

органов от мини-свиней к шимпанзе. Намечено сделать попытку пересадить свиную печень, поджелудочную железу, почки и другие органы нескольким шимпанзе. В настоящее время работа по геномодификации и клонированию минисибсов с использованием стволовых клеток для создания гистосовместимого генома, обеспечивающего толерантность при ксенотрансплантации органов человеку, находится на начальных этапах. Основным методом является клонирование трансгенных мини-свиней с нокаутированными генами, что блокирует формирование полисахаридов, участвующих в образовании α -1,3-галактозилтрансферазы (GGTA1) у доноров.

Using of minipigs hondrotransplant for interspecific reparative regenerations bone

A.M. Zajdman, V.N. Tikhonov

Possibility of minipig hondrotransplant transplantation of suitable size to dogs with damage lumbus. Positive results were proved by morphology analysis.

Key words: hondrotransplant, minipig, transplantation.

Список литературы

1. **Зайдман А.М., Сахаров А.В., Колокольцова Т.Д.** Культура хондробластов как потенциальный источник для тканевой инженерии при повреждениях и заболеваниях позвоночника. // Хирургия позвоночника. 2004. № 4. С. 115-121.
2. **Сахаров А.В.** Общие закономерности развития позвоночника человека и свиньи в онтогенезе. / А.В. Сахаров, А.А. Макеев, Е.И. Рябчикова // Вестник КрасГАУ. 2009. № 3. С. 126-129.
3. **Тихонов В.Н.** Лабораторные мини-свиньи, генетика и медико-биологическое использование. // Новосибирск. изд-во СО АН. 2010. 305 с.



ЛАБОРАТОРНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Создание нового поколения супермелких лабораторных свиней для работы в области медицины, ветеринарии и биотехнологии

В.Н. Тихонов, В.Е. Бобович, В.И. Запорожец

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск.

Контактная информация: д.б.н. Вилен Николаевич Тихонов icg-adm@bionet.nsc.ru

На основе отечественных мини-свиней, выведенных в Институте цитологии и генетики СО РАН (минисибс) создана популяция особо мелких мини-свиней, не имеющая аналогов в мире.

Ключевые слова: мини-свиньи, минисибс, микросибс.

Во многих странах мира все шире используют для медико-биотехнологических исследовательских работ специально выведенных мелко-рослых мини-свиней. Ежегодно публикуются сотни ценных научных статей, результаты которых были получены на таких лабораторных животных.

Более 10 породных популяций специально выведенных лабораторных свиней разводят и используют в США, Германии, Японии и Китае. Свиньи из этих популяций значительно различаются по размерам. Так, лучшие мини-свиньи хэнфордской и юкатанской пород, разводимые в Чарльз-Риверском центре лабораторных животных в США, в возрасте 2-х мес. имеют живую массу 7-11 кг, а в полгода – 25-42 кг, что в несколько раз меньше массы стандартных коммерческих свиней в таком же возрасте. Существуют разные стандарты мини-свиней, которые отличаются размерами. У обычных мини-свиней США живой массой около 50-70 кг размеры сердца, селезен-

ки, печени, надпочечников и простаты аналогичны размерам соответствующих органов взрослого человека. В последние годы в США начали разводить так называемых юкатанских «микротигов», имеющих в 2-месячном возрасте живую массу 6-8 кг, а в 6-месячном – 16-20 кг. Стоят они 300 и более долларов в США и от 1000 евро в Европе.

