

ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ЕМБРІОНІВ СВИНЕЙ: ГЕНЕТИЧНИЙ ПРОГРЕС ТА ПЕРСПЕКТИВИ МАЙБУТНІХ ТЕХНОЛОГІЙ

І. І. Ткачівська, студент СВО «Магістр», tkachivska2@gmail.com

Науковий керівник – к.с.-г.н., доцент Галушко І. А.

Миколаївський національний аграрний університет

Зроблено огляд застосувань нових підходів до селекційно-плеємної роботи, які б сприяли прискоренню генетичного поліпшення популяцій у свинарстві. Розглянуто розробки з трансплантації ембріонів у свиней за останні роки.

Ключові слова: трансплантація ембріонів, запліднення, свиноматка, донор, реципієнт.

Постановка проблеми. Створення нових порід, типів та ліній сільськогосподарських тварин у загальній масі з високим генетичним потенціалом зустрічаються не дуже часто. Виробництво нині вимагає не лише високопродуктивних, стійких проти захворювань, а й стандартних за продуктивністю тварин. За існуючих методів селекції генетичний потенціал деяких продуктивних тварин не можна використати максимально. Потрібно застосовувати принципово новітні підходи до селекційно-плеємної роботи, які б сприяли прискоренню генетичного поліпшення популяцій тварин. Біотехнологічні методи відтворення повинні прискорювати розмноження тварин з максимальним використанням резервних репродуктивних потенцій [10]. Перші кроки у створенні таких біотехнологічних підходів було зроблено ще в тридцятих роках. У їхню основу покладено штучне осіменіння та гормональне стимулювання плодючості. У наш час біотехнологія, як невід'ємна ланка методології збереження генофонду, охоплює широкий ареал відтворних маніпуляцій у клітинній інженерії та молекулярній генетиці. Репродуктивна біотехнологія включає штучне осіменіння, син-хронізацію статевої функції, кріоконсервування ооцитів та ембріонів, отриманих *in vivo* та *in vitro*, сперми, розділення ембріонів навпіл, перенесення ядерного матеріалу за допомогою мікроін'єкцій та інше. Проте кінцевий результат у більшості технологій можливий тільки при застосуванні методу трансплантації ембріонів. Трансплантація ембріонів в даний час є глобальною індустрією, по даним якої, в 2005 році було вироблено близько 955 000 комерційних (не для досліджень) трансплантацій ембріонів ссавців, 92% з яких – у великої рогатої худоби. Решта 8%, в основному, отримані у овець, кіз, свиней і коней. Вважається, що близько 10000 в природних умовах (*in vivo* – від тварин) і більш 40000 в пробірці (*in vitro* – отримані при проведенні проектів лабораторних досліджень) свинячих ембріонів трансплантують щороку. Основними країнами, що надають дані про цю діяльність в Міжнародне Товариство Трансплантації Ембріонів, є США, Канада, Тайвань, Корея і країни Європейського Союзу [4].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Трансплантація ембріонів відноситься до області репродуктивної науки і полягає в витягу ембріонів з матки одного жіночого організму (донора) і трансплантації одного або декількох ембріонів сурогатній самці (реципієнту). Перше потомство ссавців в результаті трансплантації ембріонів було відтворено у кроликів майже 119 років тому. Першу трансплантацію ембріонів провів в 1890 р англійський вчений У. Хіп, який пересадив кілька зигот, витягнутих з організму кролиць, самкам іншої породи, і отримав повноцінне потомство. В подальшому були проведені експерименти з трансплантації зигот (ембріонів) кролиць російським лікарем Онановим М. (1891), казанським гінекологом Груздевим В.С. (1897), Пін-кусом (1936). У 1931 р. Варвік і Беррі здійснили пересадку ембріонів у овець і кіз [2].

Накопичений до початку 1970-х рр. досвід показав, що трансплантацію ембріонів можна переносити з лабораторії в практику тваринництва.

