

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Ставрополь
2021

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет»

Научный консультант:	Дмитриев Анатолий Федорович доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры эпизоотологии микробиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»
Официальные оппоненты:	Карпенко Лариса Юрьевна доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры биохимии и физиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», заведующая кафедрой биохимии и физиологии Семенов Владимир Григорьевич доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры морфологии, акушерства и терапии ФГБОУ ВО «Чувашский государственный аграрный университет», заведующий кафедрой морфологии, акушерства и терапии Великанов Валериан Иванович доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры анатомии, хирургии и внутренних незаразных болезней ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия»
Ведущая организация:	ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской Академии Наук»

Защита диссертации состоится 19 ноября 2021 г. в 10-00 ч на заседании диссертационного совета Д 220.062.02 при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» по адресу: 355035, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический 12, ауд. № 1, тел. 8 (8652) 35-22-82, 8 (8652) 35-22-83. E-mail: ydiash@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на официальном сайте ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» и на сайте <http://www.stgau.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2021 года и размещен на сайтах ВАК Министерства науки и высшего образования РФ <http://vak.minobrnauki.gov.ru> «__» _____ 2021 г. ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ» РФ <http://www.stgau.ru> «__» _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Дьяченко Юлия Васильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 терпит 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 жизнеспособности 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; Джобавя 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; Хантов 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.

А. А. Михайленко (2000), S. S. Souza (2002), B. Formby (2005), S. A. Robertson (2009), V. Yu. Talayev (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 свидетельству-

ют 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, сенсibilизированные 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 свиней 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 свиней.

Задачи исследования:

1. Изучить закономерности формирования иммуноопосредованных реакций функциональной системы «мать – плацента – потомство» при беременности.

2. Установить критерии оценки нарушения иммунорегуляции и иммунологической толерантности свинок 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), приготвления кормовой смеси для профилактики гипотрофии в плодный период (патент на изобретение № 2581663 от 28.03.2016), повышения иммунобиологического статуса новорожденных поросят (патент на изобретение № 2614733 от 28.04.2017), определения жизнеспособности новорожденных животных (Евразийский патент на изобретение № 025833 от 28.02.2017), повышения репродуктивной способности беременных свиноматок и жизнеспособности новорожденного потомства (патент на изобретение № 2654563 от 21.05.2018), оценки функциональных резервов новорожденного организма (патент на изобретение № 2685273 от 17.04.2019), определения иммунологической реактивности организма животных (патент на изобретение № 2737336 от 20.05.2020), тестирования иммунологической толерантности животных (патент на изобретение № 2743363 от 03.06.2020), диагностики изоиммунизации животных (патент на изобретение № 2749026 от 03.06.2020), определения изоантигенной нагрузки

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

Применение в условиях производства разработанных программ мониторинга и прогнозирования жизнеспособности потомства сельскохозяйственных животных (свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ № 2018660665 от 28.08.2018) и оценки внутриутробного инфицирования у продуктивных животных (свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ № 2018665662 от 06.12.2018) 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 патоморфологических изменений 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 иммуносупрессорного 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 аспек-

те дает 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, пат. № 2581663 от 28.03.2016, пат. № 2614733 от 28.04.2017, Евразийский пат. № 025833 от 28.02.2017, пат. № 2654563 от 21.05.2018, пат. № 2685273 от 17.04.2019, пат. № 2737336 от 20.05.2020, пат. № 2743363 от 03.06.2020, пат. № 2749026 от 03.06.2020, пат. № 2750757 от 31.08.2020, заяв. положительным решением по выдаче патента на изобретение № 2020137035 от 10.11.2020), двух свидетельств для программы ЭВМ (свидетельство программы ЭВМ № 2018660665 от 28.08.2018, свидетельство программы ЭВМ № 2018665662 от 06.12.2018) и пяти заявок по получению патента на изобретение (заяв. № 2020144359 от 12.01.2021, заяв. № 2020144360 от 12.01.2021, заяв. № 2021100742 от 18.01.2021, заяв. № 2021103860 от 15.02.2021, заяв. Евразийский патент № 202190262/65 от 15.12.2021) 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 определяет 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 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 использованием методов вариационной статистики.

Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на научных конференциях: Международной научно-практической конференции «Воспитание и обучение: теория, методика и практика» (12 сентября 2016 г., г. Воронеж), Международной научно-практической конференции научных сотрудников и преподавателей «Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве» (16 декабря 2016 г., г. Ставрополь), Международной научно-практической интернет-конференции «Инновационные подходы в ветеринарной и зоотехнической науке и практике» (1–5 февраля 2016 г., г. Ставрополь), Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и перспективы развития ветеринарной медицины, зоотехнии и аквакультуры» (22–24 марта 2016 г., г. Саратов), Международной научно-практической конференции «Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве – основа модернизации агропромышленного комплекса России» (28 мая 2016 г., г. Саратов), 82-й Международной научно-практической конференции «Аграрная наука – Северо-Кавказскому федеральному округу» (26 апреля 2017 г., г. Ставрополь), Международной научно-практической конференции «Современные научные исследования» (17 апреля 2017 г., г. Пенза), Международной конференции «Инновационные технологии в сельском хозяйстве, ветеринарии и пищевой промышленности» (26 апреля 2017 г., г. Ставрополь), III Международной научно-практической конференции «Научные достижения и открытия» (5 октября 2017 г., г. Пенза), V Международной научно-практической конференции «European Research» (7 мая 2018 г., 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., г. Ставрополь), XII International scientific conference on agricultural machinery industry – INTERAGROMASH 2019 (27 февраля – 1 марта 2019 г., г. Ростов-на-Дону), Международной научно-практической конференции «Современные тенденции машиностроения и техносферной безопасности» (СТМТБ 2020), посвященной 90-летию опорного вуза Ростовской области (20 октября 2020 г., г. Ростов-на-Дону); XIII Международной научно-практической конференции «Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса» в рамках XXIII Агропромышленного форума юга России (INTERAGROMASH 2020) (с 26 по 28 февраля 2020 г., г. Ростов-на-Дону), XVI Международной научно-практической конференции «Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса» (INTERAGROMASH 2021) (с 24 по 26 февраля 2021 г., 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, протокол № 1 от 1 марта 2021 года) и «Иммунологические принципы оценки и прогнозирования жизнеспособности новорожденных поросят» (рассмотрены на заседании научно-методической комиссии Всероссийского научно-исследовательского ин-

ститута 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», протокол № 2 от 16 марта 2021 года, и одобрены на заседании Ученого совета ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, протокол № 2 от 8 апреля 2021 г.).

