, S. Romagnani // *Biochem. Soc. Trans.* – 2010. – Vol. 28, № 2. – P. 212–215.

381. Pimentel-Muinos, F. X. Regulated commitment of TNF receptor signaling: a molecular switch for death or activation / F. X. Pimentel-Muinos, B. Seed // *Immunity*. – 2001. – Vol. 11. – P. 783–793.
382. Pittman, Q. Brain adaptations for a successful pregnancy / Q. Pittman // *J. Physiol.* – 2008. – Vol. 586, № 2. – P. 367.
383. Placental angiogenesis in sheep models of compromised pregnancy / L. P. Reynolds, P. P. Borowicz, K. A. Vonnahme, M. L. Johnson, A. T. Grazul-Bilska, D. A. Redmer, J. S. Caton // *J. Physiol.* – 2005. – Vol. 565, № 1. – P. 43–58.
384. Placental mesenchymal dysplasia / Z. Parveen, J. Tongson-Ignacio, C. Fraser [et al.] // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2007. – Vol. 131 (1). – P. 131–137.
385. Plasma and placental levels of interleukin–10, transforming growth factor-beta 1, and epithelial-cadherin / A. Benian, R. Madazli, F. Aksu, H. Uzun, S. Aydin // *Obstet. Gynecol.* – 2002. – Vol. 100, № 2. – P. 327–331.
386. Possible mechanisms of immunotherapy for maintaining pregnancy in recurrent spontaneous aborters: analysis of anti–idiotypic antibodies directed against autologous T-cell receptors / K. Ito, T. Tanaka, N. Tsutsumi, F. Obata, N. Kashiwagi // *Human reproduction*. – 1999. – Vol. 14, № 3. – P. 650–655.
387. Preeclampsia increases the risk of hyaline membrane disease in premature infant: a retrospective controlled study / A. Cherif, W. Ben jema, S. Kacem, N. Guellouze, S. Jebnoun, N. Khrouf // *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. – 2008. – Vol. 37, № 66. – P. 597–601.
388. Preeclampsia, a pregnancy – specific disease, is associated with fetal monocyte activation / A. Steinborn, C. Sohn, C. Sayehli, A. Niederhut, E. Schmitt, M. Kaufmann // *Clin. Immunol.* – 2001. – Vol. 100, № 3. – P. 305–313.
389. Preferential synthesis of asymmetric antibodies in rats immunized with paternal particulate antigens. Effect on pregnancy / T. Gentile, I. M. Borel, J. Angelucci, S. Miranda, R. A. Margni // *Journal of reproductive immunology*. – 1992. – Vol. 22, № 2. – P. 173–183.

390. Pregnancy imprints regulatory memory that sustains anergy to fetal antigen / J. H. Rowe, J. M. Ertelt, L. Xin, S. S. Way // *Nature*. – 2012. – Vol. 490, № 7418. – P. 102–106.
391. Pregnancy: tolerance and suppression of immune responses / A. Leber, M.L. Zenclussen, A. Teles, N. Brachwitz, P. Casalis, T. El-Mousleh, F. Jensen, K. Woidacki, A.C. Zenclussen // *Suppression and Regulation of Immune Responses: Methods and Protocols*. – 2011. – P. 397–417.
392. Preimplantation factor (PIF) detection in maternal circulation in early pregnancy correlates with live birth (bovine model) / S. Ramu, C. Stamatkin, L. Timms, M. Ruble, R. G. Roussev, E. R. Barnea // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2013. – Vol. 11, № 1. – A. 105.
393. PreImplantation Factor (PIF) orchestrates systemic antiinflammatory response by immune cells: effect on peripheral blood mononuclear cells / E. R. Barnea, D. Kirk, S. Ramu, B. Rivnay, R. Roussev, M. J. Paidas // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2012. – Vol. 207, № 4. – P. 313.e1–313.e11.
394. Preimplantation factor reduces graft-versus-host disease by regulating immune response and lowering oxidative stress (murine model) / Y. Azar, R. Shainer, O. Almogi-Hazan, R. Bringer, S. R. Compton, M. J. Paidas, E. R. Barnea, R. Or // *Biology of Blood and Marrow Transplantation*. – 2013. – Vol. 19, № 4. – P. 519–528.
395. Prevalence and qualitative properties of circulating anti-human leukocyte antigen alloantibodies after pregnancy: No association with unexplained recurrent miscarriage / G. Bartel, K. Walch, M. Wahrmann, S. Pils, L. Küssel, S. Polterauer, C. Tempfer, G.A. Böhmig // *Human immunology*. – 2011. – Vol. 72, № 2. – P. 187–192.
396. Proportional change of CD4+ CD25+ regulatory T cells after lymphocyte therapy in unexplained recurrent spontaneous abortion patients / H. Yang, L. Qiu, W. Di, A. Zhao, G. Chen, K. Hu, Q. Lin // *Fertility and sterility*. – 2009. – Vol. 92, № 1. – P. 301–305.