Перші поросята в результаті трансплантації ембріонів народилися 27 березня 1950 року в Україні. Від тоді дослідження, присвячені відтворенню свиней, включаючи питання овуляції, запліднення, розвитку зародка, збереження, міграції, імплантації і виживання, з'явилися результатом досліджень, пов'язаних з трансплантацією ембріонів [1].

Проте, протягом останнього десятиліття ситуація різко змінилася завдяки новим методам (вітрифікації) для кріоконсервації ембріона і розробці нової та унікальною безопераційної процедури пересадки (НБП), за допомогою яких ембріони переносяться глибоко в матку свиноматок-реципієнтів (Мартінес і ін., 2004). Ці процедури роблять можливим пройти через шийку матки і досягти глибини рогів матки протягом 3-5 хвилин у 95% свиноматок-реципієнтів (Мартінес і співавт., 2013) [6].

Постановка завдання. Завданням даного дослідження було проведення аналізу даних щодо трансплантації ембріонів в свинарстві з перспективами в подальшому використанню.

Теоретичне обґрунтування проведених досліджень. Комерційна трансплантація ембріонів була практичною альтернативою в тваринництві протягом багатьох років. У великої рогатої худоби репродуктивний тракт і розмір тварини дозволяє проводити ректальну пальпацію статевих шляхів, що робить можливим подальше нехірургічне ректально-вагінальне трансцервікальне осадження ембріона в іпсилатеральному (сторона овуляції) розі матки. У свиней, через їх менший розмір, обмежено або заборонено проведення нехірургічного ректально-вагінального трансцервікального осадження ембріонів. Крім того, свиня є багатоплідною твариною з характерними довгими рогами матки, що необхідно для виношування виводка порослят під час вагітності. Для свиней характерна наявність саме таких довгих рогів матки, а також шийки матки, розташованої по типу «штопор», що перешкоджає проведенню нехірургічного трансцервікального збору і осадження ембріонів. Таким чином, вчені і ветеринари давно використовують вентральну лапаротомію по середній лінії для відновлення і перенесення ембріонів в організм свині-реципієнта [5].

Крім того, на відміну від великої рогатої худоби, де також широко застосовується ЕТ, у свиней відносно ранній період статевого дозрівання і короткий період вагітності. [2].

Проте, існують певні фактори, що мотивують свинарів продовжувати реалізовувати різні методи трансплантації ембріонів. До таких факторів відносять:

- Генетичний прогрес. Тільки 50% генетичного матеріалу може бути змінено в одному поколінні за допомогою штучного запліднення, в той час як 100% генетичного матеріалу або повністю новий геном може бути введений з ембріоном.

- Розширення ринків. Свинарство продовжує розширюватися в усьому світі і характеризується появою компаній, які працюють на міжнародному рівні і зможуть отримати вигоду з економічно ефективних можливостей трансплантації ембріонів замість продажу живих тварин. Це також дозволить дрібним підприємствам стати більш конкурентоспроможними, продаючи унікальні генетичні зразки у вигляді законсервованих зразків ембріонів, що трансплантують.

- Зниження ризику для здоров'я. Трансплантація ембріонів може бути використана для подолання проблем зі здоров'ям свиней. Ембріони можуть бути видалені у свиноматок з такими захворюваннями, як псевдосказ або свинячий репродуктивний і респіраторний синдром (PPCS), які потім «відмиваються» і передаються реципієнту без виявлених захворювань для забезпечення здорових стад. Ця унікальна характеристика ЕТ може бути використана для мінімізації або усунення ризику розвитку будь-якого захворювання між стадами і отримання бажаного генетичного прогресу. Дане застосування ЕТ було названо «генетичним порятунком» [7].

- Генетичні важелі. Використання інших біотехнологій, таких як клонування ембріонів і кріоконсервація, вимагають проведення ЕТ для відтворення живого потомства.

