

**ІМУНОГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА СВИНЕЙ УКРАЇНСЬКИХ ПОРІД,
ПРИДАТНИХ ДЛЯ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦІЇ****Т. М. РИК***Львівська медична академія імені Андрея Крупинського*

E-mail: tanya.ryk.77@gmail.com

<https://doi.org/10.31548/dopovidi2022.01.002>

Анотація. Використання аборигенних свійських порід свиней України в якості лабораторних тварин, призначених для біомедичних цілей, має велике значення.

Метою дослідження було визначення імуногенетичних особливостей свиней двох українських порід, як за ознаками їх кращої адаптивності, резистентності, репродукції, так і генетичної гомогенності, наявності алелів, що визначають потенційну придатність для використання у ксенотрансплантації.

Дослідження здійснені на вибірках свиней миргородської породи з Державного підприємства «Дослідне господарство імені Декабристів» Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН (ДП «ДГ імені Декабристів Інституту свинарства і АПВ НААН», Полтавська область) (n=80), української м'ясної, Державне підприємство дослідне господарство «Гонтарівка» Вовчанського р-ну Харківської області (n=48). Імуногенетичні дослідження здійснені у лабораторії генетики Інституту тваринництва НААН України та залученням банку імунодіагностикумів, які відповідають міжнародним вимогам.

Виявлено 24 особини миргородської та 13 особин української м'ясної породи із наявністю генотипів $A^{-/-}$ та $E^{bdgkmp/bdgkmp}$, що визначають придатність тварин до ксенотрансплантації. Свині української м'ясної та миргородської порід мали найбільші відмінності у розподілі алелів за B, E, F, K, L системами груп крові ($p < 0,05$).

Відсутність тісного зчеплення груп крові з ключовими генами адаптивності свиней, за умов направленої селекції сприятиме створенню ліній свиней з високими адаптивними якостями для біомедичних цілей і потреб ксенотрансплантації.

Ключові слова: еритроцитарний антиген, поліморфізм, алель, свині, імуногенетичний профіль, ксенотрансплантація

Актуальність. Одним з перспективних напрямків трансплантології останнім часом вважається ксенотрансплантація - пересадка органів і тканин людині від тварини іншого біологічного виду.

Найбільш імунологічно, фізіологічно та генетично близькими до людині є вищі примати і свині. Перевагами свиней для названої цілі, у порівнянні з приматами, є її широкое розповсюдження, безпроблемне

Рик Т. М.

виращування і утримання, схожість свинячих органів з людськими за розмірами і фізіологією, а також фінансові та етичні питання, що пов'язані з вилученням донорських органів [1, 2]. В останні роки в багатьох країнах світу намітилася певна тенденція до швидкого розширення масштабів використання свиней в якості лабораторних тварин.

Через дефіцит лабораторних дрібних свиней часто доводиться вдаватися до використання звичайних домашніх свиней різних порід. Окрім цього, величина органів і структура тканин свійських свиней, їх функціональні особливості, максимально наближені до анатомо-фізіологічних характеристик людини.

Наразі в Україні не існує жодної породи свиней, яка б використовувалася для біомедичних цілей. Проте склалася сприятлива ситуація для використання окремих порід чи виведення спеціалізованої лінії через попит для потреб ксенотрансплантації.

Суттєвим бар'єром у трансплантації органів від свиней до людини є їхня сумісність за імунологічними показниками. Була встановлена суттєва імуногенетична подібність між антигеном А системи АВО у людини і антигеном Аа системи А у свиней, а також між антигеном е (hr') системи Rh у людини і антигенами Еа и Ее системи Е у міні-свиней. Проте, решта

антигенів людини і свиней має суттєві відмінності.

Відзначено, що присутність сироваткового антигену Аа у внутрішніх органах свиней є однією із можливих причин реакції відторгнення тканин при ксенотрансплантації. Тому для біомедичних цілей оптимально відбирати тварин із відсутністю антигенів за системою А, тобто А(-/-). Цей генотип відповідає 0(1) групі крові людини і потенційно може бути використаний для реципієнтів II-IV груп крові. Бажаною характеристикою свиней-донорів також є високий рівень гомозиготності сумарно за всіма системами груп крові [3].