397. Prospects of using antioxidant drugs for the treatment and prevention diseases of farm animals / I. V. Kireev, V. A. Orobets, O. I. Sevostyanova, V. N. Shakhova, A. V. Agarkov // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2018. – Vol. 9 (3). – P. 2031–2036.
398. Protein carbonyls in decidua and placenta of pre-eclamptic as markers for oxidative stress / P. M. Zusterzeel, H. Rutten, H. M. Roelofs, W. H. Peters, E. A. Steegers // *Placenta*. – 2001. – Vol. 22. – P. 213–219.
399. Quehenberger, O. Thematic review series: the immune system and atherogenesis. Molecular mechanisms regulating monocyte recruitment in atherosclerosis / O. Quehenberger // *J. Lipid Res*. –2005. – Vol. 46. – P. 1582 – 1590.
400. Recurrent miscarriage is associated with a decline of decidual natural killer cells expressing killer cell immunoglobulin – like receptors specific for leukocyte antigen C / S. Wang, Y. P. Li, B. Ding, Y. R. Zhao, Z. J. Chen, C. Y. Xu, Y. B. Fu, X. T. Wang // *Journal of Obstetrics and Gynecology Research*. – 2014. –Vol. 40, № 5. – P. 1288–1295.
401. Redman, C. W. Preeclampsia. An excessive maternal inflammatory response to pregnancy / C. W. Redman, G. P. Sacks, I. L. Sargent // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2003 – Vol. 180. – P. 499–506.
402. Regulation of endometrial stromal cell matrix metalloproteinase activity and invasiveness by interleukin-8 / N. Mulayim, A. Savlu, O. Guzeloglu–Kayisli, U. A. Kayisli, A. Arici // *Fertil. Steril.* – 2004. – Vol. 81, № 1. – P. 904–911.
403. Regulation of T cell activation in developing fetus / J. Michaelsson, J. E. Mold, J. M. McCune, D. F. Nixon // *J. of Immun.* – 2006. – Vol. 176. – P. 5741–5748.
404. Regulatory T cells and immune tolerance / S. Sakaguchi, T. Yamaguchi, T. Nomura, M. Ono // *Cell*. – 2008. – Vol. 133, № 5. – P. 775–787.

405. Review: putative roles for the macrophage migratory inhibitory factor at the maternal fetal interface / E. Bevilacqua, L. Paulesu, E. A. Ferro, F. Ietta, M. R. Faria, A. R. Lorenzon, A. F. Costa, M. Martucci // *Placenta*. – 2014. – Vol. 35. – P. 51–56.
406. Risau, W. Platelet-derived growth factor is angiogenic in vivo / W. Risau // *Growth Factors*. – 2002. – Vol. 7. – P. 261–266.
407. Role of anti-human lymphocyte culture cytotoxic antibodies in recurrent spontaneous pregnancy loss women / S. Umapathy, A. Shankarkumar, V. Ramrakhiyani, K. Ghosh // *Journal of human reproductive sciences*. – 2011. – Vol. 4, № 1. – P. 17–19.
408. Role of inflammatory mediators in patients with recurrent pregnancy loss / C. Comba, E. Bastu, O. Dural, C. Yasa, G. Keskin, M. Ozsurmeli, F. Buyru, H. Serdaroglu // *Fertility and Sterility*. – 2015. – Vol. 104, № 6. – P. 1467–1474.
409. Rupp, P. A. Integrins in vascular development / P. A. Rupp, C. D. Little // *Circ. Res*. – 2001. – Vol. 89. – P. 566 – 572.
410. Saito, S. Future directions of studies for recurrent miscarriage associated with immune etiologies / S. Saito, A. Nakashima, T. Shima // *Journal of reproductive immunology*. – 2011. – Vol. 90, № 1. – P. 91–95.
411. Salmon, H. The mammary gland and neonat mucosal immunity / H. Salmon // *J. Immunol and Immunopathol*. – 1999. – № 1–2. – P. 143–155.
412. Sargent, I. L. Immunoregulation in normal pregnancy: an overview / I. L. Sargent, A. M. Borzychowski, C. W. Redman // *Reprod. Biomed. Online*. – 2006. – Vol. 13, № 5. – P. 680–686.
413. Sargent, I. L. NK cells an inflammatory view / I. L. Sargent, A. M. Borzychowski, C. W. Redman // *Trends. Immunol*. – 2006. – Vol. 27, № 9. – P. 399–404.
414. Seminal fluid drives expansion of the CD4+CD25+ T regulatory cell pool and induces tolerance to paternal alloantigens in mice / S. A. Robertson,

- L. R. Guerin, J. J. Bromfield, K. M. Branson, A. C. Ahlström, A. S. Care // *Biology of reproduction*. – 2009. – Vol. 80, № 5. – P. 1036–1045.
415. Severity of oxidative stress generates different mechanisms of endothelial cell death / A. Burlacu, V. V. Jinga, A.V. Gafencu, M. Simionescu // *Cell Tissue Res*. – 2001. – Vol. 306. – P. 409–416.
416. Sharma, S. Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss / S. Sharma // *The International journal of developmental biology*. – 2014. – Vol. 58. – P. 219–229.
417. Silver-based drug effect on the body of calves with diarrhea / E. S. Olentsova, V. A. Orobets, O. I. Sevostyanova, I. V. Kireev, A. V. Agarkov // *E3S Web of Conferences*. – 2020. – Vol. 203. – A. 01026.
418. Simms, P. E. Utility of flow cytometric detection of CD69 expression as a rapid method for determining poly – and oligoclonal lymphocyte activation / P. E. Simms, T. M. Ellis // *Clinical and diagnostic laboratory immunology*. – 1996. – Vol. 3, № 3. – P. 301–304.
419. Slukvin, I. I. Two-color flow cytometric analysis of natural killer and cytotoxic T-lymphocyte subsets in peripheral blood of normal neonates / I. I. Slukvin, V. P. Chernishov // *Biol. Neonate*. – 2002. – Vol. 61, № 3. – P. 156–161.
420. Small, J. V. The comings and goings of actin: coupling protrusion and retraction in cell motility / J. V. Small, G. P. Resch // *Curr. Opin. Cell Biol*. – 2005. – Vol. 17. – P. 517–523.
421. Smith, J. T. Directed cell migration on fibronectin gradients: effect of gradient slope / J. T. Smith, J. T. Elkin, W. M. Reichert // *Exp. Cell Res*. – 2006. – Vol. 312. – P. 2424–2432.
422. Smith, S. C. Increased placental apoptosis in intrauterine growth restriction / S. C. Smith, P. N. Baker, E. M. Symonds // *Am. J. Obstet. Gynecol*. – 2007. – Vol. 177 (6). – P. 1395–1401.
423. Soluble HLA-G influences the release of cytokines from allogeneic peripheral blood mononuclear cells in culture / T. Kanai, T. Fujii, S. Kozuma,