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; Научно-диагностического и лечебного ветеринарного центра 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», «Гистология 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 ГАУ», 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 ГАУ», ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана», ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина», ФГБОУ ВО «Уральский ГАУ», ФГБОУ ВО «Алтайский ГАУ», Всероссийского НИИ овцеводства и козоводства – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», ФГБОУ ВО «Дагестанский ГАУ имени М. М. Джамбулатова», ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский ГАУ 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 теме диссертационного исследования, – № 156/19 от 06.08.2019, № 156/19 от 12.08.2019, № 157/19 от 12.08.2019, № 199/18 от 20.08.2018, № 201/18 от 20.08.2018, № 230 от 23.08.2018, № 232/18 от 23.08.2018, № 161/17 от 08.09.2017, № 166/17 от 08.09.2017, № 245/17 от 05.12.2017, № 247/17 от 05.12.2017, № 1231 от 22.03.2016.

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

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) и «УМНИК-17» (договор № 12578ГУ/2017 от 18.04.2018).

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).

Выполненная диссертационная работа получила поощрение 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) 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 по 2021 г., 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 г.). 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 Анатолия Федоровича Дмитриева.

Публикации результатов исследований. Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в 50 работах, в том числе в 15 статьях в российских журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации («Ветеринария Кубани»,

«Международный вестник ветеринарии», «Вестник КрасГАУ», «Ветеринарная патология», «Известия Оренбургского государственного аграрного университета», «Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии», «Ип-пология 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»). По результатам исследования опубликованы 1 монография, 3 учебно-методических пособия, 3 методические рекомендации, 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.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе представлен обзор научно-технической информации, отражающей иммунологические отношения в функциональной системе «мать – плацента – потомство». Определены данные по предупреждению иммунологического конфликта между организмом матери и плода при продукции блокирующих изоантитенов. Рассмотрены принципы развития толерантности животных при различных формах ареактивности для обеспечения полноценной многоплодной беременности. Установлена значимость индукции и динамики развития толерантности для иммуноадаптивного периода у потомства продуктивных животных. Изучены особенности адаптивного потенциала новорожденного организма и его влияние на жизнеспособность в ранний постнатальный период развития.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследования

Исследования проводились в период с 2016 по 2021 г. на базе свиноводческих предприятий и крестьянско-фермерских хозяйств Ставропольского края (СПК «Восток», СХП «Курский», КФХ «Великородный»). Методика исследований (рисунок 1) 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 факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». Экспериментальными животными служили свиноматки, хряки, поросята крупной белой породы, принадлежащие на праве собственности СПК «Восток», СХП «Курский», КФХ «Великородный» (Ставропольский край, Курской район, п. Балтийский), в количестве 1096 животных.

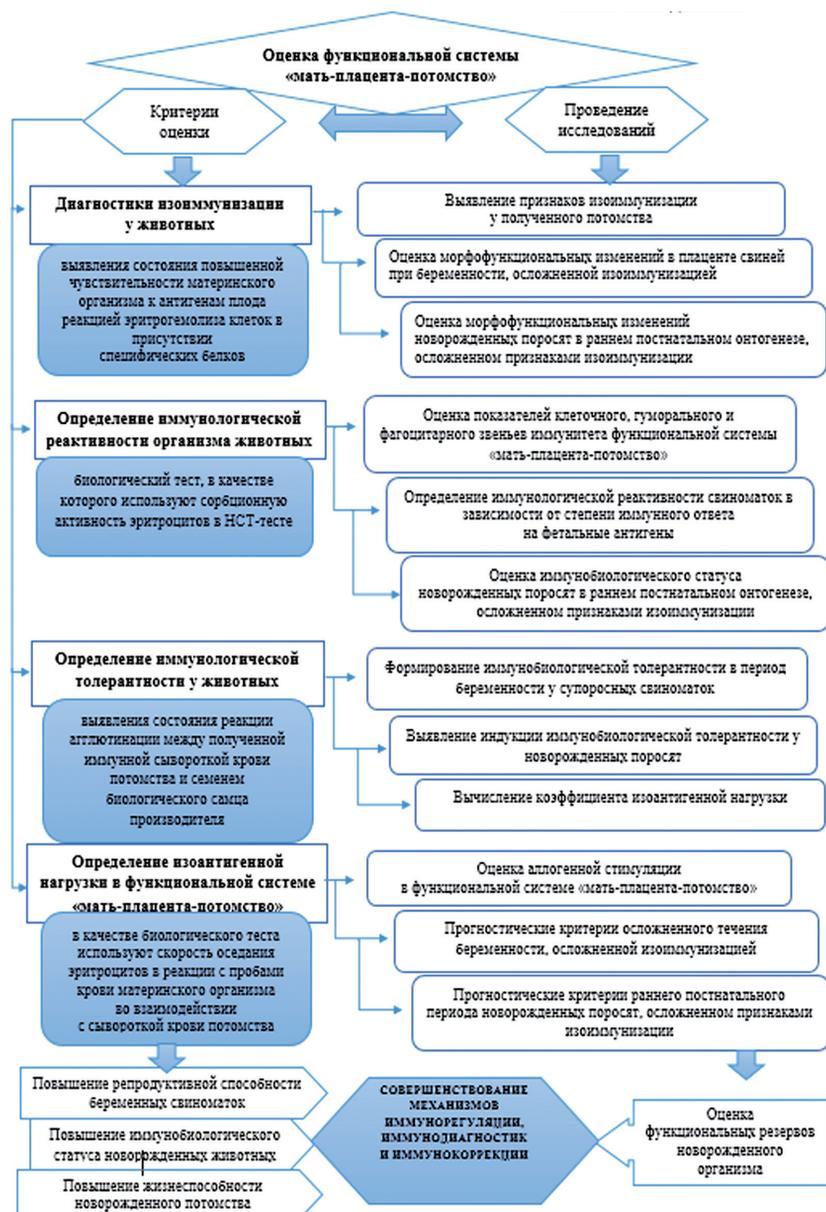


Рисунок 1 – Схема исследования

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.

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 неразрушенными.