В России есть свои отечественные мини-свиньи оригинального происхождения и селекции – «минисибс». Минисибс (аббревиатура – миниатюрная сибирская свинья) – это результат многолетней гибридологической работы специалистов Института цитологии и генетики СО РАН, которая проводилась под иммуно- и цитогенетическим контролем. Их сложный комплаундный геном удалось создать, используя альтернативные геномы нескольких подвидов домашних и диких свиней европейских и азиатских форм. По многим важным параметрам, таким как концентрация аллелей, карликовость, неприхотливость к условиям со-

держания и кормления, они не уступают и значительно превосходят зарубежные популяции. Минисибсы в несколько раз дешевле зарубежных, но пока крайне недостаточно используются из-за отсутствия должного интереса со стороны отечественных медиков. Гены белой масти и плодовитости они получили от европейских шведских ландрасских свиней, гены карликовости – от вьетнамской породы вислобрюхих черных свиней и некоторых диких азиатских форм *Sus scrofa vittatus*, а адаптивность к неблагоприятным условиям содержания и крепость конституции – от европейских диких предковых форм. На основе генома минисибсов в Научном центре биомедицинских технологий РАМН, Московской области, пос. Светлые горы под руководством В.В. Осипова и Г.Д. Капанадзе выведена вторая отечественная популяция мини-свиней – светлогорская.

В связи с необходимостью и потребностью в дальнейшем уменьшении размеров минисибсов, на основе их генома мы создали новую популяцию особо мелких мини-свиней. В самое последнее время оказалось возможным начать разводить лабораторных супермелких свиней с достаточно высокой жизнеспособностью, которые по своим размерам в 1,5-2 раза меньше минисибсов. Такие маленькие мини-свинки наиболее удобны для учебно-методических работ, фармакологических и токсикологических исследований, для усовершенствования микрохирургических аппаратов и шовного материала. Их можно рассматривать как наиболее вероятный источник донорских органов для пациентов детского возраста и – что особенно важно – их можно содержать в условиях вивариев медицинских учебных и исследовательских институтов в обычных двухъярусных клетках. Этим

супер-мелким животным, которые были получены в результате многолетней селекционно-генетической работы, мы дали условное название – «микросибсы». При рождении живая масса их составляет около 550 г (с колебаниями от 400 до 680 г), в 2 мес. они весят всего 4-5 кг, а в шесть – 15-18 кг (рис. 1, 2, 3).



Рис. 1. Супермелкая свинка микросибс имела живую массу в 3 мес. – 6,5 кг, в 8 мес. – 20 кг.



Рис. 2. Супермелкие самец Хрюн (живая масса в возрасте 12 мес. – 27 кг) и микросвинка Мотя (на переднем плане).

Микросибсы отличаются скороспелостью и уже в годовалом возрасте приносят хорошее по жизнеспособности потомство (рис. 1).



Рис. 3. Супермелкие свинки микросибс в 8- и 11-месячном возрасте с живой массой 20 и 27 кг (вверху) и в 6-месячном возрасте с живой массой всего 7 кг (внизу).



Рис. 4. Супермелкая свинка микросибс с поросятами, опоросилась в возрасте 12 мес.

Создание подобной группы микросибсов не имеет аналогов в мировой практике разведения свиней (табл. 1).

Лабораторные свиньи служат наилучшим модельным объектом и заслуженно пользуются репутацией оптимально удачной модели для медико-биологических экспериментов, благодаря тому, что их органы размерами, анатомическими и функциональными особенностями в норме и патологии в наибольшей степени сходны с человеческими.

У мини-свиней и людей практически одинаковое расположение кровеносных сосудов сердечно-сосудистой системы. Небольшое анатомическое отличие заключается только в том, что у свиньи имеется дополнительная малая левая непарная вена (*v. azygous minor*), которая входит в коронарный синус. У других лабораторных животных: крыс, кроликов и собак сердечно-сосудистая топография сосудов и гемодинамические особенности отличаются от человеческого в значительно большей степени. Такое же сходство справедливо отмечается и в отношении поджелудочной железы, органов выделения (включая почки), нейроэндокринной и половой систем [1, 2, 3].