- T. Yamashita, A. Miki, A. Kikuchi, Y. Taketani // *Mol. Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 7. – P. 195–200.
424. Sorg, R. V. Identification of cord blood dendritic cells as an immature CD11c-population. / R.V. Sorg, G. Kogler, P. Wernet // *Blood.* – 2009. – Vol. 93 (7). – P. 2302–2307.
425. Specific immunological reactivity formation during gestation period in pregnant sows / A. V. Agarkov, A. F. Dmitriyev, A. N. Kvochko, E. A. Grudeva, N. V. Agarkov, A. R. Onishchenko // *E3S Web of Conferences.* – 2020. – Vol. 210. – A. 06002.
426. Stevens, T. Mechanisms regulating endothelial cell barrier function / T. Stevens // *Am. J. of Phys. Lung Cell, and Mol. Phys.* – 2000. – Vol. 279. – P. 419–422.
427. Straszewski-Chavez, S. L. TNF- α induces trophoblast apoptosis by upregulating XLAP-associated factor 1 (XAF1) / S. L. Straszewski-Chavez, V. M. Abrahams, G. Mor // *J. Soc. Gynecol. Invest.* – 2004. – Vol. 11. – A. 179A.
428. Study of plasma factors associated with neutrophil activation and lipid peroxidation in preeclampsia / A. Barden, J. Ritchie, B. Walters, C. Michael, J. Rivera, T. Mori, K. Croft, L. Beilin // *Hypertension.* – 2001. – Vol. 38, № 4. – P. 803–808.
429. T cells stimulated in vitro have a suppressive function but do not contain only regulatory T cells / E. Valencic, E. Piscianz, A. Tommasini, M. Granzotto // *Clinical & Experimental Immunology.* – 2007. – Vol. 150, № 3. – P. 561–566.
430. Tachi, C. Macrophages and implantation / C. Tachi, S. Tachi // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2006. – Vol. 476. – P. 158–182.
431. Tang, A. W. Natural killer cells and pregnancy outcomes with recurrent miscarriage and infertility: a systematic review / A. W. Tang, Z. Alfircic, S. Quenby // *Human reproduction.* – 2011. – Vol. 26, № 8. – P. 1971–1980.

432. T-cell awareness of paternal alloantigens during pregnancy / A. Tafuri, J. Alferink, P. Möller, G. J. Hämmerling, B. Arnold // *Science*. – 1995. – Vol. 270, № 5236. – P. 630.
433. Th 1 and Th 2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions / M. Makhseed, R. Raghupathy, F. Azizieh, A. Omu // *Hum. Reprod.* – 2001. – Vol.16, № 10. – P. 2219–2226.
434. Thaete, L. G. Neerhof Endothelin and platelet-activating factor. Significance in the pathophysiology of ischemia/reperfusion-induced fetal growth restriction in the rat / L. G. Thaete, G. Mark // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2006. – Vol. 194, № 5. – P. 1377–1383.
435. The balance of the immune system between T cells and NK cells in miscarriage / A. Nakashima, T. Shima, K. Inada, M. Ito, S. Saito // *American Journal of Reproductive Immunology*. – 2012. – Vol. 67, № 4. – P. 304–310.
436. The effect of human placenta cytotrophoblast cells on the maturation and T-cell stimulating ability of dendritic cells in vitro / V. Yu. Talayev, A. V. Matveichev, M. A. Lomunova, M. V. Talayeva, M. E. Tsaturov, I. Ye. Zaichenko, O. N. Babaykina // *Clinical and Experimental Immunology*. – 2010. – Vol. 162. – P. 91–99.
437. The evolution of the natural-killer-dependent cytotoxic activity during normal pregnancy / I. Blidaru, C. Cianga, M. Zlei, F. Zugun, M. Tepelus, S. Slatineanu, E. Carasevici // *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi*. – 2010. – Vol. 104, № 4. – P. 75–78.
438. The frequency of perinatally significant bacterial infections in pregnant animals / A. F. Dmitriev, A.V. Agarkov, V. N. Shakhova, O. I. Sevostyanova, N. V. Agarkov // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2018. – Vol. 9 (3). – P. 954–957.
439. The history of the development of hyper immune serums and their practical application / V. I. Trukhachev, V. S. Skripkin, M. N. Verevkina, A. V. Agarkov, N. V. Fedota // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2016. – Vol. 7 (2). – P. 1054–1059.