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

$$\text{ПАА} = \frac{(\text{Л контроль} - \text{Л опыт})}{(\text{Л контроль})} \cdot 100 \%, \quad (1)$$

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 проводили с интервалом от 30 мин до 3 ч. 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 суточных свиноматок (за 30 суток до предполагаемого опроса) трех групп, четвертая 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 пере-

мешивали, 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 против болезни Ауэски) во время беременности, а контрольная группа особей оставалась на тривиальной (принятой в хозяйстве) антигенной нагрузке.

Адсорбирующую способность проводили при инкубации отмытых эритроцитов (три раза) в растворе Хэнкса (80 % раствор смеси). Инкубацию проводили с интервалом от 30 мин до 3 ч. 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.

Диагностика изоиммунизации животных проводилась 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 супоросные свиноматки крупной белой породы (вторая половина беременности за 30 суток до предполагаемого опроса) с кратностью опросов более двух. 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.

Иньекцию 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 эритроглолиза клеток в присутствии специфических белков новорожденного организма.

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 ч при температуре 37,5 °С. Кислая среда раствора ацидин–пепсина создает условия для осмотического разрушения эритроцитов исследуемой крови.

Разрушение поврежденных эритроцитов осуществляется ферментом пепсином, который в кислой среде действует только на поврежденные клетки и не действует на неповрежденные. После инкубирования содержимым обеих пробирок поочередно заполняют камеру Горяева и подсчитывают эритроциты в 5 больших квадратах, разделенных на 16 малых (т. е. в 80 малых квадратах) по общепринятой тривиальной методике для подсчета эритроцитов.

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

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

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 со 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 пробах делают разбавления сыворотки физиологическим раствором в кратных соотношениях от 1:50 до 1:500, в одинадцати

той, контрольной, физиологический раствор. Затем сыворотку семенной жидкости центрифугируют с последующей трехкратной промывкой 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 °С на 30 мин, после чего производят четкую 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 определяют объем 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-балльной шкале. Подвижность спермиев не должна быть менее 8 баллов. Через 5 мин после смешивания определяют подвижность спермиев вновь. Контроль проводят по сыворотке, смешанной 1:1 с физиологическим раствором. Снижение активности спермиев на один балл относительно контроля соответствует первой степени изоиммунизации, на два балла – второй степени, на три балла – третьей степени и так далее по пяти степеням. Пятая степень изоиммунизации у потомства – очень тяжелая, с вероятным летальным исходом.

При определении изоантгенной 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 сведения о контрольных пробах крови матери и новорожденного животного с физиологическим раствором, после чего вычисляют коэффициент прогноза

$$K = \frac{(COЭo1 - COЭк1)}{(COЭ o1)} \cdot 100, \quad (3)$$

где K – критерий изоантгенной 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, 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 полученных от них 180 поросят для оценки антигенного влияния на иммунную систему новорож-

денного 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 течение одной минуты перемешивают концом пипетки и набирают пипетку (сыворотка крови новорожденного + кровь материнского организма) до метки К, устанавливая в штатив под 45°. 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 мин перемешивают концом пипетки и набирают пипетку (сыворотка крови материнского организма + кровь новорожденного организма) до метки К, устанавливая в штатив под 45°. В качестве контроля используют постановку реакции, в которой вместо крови новорожденного используют изотонический физиологический раствор NaCl 0,9 %.

Учет реакции проводят через 1 ч, 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 ч.

Для определения изоантигенной нагрузки в функциональной системе «мать – плод – новорожденный» вычисляют коэффициент изоантигенной нагрузки

$$K1 = \frac{(COЭo1 - COЭк1)}{COЭo1} \cdot 100 \%;$$

$$K2 = \frac{(COЭo2 - COЭк2)}{COЭo2} \cdot 100 \%, \quad (4)$$

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 находился 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) су-поросности.

Техническое исполнение: результат осуществляется за счет внутримышечно-го введения высокоактивного неспецифического иммуномодулятора широкого спектра действия «Пирогенала» беременным животным в дозе 0,08 мкг/кг массы тела за 60 дней до опороса – 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.

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 рекомендациям, изложенным 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 фотозлектроколориметрическим 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 качестве объекта фагоцитоза использовали кишечную палочку указанного штамма). При оценке лизоцимной активности сыворотки крови в качестве индикатора активности лизоцима служила культура *Micrococcus lysodeikticus*-2665.

Мониторинг количественного состава Т- и В-клеточных популяций основан главным образом на принципе розеткообразования разных типов лимфоцитов.

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.

2.2. Результаты исследований и их анализ

2.2.1. Современный взгляд на проблему инактивации в функциональной системе «мать – плацента – потомство»

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 – 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 три группы особей (общее количество животных составило 126 свиноматок).

В первой группе проводили инъекцию вирус-вакциной однократно в дозе $2,0 \times 10^8$ ЛКД₅₀. Второй группе вирус-вакцину вводили 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 вирус-вакцины (таблица 1). При этом трехкратное введение обеспечивает достоверно увеличение установленных показателей в отношении контроля.

Таблица 1 – Определение кратности введения антигенов

Группа животных	ПМТМ, %	Фагоцитарный показатель, %	Фагоцитарное число
Опытная 1-я группа	28,6±0,37	26,1±0,34	5,7±0,09
Опытная 2-я 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*
*P ≤ 0,05			

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

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, о 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 (таблица 2).

Таблица 2 – Определение эффекта ареактивности у животных

Группа животных	Средний титр вируснейтрализующих антител (в показателях обратных разведений)	Средний титр гемагглютинирующих антител (в показателях обратных разведений)	Показатель макрофагальной трансформации мононуклеаров, %
Опытная 1-я группа	161,0±1,61	194,1±0,85*	26,5±0,28
Опытная 2-я 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
*P ≤ 0,05 – достоверность различий с контрольной группой			

Результаты исследований прекоостральных сывороток крови поросят представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Специфическая реактивность поросят в зависимости от иммунного фона свиноматок

Серологические реакции, использованные для оценки иммунного фона свиноматок	Количество реагирующих свиноматок	Количество полученных поросят	Изоантитела новорожденных			
			Выявлено		Отсутствовали	
			гол.	%	гол.	%
РА	18	172	22	12,8	150	87,2
РСК	15	145	28	19,3	117	80,7
*P ≤ 0,05 – достоверность различий с контрольной группой						

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

Приведенные результаты исследования 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).