Таблица 1

Динамика живой массы у мини-свиней и микропигов США, минисибсов и супермелких микросибсов ИЦиГ СО РАН (для сравнения приведены данные по исходной породе минисибсов – ландрасу)

Породные популяции	Живая масса животных, (кг)			
	2 мес.	4 мес.	6 мес.	12 мес.
Мини-хэнфорд, США	8-11	20-29	32-42	50-70
Мини-юкатанская, США	7-9	15-20	25-30	45-65
Микропиги, США	6-8	12-14	16-20	35-50
Минисибс, Россия	8-11	20-30	35-40	50-70
Микросибс, Россия	4-5	10-12	15-20	30-35
Ландрас, Россия	20	50	100	200

Для медико-биологических исследований особенно важно сходство органов пищеварительной системы мини-свиней и человека, которое обусловлено общим растительно-мясным типом питания, их «всеядностью». Желудок у мини-свиней типичный однокамерный, относительная длина кишечника очень велика, примерно в 15 раз больше длины туловища.

Благодаря одинаковому типу питания и особенностям липидного и углеводного метаболизма, человек и мини-свиньи имеют очень сходный метаболический синдром, болеют сходными болезнями, в т.ч. спонтанным инфарктом и диабетом 2-го типа, которые справедливо назвали чумой 21-го века. Именно эти обстоятельства в значительной мере способствовали широкому использованию мини-свиней в качестве модели для изучения метаболического синдрома. Метаболический синдром складывается из нескольких важных симптомов: снижения чувствительности тканей организма к инсулину, абдоминального ожирения, повышенного артериального давления и нарушения липидного обмена. Метаболический синдром очень быстро приводит к развитию сахарного диабета 2-го типа (инсулиннезависимого), атеросклерозу, ишемической болезни сердца. В индустриальных странах от метаболического синдрома страдает в настоящее время уже более 10-20% населения старше 30 лет.

Именно мини-свиньям выпала судьба стать испытателями новых средств для лечения метаболического синдрома. Проблемы ожирения и липидного обмена на мини-свиньях изучают давно (например, в СО АМН России докторскую диссертацию на эту тему в 1996 г. в Новосибирске защитил Тихонов Александр Виленович). Особенно успешно занимаются созданием и совершенствованием

ксенопротезов клапанов сердца в Кемеровском кардиологическом центре, под руководством академика Л.С. Барбараша. Кстати, первые отечественные ксенобиопротезы клапанов сердца в нашей стране были изготовлены при использовании сердец мини-свиней. Они могут быть весьма полезны и при разработке новых усовершенствованных ксенопротезных клапанов и автоматических приборов для микросшивания сосудов. При трансплантации сердечных клапанов, особенно когда они предназначены для имплантации ребенку, ситуация часто осложняется тем, что размер имплантата не меняется по мере роста пациента. Удачное решение этой проблемы нашли специалисты Ганноверской лаборатории биотехнологии и искусственных органов им. Лейбница. Из клапанов сердец геттингенской мини-свиньи, использованной в качестве донора, удаляли все мышечные клетки и оставляли только каркас из соединительной ткани. Затем каркас заселяли стволовыми клетками, выделенными из костного мозга или крови реципиента. Такой новый, выращенный за несколько недель, клапан не вызывает иммунногенетического отторжения, связанного с гистонесовместимостью и, главное, биопротез клапана растет вместе с пациентом. Работа по созданию «растущего клапана сердца» была отмечена премией Президента ФРГ.

Сейчас в США, Китае и других странах интенсивно ведутся работы на молекулярно-генетическом уровне по преодолению гистонесовместимости между организмом человека и органами мини-свиней, принимаемых в качестве наиболее вероятных возможных доноров. Из выявленных нескольких генов, отвечающих за гистонесовместимость, уже удается половину инактивировать нокаутированием при трансгенезе.

В нашей стране за 15 лет проведены тысячи успешных ксенотрансплантаций клапанов сердца людям, в том числе много операций сделано пациентам детского возраста. При этом в некоторых случаях не потребовалось проведения повторных трансплантаций. К сожалению, официальное использование детских имплантов для ксенотрансплантаций в нашей стране до сих пор не разрешено законом. Это, естественно, задерживает и экспериментальное изучение актуальной проблемы трансплантации ксенобиопротезов от мини-свиней.