440. The influence of inherited and noninherited parental antigens on outcome after transplantation / D. E. Van den Boogaardt, J. J. van Rood, D. L. Roelen, F. H. Claas // *Transplant international*. – 2006. – Vol. 19, № 5. – P. 360–371.
441. The presence of HLA-antibodies in recurrent miscarriage patients is associated with a reduced chance of a live birth / H. S. Nielsen, M. D. Witvliet, R. Steffensen, G. W. Haasnoot, E. Goulmy, O. B. Christiansen, F. Claas // *Journal of reproductive immunology*. – 2010. – Vol. 87, № 1. – P. 67–73.
442. The role of macrophage migration inhibitory factor in maintaining the immune privilege at the fetal-maternal interface / P. Vigano, M. Cintorino, F. Schatz, C. J. Lockwood, F. Arcuri // *Seminars in immunopathology*. – 2007. – Vol. 29, № 2. – P. 135–150.
443. The role of the innate immune system in type1/type2 immunity shifts in normal pregnancy / I. Sargent, J. Redcliffe, A. Borzychowski, A. B. Croy, C. J. Redman // *AJRI*. – 2004. – Vol. 51. – P. 460 – 461.
444. Thornburg, K. L. The placenta is a programming agent for cardiovascular disease / K. L. Thornburg, P. F. O'Tierney, S. Louey // *Placenta*. – 2010. – Vol. 31. – P. 54–59.
445. Tomura, M. Naive CD4+ T lymphocytes circulate through lymphoid organs to interact with endogenous antigens and upregulate their function / M. Tomura, K. Itoh, O. Kanagawa // *The Journal of Immunology*. – 2010. – Vol. 184, № 9. – P. 4646–4653.
446. Transfer of lipoproteins from plasma to the cell populations of the normal and atherosclerotic arterial tissue / G. Bondjers, O. Wiklund G. Fager, E. H. Camejo, G. Camejo // *Eur Heart J*. – 2010. – Vol. 31 (suppl. E). – P. 158–163.
447. Transforming growth factor- β signal transduction in angiogenesis and vascular disorders / P. Bertolino, M. Deckers, F. Lebrin, P. Dijke // *Chest*. – 2005. – Vol. 128. – P. 585–590.

448. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface / K. Red-Horse, Y. Zhou, O. Genbacev, A. Prakobphol, R. Foulk, M. McMaster, S. J. Fisher // *J. Clin. Invest.* – 2004. – Vol. 114. – P. 744–754.
449. Trophoblast–macrophage interactions: a regulatory network for the protection of pregnancy / S. Fest, P. B. Aldo, V. M. Abrahams, I. Visintin, A. Alvero, R. Chen, S. L. Chavez, R. Romero, G. Mor // *American journal of reproductive immunology.* – 2007. – Vol. 57, № 1. – P. 55–66.
450. Trophoblasts and decidual stromal cells regulate decidual NK cell functions via interaction between collagen and LAIR-1 / Q. Fu, Y. Tao, H. Piao, M. R. Du, D. J. Li // *American Journal of Reproductive Immunology.* – 2014. – Vol. 71, № 4. – P. 368–378.
451. Tumor necrosis factor type a, a potent inhibitor of endothelial cell growth in vitro, is angiogenic in vivo / M. Frater-Schroder, W. Risau, R. Hallmann, P. Gautschi, P. Bohlen // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – Vol. 84. – P. 5277–5281.
452. Umbilical cord plasma interleukin-6 and fetal growth restriction / R. A. Odegard, L. J. Vatten, S. T. Nilsen, K. A. Salvesen, H. Vefring, R. Austgulen // *Obstet. Gynecol.* – 2001. – Vol. 98, № 2. – P. 289–294.
453. Vaginal mucosa serves as an inductive site for tolerance / C. A. Black, L. C. Rohan, M. Cost, S. C. Watkins, R. Draviam, S. Alber, R. P. Edwards // *The Journal of Immunology.* – 2000. – Vol. 165. – № 9. – P. 5077–5083.
454. Van Wijk, F. Intestinal T cells: facing the mucosal immune dilemma with synergy and diversity / F. van Wijk, H. Cheroutre // *Seminars in immunology.* – 2009. – Vol. 21, № 3. – P. 130–138.
455. Vascular endothelium // J. Genest, O. Kuchel, P. Hamet, M. Cantin. – New York : McGraw-Hill, 2003. – P. 473–488.
456. Vassiliadou, N. Elevated expression of activation molecules by decidual lymphocytes in organism suffering spontaneous early pregnancy loss