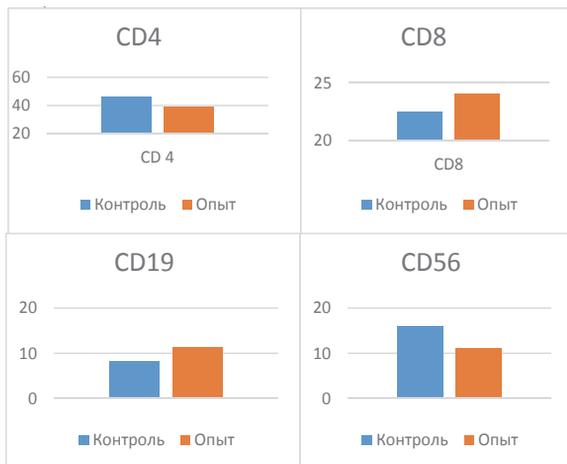


Рисунок 2 – Изменения маркеров лимфоцитов у исследуемых животных

Вместе с этим показатели определения рецепторов лимфоцитов у опытной группы с повышенной антигенной нагрузкой характеризовались тенденцией к уменьшению содержания CD3+ ($44,8 \pm 0,87$), CD4+ ($26,3 \pm 0,61$), CD8+ ($21,8 \pm 0,40$), CD16+ лимфоцитов ($9,2 \pm 0,17$ %) ($P < 0,001$) и повышению уровня CD19+ лимфоцитов ($28,2 \pm 0,09$ %, $P < 0,05$) по отношению к показателям особей из группы контроля. Выявлено достоверное уменьшение иммунорегуляторного

индекса в 1,4 раза относительно контроля ($1,36 \pm 0,14$ и $1,84 \pm 0,15$ ед. соответственно, $P < 0,001$). У животных со средней антигенной нагрузкой также наблюдалось снижение относительного содержания CD3+ ($59,1 \pm 0,15$ %), CD4+ ($32,3 \pm 0,24$ %) ($P < 0,001$), CD16+ лимфоцитов ($10,4 \pm 0,11$ %, $P < 0,05$) и повышение уровня CD19+ лимфоцитов ($22,8 \pm 0,83$ %) по отношению к данным контрольной группы.

Делаем вывод, что отсутствие титров комплементсвязывающих изоантител у потомства свидетельствует о полноценном развитии фетоплацентарного комплекса во время беременности. Низкие титры и длительно персистирующие изоантитела являются причинным фактором нарушения условий плацентации и проявления эффекта изоиммунизации у плода.

2.2.1.1. Оценка иммунобиологического состояния беременных свиноматок с признаками изоиммунизации

Сопоставление результатов исследований биохимических показателей крови в течение 30 дней беременности у свиноматок опытных групп (таблица 4) 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 %, у животных второй опытной группы на 40,4 и 43,8 %. Вместе с этим установлено достоверное снижение щелочной фосфатазы в относительных показателях у животных первой опытной группы до $42,7 \pm 0,27$, у второй группы – $37,2 \pm 0,40$ Ед/л по отношению к аналогичным показателям свиноматок контрольной группы.

Таблица 4 – Биохимические показатели крови у беременных свиноматок (30 дней супоросности)

Показатель	Группа животных		
	Контрольная группа ($n = 42$)	Опытная 1-я группа ($n = 42$)	Опытная 2-я группа ($n = 42$)
Общий белок, г/л	$81,8 \pm 0,33$	$76,2 \pm 0,95$	$80,3 \pm 0,41$
Мочевина, 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	$24,9 \pm 1,45$	$25,8 \pm 0,68$	$22,2 \pm 0,10$
* $P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой			

При анализе полученных показателей на 60-й день супоросности отмечается достоверное повышение уровня аспаргатаминотрансферазы (АсТ) на 44,1 % у животных первой группы и на 54,6 % – у животных второй группы. Выявлено достоверное увеличение показателя аланинаминотрансферазы (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 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 $6,03 \pm 0,35$ Ед/л.

Так, среди свиноматок второй опытной группы отмечалось максимальное снижение количества 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 аспаргатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ) имела существенные различия на 90-й день супоросности.

Из полученных данных следует, что активность АсТ в первой опытной группе возростала 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.

Проведенные исследования гематологических показателей у свиноматок опытных и контрольной групп на 30-й день супоросности существенных различий не имели. Во всех группах животных количество лейкоцитов и эритроцитов в крови соответствовало нормативным показателям для здоровых животных. Однако в крови первой опытной группы лейкоцитов было больше на 11,8, а во второй на 7,3 % в отношении контрольной группы. Отмечено также снижение эритроцитов в абсолютных величинах у первой опытной группы до $6,09 \pm 0,26 \times 10^{12}/л$ и у второй опытной группы до $6,34 \pm 0,61 \times 10^{12}/л$.

На 60-й день установлена достоверная разница в количестве эритроцитов и содержании гемоглобина у опытных свиноматок со второй группы по отношению к контролю. 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 %.

Исследование гематологических показателей у беременных свиноматок на 90-й день беременности (таблица 5) свидетельствует о том, что состояние иммунизации влияет на определенные показатели морфологической оценки крови.

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 $4,40 \pm 0,22 \times 10^9/\text{л}$ и на 48,3 %. Вторая группа свиноматок уступала по данным показателям животным контрольной группы на $3,30 \pm 0,14 \times 10^9/\text{л}$ и по относительному процентному содержанию на 32,4 % соответственно (таблица 5).