Виходячи з вищенаведених даних, **метою** нашої роботи було визначення імуногенетичних особливостей свиней двох українських порід, як за ознаками їх кращої адаптивності, резистентності, репродукції, так і генетичної гомогенності, наявності алелів, що визначають потенційну придатність для використання у ксенотрансплантації.

Матеріали та методи досліджень. Весь обсяг проведених камеральних досліджень був здійснений на вибірках свиней миргородської породи з Державного підприємства «Дослідне господарство імені Декабристів» Інституту свинарства і агропромислового виробництва

Рик Т. М.

НААН (ДП «ДГ імені Декабристів Інституту свинарства і АПВ НААН», Полтавська область) (n=80), української м'ясної породи із Державного підприємства «Дослідне господарство «Гонтарівка» Вовчанського р-ну Харківської області (n=48).

Антигени еритроцитів свиней A,B,D,E,F,G,H,K,L визначали за допомогою специфічних імунних сироваток у лабораторії генетики Інституту тваринництва НААН України та залученням банку імунодіагностиків, які відповідають міжнародним вимогам. Групи крові визначали за реакцією аглютинації, непрямой проби Кумбса і гемолітичного тесту [4,5]

Статистична обробка результатів досліджень проводилась методами математичної статистики, за використання комп'ютерної

програми GenAlex 6.0. [6]. Статистичний аналіз вірогідності різниці між представниками різних популяцій за частотами алелів проводили за алгоритмом Фішера [7].

Результати досліджень. За результатами проведеного імуногенетичного аналізу двох порід було визначено, що кожна з них характеризується своєрідним імуногенетичним профілем, що пов'язано як з породними особливостями та відмінностями, так і методами їх розведення. Різниця між розподілом переважної кількості алелів груп крові була статистично значущою, що наочно відбивається на побудованих діаграмах. Діаграми порівняльної характеристики імуногенетичного профілювання миргородської (М) та української м'ясної порід (УМ) наведені на рис. 1.

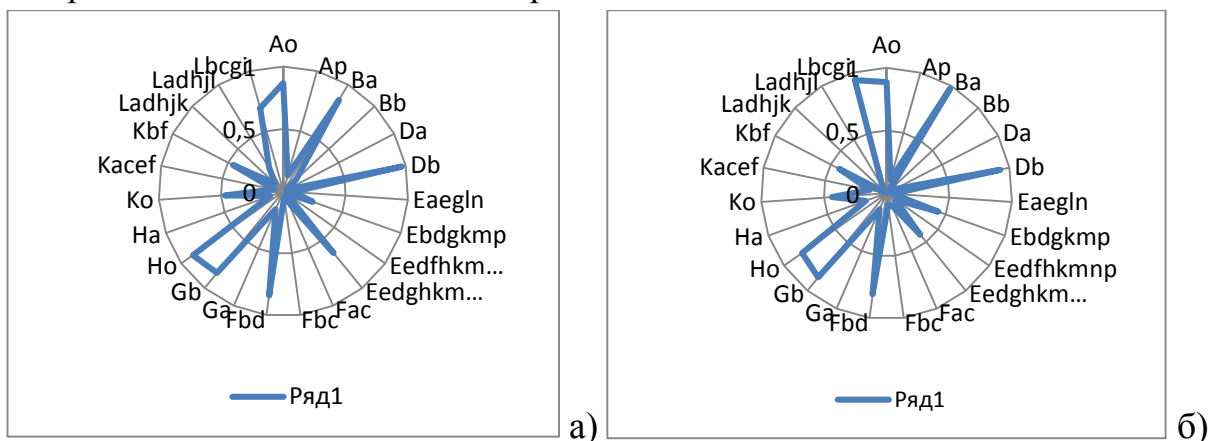


Рис. 1. Діаграми імуногенетичних профілів (а) миргородської та (б) української м'ясної порід свиней

За системою А груп крові, що є аналогом системи АВО людини, частота алеля А-, що визначає

придатність свиней для біомедичного використання, у тварин обох порід сягала суттєвих значень 88,75-86,88 %

Рик Т. М.

(для української м'ясної та миргородської відповідно) із незначущим переважанням цього показника у свиней УМ породи (табл.1). Привертає увагу суттєва різниця у розподілі алеля V^b , частота якого у свиней української м'ясної породи не перевищує значення 0,0250 проти 0,1437 у представників миргородської породи ($p < 0.01$) (рис.1a).