- / N. Vassiliadou, R. F. Searle, J. N. Bulmer // *Human Reproduction*. – 2019. – Vol. 14, № 5. – P. 1194–1200.
457. Veenstra, A. L. The immunology of successful pregnancy / A. L. Veenstra, M. J. Heineman, M. M. Faas // *Reprod. Update*. – 2003. – Vol. 9, № 4. – P. 347–357.
458. Villous cytotrophoblast regulation of the syncytial apoptotic cascade in placenta / B. Huppertz, H. G. Frank, J. C. Kingdom, F. Reister, P. Kaufmann // *Histochem. Cell Biol.* – 2008. – Vol.110. – P. 495–508.
459. Villous sprouting: fundamental mechanisms of placental development / M. Castellucci, G. Kosanke, F. Verdenelli, B. Huppertz [et al.] // *Hum. Reprod. Update*. – 2007. – Vol. 6, № 5. – P. 485–94.
460. Voisin, G. A. Immunological tolerance to living cells, homologous disease and immunological facilitation (enhancement phenomenon). A working hypothesis allowing a unified concept / G. A. Voisin // *Mechanisms of immunological tolerance* / ed. by M. Hasek, A. Lengerova, M. Vojtiskova. – Prague : Publishing House of Czech Academy of Sciences, 2002. – P. 435–455.
461. Voisin, G. A. Relationship between tolerance and facilitation of allografted cells / G. A. Voisin, R. Kinsky, H. T. Duc // *Transplantation proceedings*. – 2002. – Vol. 4, № 3. – P. 377–382.
462. Weber, C. Enhancement of monocyte adhesion to endothelial cells by oxidatively modified low – density lipoprotein is mediated by activation of cdllb / C. Weber, W. Erl, P. C. Weber // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2005. – Vol. 206. – P. 621– 628.
463. Werfel, T. Rapid expression of the CD69 antigen on T cells and natural killer cells upon antigenic stimulation of peripheral blood mononuclear cell suspensions / T. Werfel, M. Boeker, A. Kapp // *Allergy*. – 1997. – Vol. 52, № 4. – P. 465–469.

464. Wilczynski, J. R. Immunological analogy between allograft rejection, recurrent abortion / J. R. Wilczynski // *Human immunology*. – 2006. – Vol. 67, № 7. – P. 492–511.
465. Williams, Z. Inducing tolerance to pregnancy / Z. Williams // *New England Journal of Medicine*. – 2012. – Vol. 367, № 12. – P. 1159–1161.
466. Wold, A. S. Natural killer cells and reproductive failure / A. S. Wold, A. Arici // *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. – 2005. – Vol. 17, № 3. – P. 237–241.
467. Wood, G. W. Immunohistological identification of macrophages in murine placenta, yolk sac membranes and pregnant uteri / G. W. Wood // *Placenta*. – 2000. – Vol. 1. – P. 309–318.
468. Xiong, H. Proportional changes of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells in maternal peripheral blood during pregnancy and labor at term and preterm / H. Xiong, C. Zhou, G. Qi // *Clinical & Investigative Medicine*. – 2010. – Vol. 33, № 6. – P. 422–428.
469. Yagel, S. The developmental role of natural killer cells at the fetal – maternal interface / S. Yagel // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2009. – Vol. 201, № 4. – P. 344–350.
470. Yan, C. H. Preparation of placenta factor and its immunoregulatory effects on lymphocytes in vitro / C. H. Yan, D. P. Lu // *Journal of experimental hematology of Chinese Association of Pathophysiology*. – 2007. – Vol. 15, № 3. – P. 567–572.
471. Zarnani, A. H. Recurrent pregnancy loss through the lens of immunology / A. H. Zarnani // *Journal of reproduction and infertility*. – 2015. – Vol. 16, № 2. – P. 59–60.
472. Zeldovich, V. Host defence and tolerance: unique challenges in the placenta / V. Zeldovich, A. Bakardjiev // *PLoS Pathogens*. – 2012. – V. 8, № 8. – P. 42–55.

473. Zenclessen, A. C. Regulatory T cells in pregnancy / A. C. Zenclessen // Springer seminars in immunopathology. – 2006. – Vol. 28, № 1. – P. 31–39.
474. Zhao, J. X. Fetal alloantigen is responsible for the expansion of the CD4(+)CD25(+) regulatory T cell pool during pregnancy / J. X. Zhao, Y. Y. Zeng, Y. Liu // Journal of reproductive immunology. – 2007. – Vol. 75, № 2. – P. 71–81.
475. Zhy, B. T. Development of selective immune tolerance towards the allogeneic fetus during pregnancy: Role of tryptophan catabolites (Review) / B. T. Zhy // Int. J. Mol. Med. – 2010. – Vol. 25, № 6. – P. 831–835.

9. ПРИЛОЖЕНИЯ



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2581663

**СПОСОБ ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОРМОВОЙ СМЕСИ ДЛЯ
ПРОФИЛАКТИКИ ГИПОТРОФИИ ПОРОСЯТ В
ПЛОДНЫЙ ПЕРИОД**

Патентообладатель(и): *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
"Ставропольский государственный аграрный
университет" (ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте **

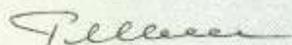
Заявка № 2014149814

Приоритет изобретения 09 декабря 2014 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 28 марта 2016 г.

Срок действия патента истекает 09 декабря 2034 г.

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

 Г.П. Исхова



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2614733

Способ повышения иммунобиологического статуса новорожденных поросят

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
"Ставропольский государственный аграрный университет"
(RU)*

Авторы: *Трухачев Владимир Иванович (RU), Скрипкин
Валентин Сергеевич (RU), Дмитриев Анатолий Федорович
(RU), Агарков Александр Викторович (RU), Агарков Николай
Викторович (RU)*

Заявка № 2016109530

Приоритет изобретения 16 марта 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 28 марта 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 16 марта 2036 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Исклев Г.П. Исклев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2654563

Способ повышения репродуктивной способности беременных свиноматок крупной белой породы и жизнеспособности новорожденного потомства

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный аграрный университет"* (RU)

Авторы: *Дмитриев Анатолий Федорович (RU), Агарков Александр Викторович (RU), Агарков Николай Викторович (RU)*

Заявка № 2017119099

Приоритет изобретения 31 мая 2017 г.