Таблица 5 – Гематологические показатели крови у беременных свиноматок (90 дней супоросности)

Показатель	Группа животных		
	Контрольная группа ($n = 42$)	Опытная 1-я группа ($n = 42$)	Опытная 2-я группа ($n = 42$)
Лейкоциты (WBC), $10^9/\text{л}$	$24,3 \pm 0,47$	$18,9 \pm 0,23$	$17,5 \pm 0,85^*$
Гранулоциты (GRA), %	$32,2 \pm 0,06$	$33,5 \pm 0,93$	$31,7 \pm 0,28$
Лимфоциты (LYM), %	$13,5 \pm 0,87$	$9,1 \pm 0,11^*$	$10,2 \pm 0,52$
Моноциты (MON), %	$2,5 \pm 0,01$	$2,4 \pm 0,31$	$3,2 \pm 0,16$
Гранулоциты (GRA), $10^9/\text{л}$	$6,3 \pm 0,06$	$7,1 \pm 0,04$	$7,6 \pm 0,59$
Эритроциты (RBC), $10^{12}/\text{л}$	$7,08 \pm 0,35$	$6,59 \pm 0,05$	$7,22 \pm 0,71$
Гемоглобин (HGM), г/л	$134,0 \pm 0,54$	$126,4 \pm 1,61$	$122,0 \pm 1,21$
Гематокрит (HCT), %	$0,433 \pm 0,07$	$0,419 \pm 0,01$	$0,402 \pm 0,04$
* $P \leq 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой			

После родов у свиноматок наблюдались достоверные различия по количеству лимфоцитов. Общее количество лимфоцитов у животных первой опытной группы составляло $14,6 \pm 0,36$, у свиноматок второй опытной группы – $12,3 \pm 0,28$, что было меньше по сравнению с этим показателем у животных 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.

Таким образом, состояние изоиммунизации у свиноматок негативно отражается на уровне гематологических показателей.

2.2.1.2. Закономерности формирования иммунологической реактивности у потомства, полученного от матерей с признаками изоиммунизации

Нами разработан способ оценки иммунологической реактивности на конкретных примерах в исследуемых группах животных. Основное его значение направлено на определение иммунологической реактивности организма животных для более релевантной оценки клеточно-опосредованной иммунологической реактивности по реакции НСТ-теста крови материнского организма в присутствии сыворотки крови новорожденного животного. Полученные результаты свидетельствуют о значительной вариабельности в зависимости от групп животных, использованных при исследовании (таблица 6). Сорбционная активность эритроцитов у контрольной группы особей характеризуется незначительным падением биологиче-

ской 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 6 – Определение иммунологической реактивности организма животных, %

Исследуемый параметр	Контрольная группа (n = 42)	Опытная 1-я группа (n = 42)	Опытная 2-я 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*
*P ≤ 0,05 – достоверность различий с контрольной группой			

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 7.

Таблица 7 – Показатели иммунологической реактивности поросят, log x

Показатель	Группа животных		
	Контрольная группа (n = 42)	Опытная 1-я группа (n = 42)	Опытная 2-я группа (n = 42)
Индекс реактивности	0,77 ±0,06	0,60±0,06	0,52±0,06
Титр изоантител	0,18 ±0,03	1,02±0,12*	1,86±0,03*
*P ≤ 0,05 – достоверность различий с контрольной группой			

Как видно из таблицы 7, различия по показателю иммунологической реактивности опытных и контрольной групп были статистически достоверны. В опытной группе индекс иммунологической реактивности не превышал значения 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 (таблица 8), что группы животных значительно отличались между собой по этому показателю.

У животных, ослабленных воздействием процессов изоиммунизации, индекс иммунологической реактивности находился ниже средних значений, характерных для общей группы, и составил 0,20±0,02. 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.

Таблица 8 – Особенности иммунологической реактивности

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

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

Установлено, что средний титр изоантител в первой опытной группе составил 1,505±0,055, во второй опытной группе – 1,649±0,066, а по контрольной – 0,294±0,098. Коэффициент вариации (Cv) равен 29,0 %, что указывает на большую изменчивость признака в зависимости от степени изоиммунизации. Высоко отреагировали увеличением титра изоантител 25 % группы.

2.2.2. Иммунобиологические аспекты развития перинатальной патологии при изоиммунизации

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 – с низкой. Исследования проводились на первом, третьем, шестом месяце постнатального развития.

Из полученных данных (таблица 9) следует что лизоцимная активность у поросят анализируемых групп существенно отличалась. В первый месяц у поросят первой опытной группы она была равна 30,5±0,08, у второй – 32,1±0,12, у контрольной – 45,4±0,43 %.

Таблица 9 – Возрастные изменения лизоцимной активности сыворотки крови поросят, %

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

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 одномесячных 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 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 $24,3 \pm 0,14$ %.

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 10) 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 $33,9 \pm 0,21$ %.

Таблица 10 – Возрастные изменения фагоцитарной активности нейтрофилов, %

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

На третьем месяце жизни показатель фагоцитарной активности у поросят первой опытной группы составил $34,1 \pm 0,26$ %. 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 $28,1 \pm 0,17$ %, 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 $37,6 \pm 0,19$ и $31,3 \pm 0,32$ %.

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

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.

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

2.2.3. Оценка морфофункциональных изменений в плаценте свиней при беременности, осложненной изоиммунизацией

При изучении гистологической структуры строения плаценты в опытных группах в отношении контрольных выявлены некротические изменения с признаками воспаления (рисунок 3) при сниженной васкуляризации. Изменения установлены также в соединительнотканых волокнах со значительным отсутствием капилляров, разрыхлением стромы (атрофия синцитиотрофобласта), низкой активностью эпителиального слоя.

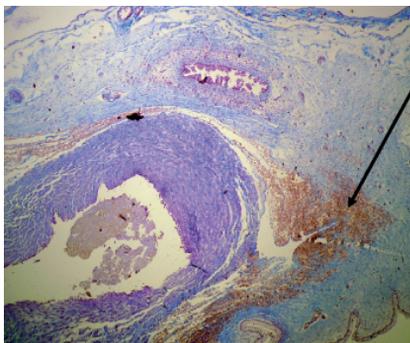


Рисунок 3 – Разрыхление стромальной основы, очаговая атрофия. Обширный гемоэкстравазат в стенке хориона. Хорион однойцевого плода. Свинья № 4 (окраска по Маллори. Ув.×40)

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 (рисунок 4).

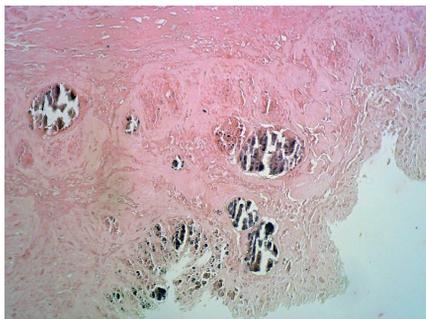


Рисунок 4 – Поствоспалительные лимфоидно-лимфоцитарные инфильтраты. Ишемический инфаркт хориона. Хорион однойцевого плода. Свинья № 4 (окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×200)

Вышеуказанные патологические изменения относятся к патологическим процессам альтеративного характера, указывающим на признаки нарушения морфофункционального 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 расценен как поствоспалительный процесс (рисунок 5).