- Медицина. Органи свиней найбільш сумісні з людськими через схожість в анатомії, фізіології і розмірах. З точки зору етики, їх застосування менш спірне, ніж використання органів приматів. В останнє десятиліття в США кількість пацієнтів, які очікують трансплантації органів, збільшилася втричі. Департамент охорони здоров'я США і Служба захисту програми людського донорства має більше 50000 заявок на трансплантацію органів. Процедура трансплантації ембріонів є важливим кроком в розробці і виробництві генетично змінених свиней, органи яких підходять для трансплантації людині. Крім того, свиня була визнана найбільш підходящою твариною для експериментального моделювання хвороб людини. Лише 8% досліджень, проведених в США на гризунах або інших стандартних моделях по відтворенню людських захворювань і дійшли до клінічних випробувань, в дійсності привели до створення готового продукту для лікування людини. Унікальна фізіологія та анатомія свині робить її більш придатною для моделювання людських хвороб, і свиня в даний час активно використовуються

для генетичних маніпуляцій і є експериментальною моделлю по відтворенню таких захворювань, як атеросклероз, цукровий діабет, муковісцидоз, м'язова дистрофія, рак та інші важкі захворювання [11].

Основою успішного процесу ЕТ є ціла низка технічних факторів, які будуть задіяні при інтеграції ЕТ з операцією, що проводиться свиням.

Перш за все важливим фактором процесу ЕТ являється регулювання естрального циклу. Для забезпечення успішного процесу ЕТ самки-донори і реципієнти повинні бути синхронізовані (для пересадки свіжих ембріонів), так що період тички у реципієнтів повинен проходити приблизно в той же час, що і у донорів.

Незважаючи на те, у свині в період «овуляції» залучено від 10 до 25 яйцеклітин (за естрального циклу), донор може бути гормонально стимульований для того, щоб виробити більше запліднених яйцеклітин, що робить донора більш продуктивним, так як процес ЕТ передбачає видалення ембріонів у самок-донорів. Проте, супер-овуляція не є необхідною для успішного проведення ЕТ. Надійні і послідовні методи виявлення тички і її реєстрації повинні бути використані як для донорів, так і для реципієнтів, щоб реципієнти могли бути точно погоджені з окремими донорами і їх ембріонами.

Ембріони, отримані у самок донорів, повинні бути трансплантовані реципієнтам. Донори можуть бути як по материнській, так і по батьківській лінії, але материнські лінії є кращими для реципієнтів. Донори і реципієнти можуть бути як свинками, так і свиноматками, при цьому у свинок набагато зручніше проводити хірургічні маніпуляції [12].

Прийнятні результати ЕТ можна отримати тільки тоді, коли ембріони належним чином підготовлені до трансплантації. Навчений персонал використовує стерильні прилади й середовища, призначені для вирощування та обробки ембріонів від моменту оживлення до трансплантації в контрольованих умовах.

Ембріони повинні бути правильно ідентифіковані і підготовлені для відправки за місце знаходження реципієнта. Транспортування може включати перенесення, перевезення або переліт з одного місця в інше. Ембріони можна вирощувати протягом 72 годин з більш низькими кінцевими результатами.

Після оживлення ембріони можна культивувати під час транспортування, особливо якщо ЕТ має відбутися протягом 24 годин після оживлення. Були розроблені альтернативні методи консервування ембріонів, включаючи зберігання ембріонів до 48-72 годин при низькій температурі і вітрифікації ембріонів для довгострокової кріоконсервації. На відміну від звичайних методів консервування культури ембріонів, в майбутньому саме ці технології будуть відігравати важливу роль для реалізації програми поставок при глобальній трансплантації ембріонів [13].