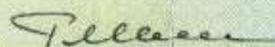
Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 21 мая 2018 г.

Срок действия исключительного права на изобретение истекает 31 мая 2037 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

 Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2685273

Способ оценки функциональных резервов новорожденного организма

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный аграрный университет"* (RU)

Авторы: *Дмитриев Анатолий Федорович (RU), Азарков Александр Викторович (RU), Азарков Николай Викторович (RU)*

Заявка № 2017137185

Приоритет изобретения 23 октября 2017 г.

Дата государственной регистрации в

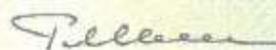
Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 17 апреля 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 23 октября 2037 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 Г.Н. Ильин



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2018660665

**Программа мониторинга и прогнозирования
жизнеспособности сельскохозяйственных животных и птицы**

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Ставропольский государственный аграрный университет» (RU)*

Авторы: *Трухачев Владимир Иванович (RU), Скрипкин Валентин
Сергеевич (RU), Дмитриев Анатолий Федорович (RU), Агарков
Александр Викторович (RU), Александрова Татьяна Сергеевна (RU),
Онищенко Артем Романович (RU)*

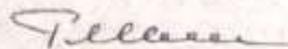
Заявка № 2018617547

Дата поступления 19 июля 2018 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программы для ЭВМ 28 августа 2018 г.

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

 Г.И. Изrael



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2018665662

**Программа мониторинга и прогнозирования
внутриутробного инфицирования с предотвращением ранних
репродуктивных потерь у продуктивных животных**

Правообладатель: *федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Ставропольский государственный аграрный университет» (RU)*

Авторы: *Трухачев Владимир Иванович (RU), Скрипкин Валентин
Сергеевич (RU), Дмитриев Анатолий Федорович (RU), Азарков
Александр Викторович (RU), Азарков Николай Викторович
(RU), Онищенко Артем Романович (RU), Самойленко Виктор
Сергеевич (RU)*

Заявка № 2018662604

Дата поступления 12 ноября 2018 г.

Дата государственной регистрации

в Реестре программ для ЭВМ 06 декабря 2018 г.

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Г.И. Низиев





ЕВРАЗИЙСКАЯ ПАТЕНТНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

ЕВРАЗИЙСКИЙ ПАТЕНТ

№ 025833

Название изобретения:

«СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ
НОВОРОЖДЕННЫХ ЖИВОТНЫХ»

Патентовладелец (льцы):

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
"СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ" (ФГБОУ ВО СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГАУ) (RU)

Изобретатель (и):

Дмитриев Анатолий Федорович, Агарков Александр Викторович (RU)

Заявка №:	201401179
Приоритет изобретения:	16 июля 2014 г.
Дата подачи заявки:	25 ноября 2014 г.
Дата выдачи патента:	28 февраля 2017 г.

Настоящим удостоверяется, что евразийский патент выдан на изобретение, изложенное в прилагаемом описании и формуле изобретения.

При уплате установленных годовых пошлин патент действует на территории государства - участников Евразийской патентной конвенции - Азербайджанской Республики, Кыргызской Республики, Республики Армения, Республики Беларусь, Республики Казахстан, Республики Таджикистан, Российской Федерации, Туркменистана.

ТЛЕВЛЕСОВА Сауле Январбековна
Президент Евразийского патентного ведомства



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2737336

**Способ определения иммунологической реактивности
организма животных**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
"Ставропольский государственный аграрный университет"
(RU)*

Авторы: *Дмитриев Анатолий Федорович (RU), Агарков
Александр Викторович (RU), Агарков Николай Викторович
(RU)*

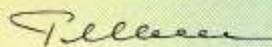
Заявка № 2020117936

Приоритет изобретения 20 мая 2020 г.

Дата государственной регистрации в
Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 27 ноября 2020 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 20 мая 2040 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

 Г.П. Иванев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2743363

Способ тестирования иммунологической толерантности у животных

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный аграрный университет" (RU)*

Авторы: *Дмитриев Анатолий Федорович (RU), Агарков Александр Викторович (RU), Агарков Николай Викторович (RU), Онищенко Артем Романович (RU)*

Заявка № 2020119229

Приоритет изобретения 03 июня 2020 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 17 февраля 2021 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 03 июня 2040 г.



*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Г.П. Излиев Г.П. Излиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2749026

Способ диагностики изоиммунизации животных

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный аграрный университет" (RU)*

Авторы: *Дмитриев Анатолий Федорович (RU), Азарков Александр Викторович (RU), Азарков Николай Викторович (RU), Опищенко Артем Романович (RU)*

Заявка № 2020119204

Приоритет изобретения 03 июня 2020 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 03 июня 2021 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 03 июня 2040 г.



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ильин



(51) МПК
G01N 33/53 (2006.01)
A01K 67/02 (2006.01)
 (52) СПК
G01N 33/53 (2021.02)
A01K 67/02 (2021.02)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

действует (последнее изменение статуса: 10.07.2021)
 Статус: Установленный срок для уплаты пошлины за 3 год: с 01.09.2021 по 31.08.2022. При
 Пошлина: уплате пошлины за 3 год в дополнительный 6-месячный срок с 01.09.2022 по 28.02.2023
 размер пошлины увеличивается на 50%.