Частота F^a алеля, за численними літературними даними, пов'язана із впливом генотипу дикого кабана і сучасної породи ландрас на формування генетичної структури досліджуваних порід [4]. Проте, для тварин української м'ясної породи більш властиве розповсюдження альтернативного варіанту алеля - F^{bd} , а алельний варіант F^{bc} у особин цієї породи зустрічається вдвічі частіше (0,0875), ніж у миргородських свиней (0,0437) ($p < 0.05$).

Порівнювані породи свиней вирізняються і своєрідним розподілом алелів за системою груп крові К. За частотами розподілу K^- і K^{bf} свині миргородської і української м'ясної порід майже не відрізняються, проте частота алеля K^{acef} у особин української м'ясної породи зустрічається вдвічі частіше (0,1375), ніж у свиней миргородської породи (0,0750) ($p < 0.05$). Система Н груп крові переважною кількістю імуногенетиків і практичних селекціонерів асоціювалася з продуктивними якостями свиней,

насамперед плодючістю. У практичному відношенні важливим є факт генетичного зчеплення локусу Н системі груп крові, з ізоферментами ланки жирового обміну РНІ и 6-PGD, а також стресочутливістю (ген рецептора ріанодину) та якістю м'яса. Частота важливого з селекційної точки зору алеля Н є високою для УМ та М порід із несуттєвим, статистично не вірогідним переважанням цього показника у особин миргородської породи (0,8875 проти 0,8250). Найбільш суттєва різниця між миргородською та українською м'ясною породами спостерігалася за високополіморфними системами груп крові – L та E. Алель L^{adhjk} можна вважати маркерним для миргородської породи свиней, оскільки його концентрація в дослідженій популяції тварин склала майже 8,75% при повній його відсутності у особин української м'ясної породи ($p < 0.05$). За частотою алеля L^{adhjl} різниця між порівнюваними породами була значною і статистично значущою: 0,0625 у особин української м'ясної породи проти 0,2188 у свиней миргородської породи ($p < 0.01$).

Система Е груп крові відповідає більш ніж за 50% реалізації генетичної інформації, пов'язаної з поліморфізмом локусів еритроцитарних антигенів. Сам за цим генетичним локусом спостерігається найбільша

Рик Т. М.

відмінність між обраними для дослідження породами свиней.

Частота алеля E^{bdgkmp} що визначає придатність свиней до ксенотрансплантації і відповідає системі резус-фактор Rh людини є найбільшою серед спектру антигенів цієї генетичної системи і дорівнює у свиней української м'ясної породи 0,4375, що вірогідно переважає цей показник у миргородської (0,2500, $p < 0.05$).

Відомо, що селекція за м'ясними якостями підвищує у популяції концентрацію алельних генів E^{def} , проте селекція на життєздатність і резистентність призводить до

накопичення E^{deg} алелів [8]. Частоти E^{def} алеля є доволі низькими у вибірці свиней миргородської породи (0,0313), а у особин української м'ясної породи, у зв'язку з інтенсивною селекцією на м'ясність, значення цього показника було майже вдвічі вищим із значенням 0,0875 ($p \leq 0,05$). Показником кращої життєздатності і адаптивності свиней миргородської породи є висока частота E^{deg} алеля – 0,6375, що статистично вірогідно переважало значення частоти цього антигена у тварин української м'ясної породи – 0,4250 ($p \leq 0,05$).

1. Розподіл алелів у локусах груп крові української м'ясної та миргородської порід

Локус	Алелі	Частота	
		УМ	М
A	-	0,8875	0,8688
	p	0,1125	0,1313
B	a	0,9750	0,8562
	b	<u>0,0250</u>	<u>0,1437**</u>
D	a	0,0750	0,0313
	b	0,9250	0,9688
E	aegln	0,0500	0,0813
	bdgkmp	<u>0,4375</u>	<u>0,2500*</u>
	edfhkmnp	<u>0,0875</u>	<u>0,0313*</u>
	edghkmnp	<u>0,4250</u>	<u>0,6375*</u>
F	ac	0,1000	0,0875
	bc	<u>0,0875</u>	<u>0,0437*</u>
	bd	0,8125	0,8438
G	a	0,1375	0,1563
	b	0,8625	0,8438
H	-	0,8250	0,8875
	a	0,1750	0,1125
K	-	0,4375	0,4688
	acef	<u>0,1375</u>	<u>0,0750*</u>
	bf	0,4250	0,4562
L	adhjk	0,0000	<u>0,0875*</u>
	adhjl	0,0625	<u>0,2188**</u>
	bcgi	<u>0,9375</u>	<u>0,6937*</u>