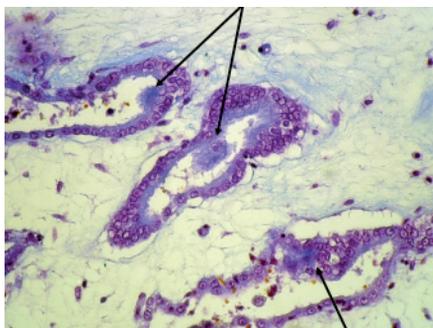


Рисунок 5 – Инволюционный (поствоспалительный) процесс. Гиперплазия синцитиальных почек. Хорион однойцевого плода. Свинья № 1 (окраска по Маллори. Ув. × 400)

В опытной группе свиноматок установлено значительное отложение фибриноида (фибриноидных масс), указывающего на инволюцию тканей плаценты. Преимущественное расположение – около крупных артерий и в хоримальной пластинке с уплотнением стенки сосудов в межворсинчатом пространстве (рисунок 6).

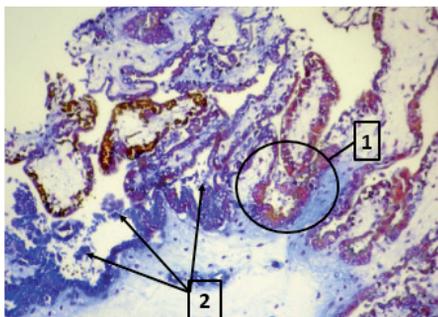


Рисунок 6 – Гиперплазия синцитиальных почек (1).
Отложение фибрина в межворсинчатом пространстве (2).
Хорион однойцевого плода. Свинья № 9 (окраска по Маллори. Ув. × 200)

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

При обобщении результатов исследования морфофункционального состояния плаценты 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.

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

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 по-

росят. 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. В мозговом веществе преобладают одноклеточные тимусные тельца и мелкие тельца Гассала с незначительными очагами обызвествления в центральных участках. Клетки тимусных телец содержат гликозамингликаны и жировые компоненты (рисунок 7).

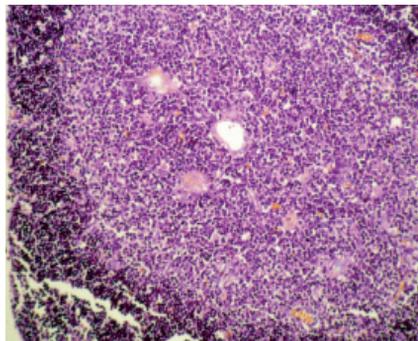


Рисунок 7 – Увеличение коркового вещества долек тимуса поросенка опытной группы (мертворожденная самочка) (окраска по Маллори. Ув. $\times 200$)

Тимусные тельца резко увеличены в объеме, с признаками гиалиноза, многие кистозно изменены и представляются однокамерными или многокамерными полостями, выстланными многослойным эпителием с известковым содержанием (рисунок 8), продуктами распада клеточных элементов, скоплениями нейтрофилов, лаброцитов, лимфоцитов, эозинофилов и макрофагов.

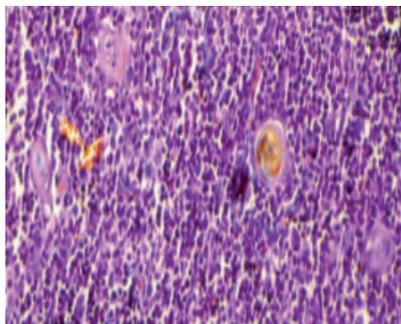


Рисунок 8 – Проллиферативные изменения. Гиалиноз тимусных телец. Однойцевый плод (мертворожденная самочка) (окраска по Маллори. Ув. $\times 200$)

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 гипопифизе, являются ближайшей причиной смерти новорожденных и снижения выживаемости.

2.2.5. Разработка алгоритма повышения жизнеспособности новорожденных животных

Нами разработан алгоритм повышения жизнеспособности новорожденных поросят, полученных от свиноматок, подвергшихся процессам изоиммунизации в период беременности. Структура предлагаемого включает ниже перечисленные диагностические методы.

2.2.5.1. Диагностика изоиммунизации у животных

Оценка изоиммунного эффекта в биологической системе «мать – плацента – потомство» осуществляется за счет выявления состояния повышенной чувствительности материнского организма к антигенам плода реакцией эритрогемолита 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.

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

$$\text{ПАЭ} = \frac{(\text{Э контроль} - \text{Э опыт})}{(\text{Э контроль})} \cdot 100 \%, \quad (5)$$

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.

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.

У поросят контрольных и опытных групп в суточном возрасте исследовали кровь по показателям естественной резистентности. В течение 9 месяцев учитывалась заболеваемость и летальность животных.

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 мм³ 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 мм³ 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 имела 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 превосходят на 52,4 и 75,6 % контрольную группу. Причем сохранность в контрольной группе составила 100, заболеваемость – 19,7 %. В то время как у особей из опытных групп сохранность была 70,2, заболеваемость – 44,8, а смертность – 29,8 %.

Таким образом, по показателям естественной резистентности поросята, 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.

2.2.5.2. Определение 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 мин до 3 ч. Показатели адсорбционной способности устанавливали по степени угнетения НСТ-теста компетентными клетками (нейтрофилами).

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.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у опытных групп животных выявлено достоверно повышенное подавление НСТ-активности (таблица 11) в среднем до 27,0 и сорбционной активности эритроцитов в НСТ-тесте до 62,1, при этом наиболее активное подавление иммуносупрессорных свойств крови установлено при биологической активности в НСТ-тесте до 40 %, а повышение связано с пределом рецепторной емкости данных клеток.

Таблица 11 – Показатели адсорбционной способности по степени угнетения НСТ-теста, %

Исследуемый параметр	Контрольная группа (n = 320)	Опытная 1-я группа (n = 320)	Опытная 2-я 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
*P ≤ 0,05 – достоверность различий с контрольной группой			

2.2.5.3. Определение изоантгенной нагрузки в функциональной системе «мать – плод – новорожденный»

В период беременности со стороны материнского организма и со стороны плода устанавливается иммунобиологический контроль за антигенным постоянством в функциональной системе «мать – плод». При возникающих нарушениях функционального состояния данной системы происходит нарушение иммунологического равновесия, что влечет за собой структурные нарушения иммунной системы матери и плода.