(21)(22) Заявка: [2020128866](#), 31.08.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 31.08.2020

Дата регистрации:
 02.07.2021

Приоритет(ы):
 (22) Дата подачи заявки: 31.08.2020

(45) Опубликовано: [02.07.2021](#) Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о
 поиске: RU 2126154 C1, 10.02.1999. RU
 2605381 C2, 20.12.2016. SU 1686364 A1,
 23.10.1991. RU 2317548 C1, 20.02.2008.

Адрес для переписки:
 365017, г. Ставрополь, пер.
 Зоотехнический, 12, СтГАУ, ОИС
 (патентный отдел)

(72) Автор(ы):

Дмитриев Анатолий Федорович (RU),
 Агарков Александр Викторович (RU),
 Агарков Николай Викторович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Ставропольский
 государственный аграрный университет"
 (RU)

(54) Способ определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе "мать-плод-новорожденный"

(57) Реферат:

Изобретение относится к области ветеринарной иммунологии. Предложен способ определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный». Способ включает забор крови из яремной вены после родов свиноматки и из пуповинной крови от новорожденного поросенка, получение первого опытного образца (сыворотка крови поросенка + кровь свиноматки) и второго опытного образца (сыворотка крови свиноматки + кровь поросенка), а также контрольные образцы. После опытные и контрольные образцы размещают на штативе и анализируют качественные изменения. Для определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный» вычисляют коэффициент изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный». При значении коэффициента не более 29 новорожденного животного считают без антигенной изоиммунизации, а при повышении 43 - с нарушением фетоплацентарного комплекса. Изобретение обеспечивает повышение достоверности лабораторного исследования и формирование группы животных с высоким риском развития иммунологической толерантности. 1 табл., 3 пр.

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к ветеринарной иммунологии, которое может быть использовано в клинической практике для диагностики изоантигенной нагрузки у животных, в частности к способу определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать-плод-новорожденный» и использовать



**СВИДЕТЕЛЬСТВО
МК-1770.2018.4**

**Александр Викторович
Агарков**

является победителем конкурса 2018 года на право
получения грантов Президента Российской
Федерации для государственной поддержки молодых
российских ученых – кандидатов наук в области
знания

Биология и науки о жизни

Председатель Совета по грантам
Президента Российской Федерации

академик РАН
А. И. Рудской



ИИНО

Сертификат
Certificate

ITSE

настоящим удостоверяет, что / this is to certify

Агарков Александр Викторович

принимал(а) участие в VIII Международной научно-практической конференции
participated the VIII International scientific and practical conference

«Инновационные технологии в науке и образовании»
«Innovative technologies in science and education»
Конференция «ИТНО 2020» / «ITSE 2020» Conference

19 – 30 августа 2020
Российская Федерация

August 19 – 30, 2020
Russian Federation

В.Ч. Месхи
B. Ch. Meskhi
Ректор Донского государственного
технического университета

Ю.Ф. Лачуга
Yu. F. Lachuga
Академик-секретарь отделения
сельскохозяйственных наук РАН,
академик РАН

АгроПромышленный



CERTIFICATE

This is to confirm that

Agarkov Alexander

participated the XIV International Scientific and Practical Conference

«STATE AND DEVELOPMENT PROSPECTS OF AGRIBUSINESS»
 («INTERAGROMASH 2021» Conference)
 using remote technologies

within the framework of the Agribusiness Forum of the South of Russia: exhibitions «Interagromash», «Agrotechnologies»

K. N. Rachalovskiy
 Minister of Agriculture and Food of the Rostov region

B.Ch. Meskhi
 Rector of Don State Technical University

February 24 – 26, 2021
 Russian Federation



INTERAGROMASH2021 000429

ДОГОВОР №1858
о творческом сотрудничестве

г. Ставрополь

«02» октября 2020 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ), именуемый в дальнейшем «Университет», в лице ректора Атанова Ивана Вячеславовича, действующего на основании Устава, и КФХ Великородный Александр Викторович именуемое в дальнейшем «Предприятие», в лице главы крестьянского фермерского хозяйства Великородного Александра Викторовича, действующего на основании Свидетельства о государственной регистрации в качестве малого и среднего предпринимательства, категория: микропредприятие совместно именуемые «Стороны», заключили настоящий договор о нижеследующем:

1. ПРЕДМЕТ ДОГОВОРА.

1.1. Предметом настоящего договора является организация и проведение совместной научно-исследовательской, аналитической, научно-методической, научно-педагогической деятельности по проблемам, представляющим взаимный интерес сторон: организация сотрудничества в подготовке научно-педагогических кадров и специалистов высшего профессионального образования; использование кадрового потенциала договаривающихся сторон в организации и проведении совместной научно-исследовательской деятельности; проведение совместной опытно-экспериментальной и аналитической деятельности.

1.2. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ) обязуется:

- предоставлять базу для проведения совместных научных исследований, лекций, семинаров, конференций;
- выполнять необходимые опытно-конструкторские, поисковые и экспериментальные работы;
- предоставлять возможность профессиональной подготовки и переподготовки научно-педагогических кадров на базе университета;
- предоставлять право сотрудникам партнера публиковать результаты исследований в своих плановых изданиях и совместных публикациях.