Ежегодно во всем мире в трансплантациях органов остро нуждаются сотни тысяч пациентов, но эта потребность не может и никогда не сможет быть удовлетворена за счет только человеческих донорских органов. Даже в таких сравнительно небольших странах как Англия ежегодно производят более 10 тысяч трансплантаций. Хронический и практически бесконечный дефицит неизбежно усугубляется объективными причинами – очень высокой индивидуальной иммуногенетической специфичностью органов, необычайной трудностью их получения и, к сожалению, заоблачной стоимостью. При этом в качестве доноров для ксенотрансплантации из всех животных можно рассматривать лишь мини-свиней как по этическим и анатомо-генетическим, так и по чисто финансовым причинам. Этические запреты выдвигаются «зелеными», исходя, якобы, из гуманитарных соображений о более высокой умственной организации обезьян и собак, но они как раз и могут быть заменены мини-свиньями.

Потенциальный мировой рынок в отношении сердец, почек, поджелудочных желез и других органов мини-свиней для ксенотрансплантации человеку, даже при нынешнем уровне их ограни-

ченной гистосовместимости, по самым осторожным расчетам превосходит 5 млрд. долларов. Но еще большая сумма требуется для изучения и лечения гастроэнтерологических заболеваний (включая диабет) и нейро-эндокринных болезней, а также болезней Паркинсона, Альцгеймера, Хантингтона, эпилепсии и многих других.

В 1998-2009 гг. на базе ИЦиГ СО РАН при участии кардиохирургов научно-исследовательского института патологии кровообращения (НИИПК) МЗ России им. Е.Н. Мешалкина было начато экспериментальное изучение возможности использования мини-свинов в качестве наиболее вероятных потенциальных доноров для ксенотрансплантации сердца человеку. Экспериментальные кросс-трансплантации сердца между мини-свиньями показали полную осуществимость таких пересадок уже в настоящее время по реальным технологическим и хирургическим возможностям, обеспечивающим необходимое поддержание соответствующей гемодинамики. К сожалению, эти работы были заморожены на неопределенное время в связи с законодательными ограничениями. Однако, остается актуальной необходимость дальнейшего изучения новых методов обеспечения гистосовместимости на основе трансгенеза мини-свиней с использованием генетических элементов из стволовых клеток эмбрионов человека. Кстати, такие опыты успешно продолжаются в Массачусетском университете США (под руководством известного ученого Дорис Тейлор), а также в нескольких университетах континентального Китая и на Тайване.

Изучение возможности модификации генома свиней и их клонирование для ксенотрансплантации органов человеку интенсивно ведут также в Австралии,

Южной Кореи, ФРГ. В 2005 г. клонирование необходимых для трансплантации поросят удалось успешно осуществить в одном из аграрных университетов КНР. А в 2009 г. китайские медики провели серию ксенотрансплантаций разных внутренних органов от мини-свиней к шимпанзе. Китайский ученый Янг Хоньцзы, руководивший международным проектом со стороны КНР, сообщил, что первые опыты по ксенотрансплантации будут продолжены в специальной научной лаборатории при Клиническом центре трансплантологии провинции Сы-чуань. Намечено сделать попытку пересадить свиную печень, поджелудочную железу, почки и другие органы, наиболее востребованные в клинической медицине при ксенотрансплантации, нескольким шимпанзе. В настоящее время работа по геномодификации и клонированию минисибсов с использованием стволовых клеток для создания гистосовместимого генома, обеспечивающего толерантность при ксе-

нотрансплантации органов человеку, находится на начальных этапах. Основным методом является клонирование трансгенных мини-свиней с нокаутированными генами, что блокирует формирование полисахаридов, участвующих в образовании α -1,3-галактозилтрансферразы (*GGTA1*) у доноров.