Для определения изоантгенной нагрузки в функциональной системе «мать – плод – новорожденный» вычисляли коэффициент изоантгенной нагрузки

$$K1 = \frac{(COЭo1 - COЭк1)}{COЭo1} \cdot 100;$$

$$K2 = \frac{(COЭo2 - COЭк2)}{COЭo2} \cdot 100, \quad (6)$$

где K1 и K2 – коэффициенты изоантгенной 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 изоантгенной 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 изоантгенной нагрузки у жизнеспособных новорожденных находился в пределах 26–29.

У 20 свиноматок (низкая степень изоантгенной нагрузки) после родов и у полученных от них 180 поросят установлены незначительное изменение скорости оседания эритроцитов, которое в опыте составило $2,6 \pm 0,18$, а в контроле $1,7 \pm 0,12$ мм/час.

У 10 свиноматок со средней антигенной нагрузкой изоантгенную 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 $7,76 \pm 0,18$, 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 в опыте 15,3 и 13,9, а в контроле соответственно 6,4 и 5,2 мм/ч. Коэффициент изоантгенной нагрузки в функциональной системе «мать – плод – новорожденный» у нежизнеспособных поросят был высоким и находился в пределах 57–69.

2.2.5.4. Тестирование и определение уровня иммунологической толерантности у животных

Тестирование и определение уровня иммунологической толерантности проводили 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.

Смешивание сыворотки крови новорожденного животного производили в пропорции 1:1 с нативной спермой самца-производителя, подвижность спермиев которой предварительно оценена по 10-балльной шкале, а по снижению активности спермиев на один балл относительно контроля новорожденные животные были отнесены к первой степени ареактивности, на два балла – ко второй степени, на три балла – к третьей степени и так далее по пяти степеням (пятая степень ареактивности у потомства была очень тяжелая, с летальным исходом). В нашем опыте подвижность спермиев составила девять 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 мин после смешивания определяли повторно подвижность спермиев. Контроль проводили по сыворотке, смешанной 1:1 с физиологическим раствором.

Снижение активности спермиев на один балл относительно контроля соответствует первой степени ареактивности, на два балла – второй степени, на три балла – третьей степени и так далее по пяти степеням. Пятая степень ареактивности у потомства – очень тяжелая, с летальным исходом.

Полученные данные позволяют проводить пренатальный скрининг изоиммунизационных эффектов у потомства за счет выявления состояния реакции агглю-

тинации между полученной иммунной сывороткой крови потомства и семенем биологического самца-производителя с формированием группы животных с признаками иммунологической толерантности.

2.2.5.5. Повышение репродуктивной способности беременных свиноматок крупной белой породы и жизнеспособности новорожденного потомства

Для установления положительного эффекта применения препарата «Пирогенал» были сформированы три группы супоросных свиноматок крупной белой породы по 10 голов – две опытные 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 в дозе 0,08 мкг/кг ж. м. за 60 дней до опороса каждый день (5 инъекций), за 40 дней до родов с интервалом один день (5 инъекций), за 20 дней до опороса с интервалом два дня (5 инъекций) общим курсом 15 инъекций. Третья группа служила контролем, которой не применяли вышеуказанный препарат. Продолжительность применения составила 30 суток.

Установлено, что при инъекции «Пирогенала» опытными свиноматкам со второй половины беременности у них значительно повысились показатели иммунологического статуса (таблица 12).

Таблица 12 – Иммунологические показатели свиноматок опытных и контрольной групп

Показатель	Срок исследования			
	60-й день (n = 126)	90-й день		
		Контрольная группа (n = 42)	Опытная 1-я группа (n = 42)	Опытная 2-я группа (n = 42)
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,91±0,04*	6,57±0,16	7,28±0,11	8,87±0,14*
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
*P ≤ 0,05 – достоверность различий с контрольной группой				

Однако применение предложенной дозировки и кратности введения препарата для опытных групп нашло свои различия в исследуемых показателях. Так, на 90-й день беременности у опытных групп свиноматок по сравнению с 60-м днем стабилизировались иммунобиологические показатели от первоначально состояния. Однако у контрольной группы вышеприведенные значения не претерпели значительных изменений от исходного иммунодефицитного состояния и составляли: количество лейкоцитов $7,28 \pm 0,11 \times 10^9/\text{л}$ у первой опытной группы, $8,87 \pm 0,14 \times 10^9/\text{л}$ – у второй опытной группы, однако в контрольной группе показатель не превышал $6,57 \pm 0,16 \times 10^9/\text{л}$. У свиноматок опытных групп содержание Т-лимфоцитов превышало их содержание у свиноматок контрольных групп на 14,9 и 27,5 %, а по В-лимфоцитам – на 23,8 и 24,5 %.

Некоторые из показателей естественной резистентности у экспериментальных групп также составляют достоверно высокие значения, а именно: содержание эритроцитов на 90-й день беременности в первой группе было $5,02 \pm 0,11 \times 10^{12}/\text{л}$, во второй – $5,48 \pm 0,22 \times 10^{12}/\text{л}$, содержание гемоглобина – $81,3 \pm 0,07$ и $84,1 \pm 0,19$ г/л, ФАН – $32,64 \pm 0,16$ и $47,22 \pm 0,88$ %, БАСК – $42,64 \pm 0,16$ и $47,22 \pm 0,88$ %. Концентрация основных классов иммуноглобулинов на 90-й день беременности у первой и второй групп была в нарастающей степени и составляла по Ig A – $1,64 \pm 0,01$ и $1,84 \pm 0,06$, Ig G – $16,84 \pm 0,12$ и $19,78 \pm 0,15$ г/л соответственно.

Таким образом, изменение по становлению основных иммунобиологических и морфофункциональных показателей в неонатальный период дает основания заявлять о высоком адаптивном потенциале новорожденных поросят из опытной группы.

2.2.5.6. Оценка функциональных резервов новорожденных поросят

Оценка функциональных резервов новорожденного организма включала исследование крови с проведением биологического теста, в качестве которого использовали реакцию лейкоцитоллиза крови материнского организма с присутствием сыворотки крови новорожденного животного. Для вычисления процента лизированных лейкоцитов материнского животного под воздействием сыворотки крови новорожденного животного используют формулу

$$\text{ПАА} = \frac{(\text{Л контроль} - \text{Л опыт})}{(\text{Л контроль})} \cdot 100 \%, \quad (7)$$

где ПАА – показатель аллергической альтерации лейкоцитов;

Л – количество лейкоцитов.