1.3. Предприятие обязуется:

- предоставить базу для выполнения исследования по докторской диссертационной работе доцента кафедры терапии и фармакологии факультета ветеринарной медицины Агаркова Александра Викторовича на тему: «Специфика иммунобиологической взаимосвязи и взаимоотношения в функциональной системе «мать-плод-новорожденный» и ее влияние на жизнеспособность потомства в конкретных условиях среды обитания» утвержденной Ученым советом ФГБОУ ВО Ставропольского ГАУ от 5 декабря 2016 года, протокол № 9;
- оказывать взаимную помощь в планировании и проведении научных исследований и научно-методической работы в соответствии с согласованной тематикой;
- привлекать ученых ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ к выполнению совместных НИР, подготовке коллективных научно-методических трудов;
- принимать участие в научном редактировании, а также в рецензировании работ сотрудников партнера.

2. ПРАВА И ОБЯЗАТЕЛЬСТВА СТОРОН

- 2.1. Стороны имеют право взаимного участия в образовательном и научном процессе.
- 2.2. Стороны имеют право пользоваться информационно-библиотечными ресурсами.
- 2.3. Предоставлять учебно-производственную и приборно-лабораторную базу и оборудование.

3. ОТВЕТСТВЕННОСТЬ СТОРОН.

- 3.1. Стороны ответственны за разрешение всех разногласий, которые могут возникнуть в процессе исполнения договорных обязательств.

4. ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ.

- 4.1. Настоящий договор составлен в двух экземплярах. По одному экземпляру для каждой стороны. Оба экземпляра имеют одинаковую юридическую силу.
- 4.2. Договор считается пролонгированным на каждый последующий год, если не одна из сторон не заявила о его расторжении.
- 4.3. Срок действия договора пять лет. Договор прекращается при взаимном согласии сторон, нарушения одной из сторон условий настоящего договора или действующего законодательства РФ.
- 4.4. Изменение и расторжение договора может иметь место по взаимному согласию сторон.
- 4.5. Договор вступает в силу с момента его подписания обеими сторонами.

5. ПРОЧИЕ УСЛОВИЯ.

- 5.1. По другим вопросам, не предусмотренным настоящим договором о совместной деятельности, стороны руководствуются действующим законодательством.
- 5.2. Дополнения и изменения в настоящий договор вносятся по обоюдному согласию сторон по мере необходимости на взаимовыгодных условиях.

6. ЮРИДИЧЕСКИЕ РЕКВИЗИТЫ СТОРОН.

Предприятие:

Наименование: КФХ
Великородный Александр Викторович
Адрес: Ставропольский край,
Курский район, поселок Балтийский
ИНН 261202472435
ОГРНИП 304264106600123
ОКПО 51979429
ОКАТО 07233802001
ОКОГУ 4210005
ОКТМО 07633402101
ОКФС Частная собственность

Университет:

ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ
355017, г. Ставрополь
пер. Зоотехнический, 12

ИНН 2634003069 КПП 263401001
УФК по Ставропольскому краю (2133
ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ) л/с
20216Х49680 р/с 40501810700022000002
в Отделение Ставрополь г. Ставрополь
БИК 040702001


В. ВЕЛИКОРОДНЫЙ /


Декан факультета ветеринарной медицины
и биотехнологического факультета,
профессор Скрилкин В.С.

Ректор 
М. П. ИВАНОВ /


(подпись) (расшифровка)

ВЫПИСКА
из протокола № 1 заседания комиссии научно-технического совета
секции животноводства министерства сельского хозяйства
Ставропольского края

01 марта 2021 года

г. Ставрополь

1. СЛУШАЛИ:

Начальника отдела животноводства, рыболовства и племенного дела Потехина Константина Ивановича об утверждении методических рекомендаций на тему: «Оценка иммунологических критериев ранней адаптации у новорожденного потомства животных и сельскохозяйственной птицы» (далее – методические рекомендации), подготовленных коллективом разработчиков: доцентом, кандидатом биологических наук, заместителем декана факультета ветеринарной медицины по учебной работе Агарковым А.В.; доктором биологических наук, профессором кафедры эпизоотологии и микробиологии Дмитриевым А.Ф.; профессором, кандидатом ветеринарных наук, деканом факультета ветеринарной медицины и биотехнологического факультета Скрипкиным В.С.; доктором ветеринарных наук, профессором, заведующим кафедрой терапии и фармакологии Оробец В.А., аспирантом Онищенко А.Р.

Методические рекомендации разработаны с целью представления применения иммунологических подходов к оценке жизнеспособности у новорожденных животных и суточного молодняка сельскохозяйственной птицы.

В методических рекомендациях представлены материалы по обоснованию актуальности и практической значимости исследований и научно-технических разработок по оценке и прогнозированию жизнеспособности новорожденного потомства животных и суточного молодняка сельскохозяйственной птицы.

ПОСТАНОВИЛИ:

1. Рекомендовать утвердить методические рекомендации на тему: «Оценка иммунологических критериев ранней адаптации у новорожденного потомства животных и сельскохозяйственной птицы» и опубликовать для использования практических ветеринарных специалистов и студентов высших учебных заведений.

Руководитель секции, заместитель
министра сельского хозяйства
Ставропольского края

 А.В.Крисан

Секретарь, главный специалист
отдела животноводства, рыболовства
и племенного дела министерства
сельского хозяйства Ставропольского края

 В.К.Красникова