Список литературы

1. **Тихонов В.Н.** Лабораторные мини-свиньи, генетика и медико-биологическое использование. // Новосибирск. Изд-во СО АН. 2010. 305 с.
2. **Тихонов В.Н., Жучаев К.В.** Микроэволюционная теория и практика пороодообразования свиней. // Новосибирск. СП «Наука» РАН. 2008. 394 с.
3. **Тихонов В.Н., Ларионов П.М., Тихонов А.В.** Использование мини-свиней в качестве модели для разработки новых методов лечения ишемической болезни сердца. // Атеросклероз. 2010. № 10.

Creation of new generation of supersmall laboratory pigs for work in the field of medicine, veterinary science and biotechnology

V.N. Tikhonov, V.E. Bobovich, V.I. Zaporozhets

Population of microsibs was created on the base of native minisibs in Institute of Cytology and Genetics SD RAS. Microsibs have no analogs all over the world.

Keywords: minipig, minisibs, microsibs.

Межлинейные особенности физиологических реакций на разных уровнях организации у мышей при остром облучении

Е.Н. Архипова¹, И.Б. Алчинова¹, Н.Н. Хлебникова¹, И.Ю. Егорова², А.С. Бобе¹, Х.Х. Семенов², А.А. Антипов³, Ц.Ц. Содбоев³, М.Ю. Карганов¹

¹ – НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва

² – Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Московская область

³ – Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им.К.И. Скрябина, Москва

Контактная информация: Алчинова Ирина Борисовна labpolys@gmail.com

Работа посвящена анализу реакций на разных физиологических уровнях у мышей линий 101/Hf и СЗН/Sn при воздействии гамма-облучения в острой дозе 750 Р. ЛК-гистограммы сыворотки крови мышей в первые три недели после облучения характеризуются количественным уменьшением частиц первого интервала и значительным увеличением различий в третьем интервале (свыше 91,26 нм). У мышей линий СЗН/Sn и 101/Hf различные тяжести повреждения ткани кишечника встречались с близкими частотами. Уровень тревожности, оцениваемый по тестам «Открытого поля» оказался выше у мышей линии 101/Hf.

Ключевые слова: облучение, межлинейные различия, лазерная корреляционная спектроскопия.

Целью настоящего исследования было изучение межлинейных различий адаптивных возможностей мышей при воздействии экстремального фактора среды.

Методы исследования

В исследовании использовали две линии мышей – 101/Hf и СЗН/Sn, из коллекционного фонда научного центра биомедицинских технологий РАМН.

В литературе мыши линии 101/Hf описывается как одна из немногих экспериментально-биологических моделей заболеваний человека, связанных с хромосомной нестабильностью и дефектами репарации ДНК, считается, что у этой линии отсутствует эксцизионная репарация. Линия СЗН/Sn рассматривается как линия более радиостойчивая [2, 3, 7].

Облучение группы мышей (СЗН/Sn $n=9$; 101/Hf $n=6$) проводили на цезиевом

облучателе «Панорама» до общей дозы 750 рентген (Московская ветеринарная академия им. К.И. Скрябина). Контрольные группы (СЗН/Sn $n=7$; 101/Hf $n=10$) не подвергались облучению.

Измерение веса животных проводили на весах марки Mettler Toledo, за час до взвешивания животных лишали еды.

Для оценки изменений в сывороточном гомеостазе использовали сыворотку крови. Забор крови у мышей проводили из малой подкожной вены голени через 3 дня, а также через 3 и 6 недели после облучения [6]. Субфракционный состав сыворотки крови мышей изучали методом лазерной корреляционной спектроскопии. Для гистограмм сыворотки крови мышей можно выделить три основных интервала: 1 – от 0 до 20,58 нм, 2 – от 20,58 до 91,26 нм, 3 – и свыше 91,26 нм. Для анализа использовались два критерия: сдвиг – характеристика интервала (небольшие, но устойчивые изменения