В первые дни после опороса у 18 голов свиноматок и соответственно у полученных поросят 170 голов были взяты пробы крови и определены показатели аллергической альтерации лейкоцитов. Результаты изложены в таблице 13.

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 фекальным антигенам (показатель аллергической альтерации лейкоцитов 10 % и более), были менее жизнеспособными.

Таблица 13 – Показатель аллергической альтерации лейкоцитов

Группа животных	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
*P ≤ 0,05 – достоверность различий с контрольной группой				

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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 заканчивается абортom, 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.

Все полученные экспериментальные данные основаны на принципе целостности и структурности иммунологического статуса, который позволил исследовать механизм иммунитета и его регуляцию на различных уровнях животного 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.

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 сенсибилизированных 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. Установлено 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, 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 свиной 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 преколюстральных сыворотках с высоким титром позволяет проводить диагностику изоиммунизации потомства свиной.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. При проведении профилактических и противозoonотических мероприятий для оценки иммунобиологических взаимоотношений в функциональной системе «мать – плацента – потомство» одновременно проводить иммунологический мониторинг, используя для этих целей высокоэффективный – «Способ определения иммунологической реактивности организма животных» (патент на изобретение № 2737336 от 20.05.2020).

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).

3. Оценку адаптивного потенциала животных в условиях промышленного свиноводства следует проводить простыми и достаточно эффективными методами раннего определения степени жизнеспособности и потенциальных возможностей (функцио-

нальных резервов) в отношении их дальнейшего роста и развития – «Способ оценки функциональных резервов новорожденного организма» (патент на изобретение № 2685273 от 17.04.2019), «Способ определения жизнеспособности новорожденных животных» (Евразийский патент на изобретение № 025833 от 28.02.2017).

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), «Способ повышения иммунобиологического статуса новорожденных поросят» (патент на изобретение № 2614733 от 28.04.2017).

5. Применять разработанные программы мониторинга и прогнозирования жизнеспособности потомства сельскохозяйственных животных (свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ № 2018660665 от 28.08.2018) и оценки внутриутробного инфицирования у продуктивных животных (свидетельство о государственной регистрации программы ЭВМ № 2018665662 от 06.12.2018) для снижения уровня пренатальных потерь у сельскохозяйственных животных на ранних этапах постнатального развития.

6. 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

Новые перспективы открываются для установления принципов и механизмов, обеспечивающих, как правило, бесконфликтное формирование плода в организме матери с объяснением принципов аллогенной стимуляции при многоплодной беременности. Полученные результаты сформировали концепцию для дальнейшего изучения фундаментальных основ ауторегуляции иммунного ответа в функциональной системе «мать – плацента – потомство».

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в ведущих научных журналах, рекомендованных

Министерством науки и высшего образования РФ

1. Дмитриев, А. Ф. Разработка способа коррекции иммунобиологического статуса новорожденных животных / А. Ф. Дмитриев, А. В. Агарков // Ветеринария Кубани. – 2017. – № 6. – С. 15–17.
2. 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.
3. Эффективность применения синбиотического комплекса для коррекции физиологического статуса поросят-гипотрофиков / Е. И. Раствоваров, В. С. Скрипкин, А. Н. Квочко, А. В. Агарков, В. Ф. Филенко // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 1. – С. 166–168.

4. Взаимосвязь конституциональных типов свиней с мясной продуктивностью / Е. И. Растоваров, В. С. Скрипкин, А. Н. Квочко, **А. В. Агарков**, В. Ф. Филленко // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2019. – № 2 (76). – С. 239–242.
5. 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.
6. Формирование специфической иммунологической реактивности 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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 // Иппология и ветеринария. – 2021. – № 1(39). – С. 49–55.
15. 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.

Публикации в изданиях, индексируемых в Scopus, Web of Science

16. 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. Tsygansky // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016. – Vol. 7 (2). – P. 1403–1408 (Scopus-Web of Science).
17. The history of the development of hyper immunes 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 (Scopus-Web of Science).
18. 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 (Scopus).
19. 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 (Web of Science).
20. 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 (Scopus-Web of Science).
21. 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 (Scopus).
22. 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 (Web of Science).
23. 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 (Scopus).
24. 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 (Scopus).
25. 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 (Scopus).
26. 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 (Scopus).

27. Specific immunological areactivity 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. – А. 06002 (Scopus).

Патенты на изобретение

28. 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».
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. 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.
36. 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.
37. Патент № 2750787 Российская Федерация, МПК G 01N 33/53, A 01K 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.
38. Патент № 2752766 Российская Федерация, МПК G 01N 33/53. Способ определения иммунологической толерантности у животных : № 2020137035 ; заявл. 10.11.2020 ; опубл. 03.08.2021 / Дмитриев А. Ф., Агарков А. В., Агарков Н. В. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». – Бюл. № 22. – 18 с.

Свидетельство на программы ЭВМ

39. 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.
40. 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.

Монография

41. **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.

Работы, опубликованные в сборниках научных трудов, материалах конференций и других научно-практических изданиях

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. 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. Оробец. – Ставрополь : Цех оперативной полиграфии ВНИИОК, 2019. – 183 с.
 44. **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.
 45. **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.
 46. **Агарков, А. В.** Клинико-инструментальные исследования животных и птицы при незаразной патологии : учебное пособие / **А. В. Агарков**, Б. М. Багамаев, Э. В. Горчаков. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2020. – 88 с.
 47. 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.

Методические рекомендации

48. 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.
49. 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. Оробец, А. Р. Онищенко. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2021. – 115 с.
50. Иммунологические принципы оценки и прогнозирования жизнеспособности новорожденных поросят / В. И. Дорожкин, Б. В. Уша, **А. В. Агарков**, А. Ф., Дмитриев, В. С. Скрипкин. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2021. – 37 с.

Подписано в печать 04.08.2021. Формат 60x84 ¹/₁₆. Гарнитура «Таймс». Бумага офсетная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 2,0. Тираж 120. Заказ № 221.

Отпечатано в типографии издательско-полиграфического комплекса СтГАУ «АГРУС», 355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 15.