Примітка: різниця частот розподілу алелів вірогідна за критерієм Фішера: $p \leq 0,05*$ - $p \leq 0,01$ **

Найбільш генетично мономорфною миргородська порода була за D, H і K системами груп крові (із рівнями фактичної гомозиготності – 0,9375, 0,7750, 1,000, відповідно), а висока ступінь реалізації генетичної інформації для вибірки тварин цієї породи була забезпечена поліморфізмом локусів E, K і L груп крові (53, 57, 47%, відповідно). Фактичний рівень гомозиготності загалом за 9 дослідженими системами груп крові у свиней обох порід був майже оптимальним і, незважаючи на інтенсивну селекцію, обмежену ефективну чисельність популяцій, наявність помірного інбридингу, склав 53,89% для української м'ясної та 49,44% для миргородської.

Серед 80 протестованих за імуногенетичними маркерами тварин миргородської породи лише 24 особини були відповідні встановленим критеріям відбору – гомозиготи $A^{-/-}$ та $E^{bdgkmp/bdgkmp}$. Діапазон визначених показників фактичної гомозиготності для відібраних за певними параметрами генотипу тварин коливався від 55,56% до максимального значення – 88,89%, переважно у свинюматок з родини Смородина, Русалки, Сороки і Сойки. Найвищий показник гомозиготності за 9 системами груп крові з урахуванням наявності модельного для ксенотрансплантації імуногенетичного профілю мав кнур №303 з лінії Дніпра.

За даними молекулярно-генетичного аналізу визначено, що встановленим критеріям біомедичної моделі відповідають лише 13 особин української м'ясної породи. Серед тварин із максимальним показником фактичної гомозиготності виділено представників Церери і Цілини, причому Цілина 4092 була гомозиготою за всіма дослідженими системами груп крові -100%. Кнури 8829721 Імперіал та 8829724 Рекс із значеннями фактичної гомозиготності за 9 системами груп крові 77,78 та 88,89% відповідно можуть бути потенційними плідниками в селекційних схемах із створення спеціалізованих ліній для біомедичного, а саме ксенотрансплантаційного призначення.

Висновки. За популяційно-генетичним аналізом поліморфізму 9 систем еритроцитарних антигенів визначено специфіку імуногенетичних профілів української м'ясної і миргородської порід свиней. Свині української м'ясної та миргородської порід мали найбільші відмінності у розподілі алелів за B, E, F, K, L системами груп крові із наявністю маркерного алеля L^{adhjk} у особин останньої ($p < 0,05$). Встановленим критеріям добору тварин за A і E системами груп крові, за результатами імуногенетичного аналізу відповідали 24 особини свиней миргородської та 13 особин

Рик Т. М.

української м'ясної породи. Відсутність тісного зчеплення груп крові з ключовими генами адаптивності свиней, за умов направленої селекції сприятиме

створенню ліній свиней з високими адаптивними якостями для біомедичних цілей і потреб ксенотрансплантації.

Список використаних джерел

1. Мартыненко Н.А. Свинья как модель в биомедицинских исследованиях. Ксенотрансплантация (обзор). Вісник Полтавської державної аграрної академії. 2006. №2. С. 181–188.

2. Зиновьева Н. А., Мелерзанов А. В., Петерсен Е. В., Климык Н. Н., Волкова Н. А., Дух А. С., Трусова И. А., Вольф Э., Брем Г. Использование трансгенных GAL-KO свиней в ксенотрансплантации: проблемы и перспективы. *Сельскохозяйственная биология*. 2014. №2. С. 42-49.

3. Станкова, Н.В. Иммунобиологический статус свиней и возможности использования их в целях ксенотрансплантации: дисс. на соиск. уч. степ. кандидата биол. наук. Лесные Поляны, Московская область, 2009. 140 с.

4. Тихонов, В.М. Иммуногенетика и биохимический полиморфизм домашних и диких свиней. Новосибирск: Наука, 1991. – 300 с.

5. Сучасні методики досліджень у свиноводстві / [Рибалко В.П., Березовський М.Д., Богданов Г.А. та ін.]. Полтава: Інститут свиноводства ім. О.В. Квасницького УААН, 2005. 228 с.

6. Peacall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel Population genetics of twarean dresearch. *Molecular Ecology Notes*. 2006. № 6. P. 288–295.

7. Плохинский, Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников. Москва: Колос, 1969. 255 с.

8. Сухова, Н.О. Бекенев В.А., Коломников В.А. и др. Связь групп крови с откормочными и м'ясными качествами свиней. Доклады ВАСХНИЛ, 1989. №2. С. 24-26.

References

1. Martynenko, N.A. (2006). Svinia kak model v biomeditsinskih issledovaniyah. Ksenotransplantatsiya (obzor) [A pig as a model in biomedical research.

Xenotransplantation (overview)]. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii*. 2:181-188 (in Ukrainian).

2. Zinoveva, N.A., Melerzanov, A.V., Petersen, E.V., Klimyuk, N.N., Volkova, N.A., Duh, A.S., Trusova, I.A., Volf, E. and G. Brem. (2014). Ispolzovanie transgennyih GAL-KO sviney v ksenotransplantatsii: problemy i perspektivy. [The use of transgenic GAL-KO pigs in xenograft: problems and prospects]. *Agricultural biology*. 2:42-49 (in Russian).

3. Stankova, N.V. (2009). Immunobiologicheskiy status sviney i vozmozhnosti ispolzovaniya ih v tselyah ksenotransplantatsii: diss. na soisk. uch. step. kandidata biol. Nauk. [Immunobiological status of pigs and the possibility of using them for xenograft purposes: dissertation for the degree of candidate of biological sciences]. 140 (in Russian).

4. Tihonov, V.M. (1991). Immunogenetika i biokhimicheskiy polimorfizm domashnih i dikih sviney. [Immunogenetics and biochemical polymorphism of domestic and wild pigs]. 300 (in Russian).

5. Rybalko, V.P., Berezovskyi, M.D., Bohdanov, H.A. et al. (2005). Suchasni metodyky doslidzhen u svynarstvi. [Modern research methods in pig production]. 228 (in Ukrainian).

6. Peacall, R. and P.E. Smouse. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel Population genetics of twarean dresearch. *Molecular Ecology Notes*. 6:288–295 (in English).

7. Plohinskiy, N. A. (1969). Rukovodstvo po biometrii dlya zootekhnikov. *Biometrics Guide for Livestock*. 255 (in Russian).

8. Suhova, N.O., Bekenev, V.A., Kolomnikov V.A. et al. (1989). Svyaz grupp krovi s otkormochnymi i m'yasnimi kachestvami sviney. [The relationship of blood groups with feed and meat qualities of pigs]. *Doklady VASHNIL Reports of Lenin All-Union Academy of Agricultural Sciences*. 2: 24-26 (in Russian).

FEATURES OF THE IMMUNOGENETIC STRUCTURE OF PIGS OF DOMESTIC BREEDS, SUITABLE FOR XENOTRANSPLANTATION

T. N. Ryk

Abstract. *The comparative assessment of the immunogenetic status of pigs of the Ukrainian meat-type and Myrgorod pigs has been carried out. The specificity of immunogenic profiles has been evaluated, depending on the history of creation and the direction of the productivity of animals. It has been found out that 24 specimens of Myrhorod pigs and 13 specimens of the Ukrainian meat-type pigs have the presence of genotypes $A^{-/-}$ and $E^{bdgkmp/bdgkmp}$ which determine the suitability of animals for xenotransplantation. The Ukrainian meat-type pigs and Myrgorod pigs had the largest differences in the distribution of alleles by B, E, F, K, L blood group systems with the presence of the Ladhjk marker allele in the specimens of Myrgorod pigs. ($p < 0.05$).*

The possibility of occurrence of reproductive and resistance disorders of pigs in the selection by blood groups genotypes modeled for xenotransplantation and the search for ways to their selection overcoming are discussed.

Keywords: *erythrocyteantigen, polymorphism, allele, pigs, immunogenetic profile, xenotransplantation*