В даний час типовими результатами слід вважати досягнення вагітності і опоросу в 85% випадків трансплантації ембріонів, а ембріональне виживання (з урахуванням вагітності реципієнтів) становить 50-55%. Поєднання цих показників говорить про те, що трансплантація ембріонів до 50% випадків приведе до народження поросят. Результати залежать від причини проведення

ЕТ. Використання ЕТ з метою порятунку генотипів від донорів, чиє здоров'я знаходиться під загрозою, може бути менш ефективним, ніж використання ЕТ для передачі генетичного матеріалу в здорових стадах. Тривалість часу культивування може вплинути на результати міжнародної трансплантації. Трансплантації свинячих ембріонів, яка успішно застосовується в різних областях свинарства, показує, що ця надійна процедура заслуговує розгляду. Згідно з експериментальними даними, більш високий ризик зниження ефективності пов'язаний з донорами та якістю ембріонів при генетичному порятунку. Практична реалізація трансплантації ембріона вимагає спеціального приміщення, обладнання та кваліфікованої бригади хірургів [8].

Висновки і перспективи подальших досліджень. Трансплантація ембріонів – це біотехнологічний метод пересаджування ембріонів, вимитих від високоцінних порід тварин, менш цінним тваринам, який включає в себе комплекс методів, скерованих на синхронізацію естральних циклів донора і реципієнта, викликання поліовуляції у донора, оцінку та збереження ембріонів, пересаджування їх у репродуктивний тракт самки. У зв'язку з бурхливим розвитком клітинної біотехнології, трансплантація ембріонів у свинарстві останнім часом набула важливого значення. Розроблені методи трансплантації ембріонів свиней мають не лише наукове, а й прикладне значення і невдовзі зможуть набути такого самого значення у збереженні генофонду, як і в скотарстві. В останнє десятиліття багато досліджень було присвячено реальнішим і повторюваним нехірургічним методам трансплантації ембріонів у свиней. Запозичення методів, які можна застосувати у інших видів, обмежена, в зв'язку з меншими розмірами тваринного і унікальною природою репродуктивної системи свині. Дослідження тривають для того, щоб домогтися прогресу в забезпеченні застосування нехірургічних методів ЕТ у свиней в сільськогосподарській практиці. Найбільш обнадійливі результати були отримані при використанні катетера, розробленого в університеті Мурсії доктором Еміліо Мартінесом. Показники 70,8% опоросу і 6,9 поросят з числа народжених в посліді були досягнуті за допомогою катетера, який тепер доступний в центрі Minitube. Постійні зусилля при проведенні досліджень спрямовані на хірургічні методи проведення ЕТ, а саме на те, щоб дані технології були конкурентоспроможними, а методи проведення ЕТ стали більш економічним і практичним для виробників свиней [2].

Однак в майбутньому свинарства процедура трансплантації ембріонів стане звичайною справою, це всього лише питання часу. Багато глобальні ринкові сили та технологічні прориви вносять свій внесок в цей неминучий факт. Це хвилюючий момент – можливість взяти участь в даному починанні в сфері поточних комплексних зусиль, спрямованих як на дослідження, так і на виявлення нових можливостей для виробників.

Список використаних джерел

1. Дюльгер Г. П., Храмцов В. В., Нежданов А. Г. Репродуктивні допоміжні технології в відтворенні великої рогатої худоби. *Російський ветеринарний журнал*. 2014. № 4. С. 5-9.

2. Кабанов В. Д. Свинарство. М. : Колос, 2001. 431 с.
3. Мадисон В. Селекція вітчизняного худоби: міфи і реальність. Чи не возите худобу живцем, не губить. *Тваринництво Росії*. 2009. №10-11. С. 70-91.
4. Мадисон В., Мадисон Л. Трансплантація ембріонів: добре забуте старе. *Тваринництво Росії*. 2018. №4-5. С. 40-51.
5. Попов Д. В., Бригада А. В., Косівський Г. Ю. Керівництво по отриманню та трансплантації ембріонів великої рогатої худоби. М.: 2017. 54 с.
6. Романов А. А., Советкін С. В., Смирнов В. Т. Інструкція за технологією роботи організацій зі штучного осіменіння та трансплантації ембріонів сільськогосподарських тварин. М.: 2003. С. 60-91.
7. Тельців Л. П. Про вирощування високопродуктивного великої рогатої худоби. *Вісник Російської академії с.-г наук*. 2005. №1. С. 82-84.
8. Тузов І.М. Взаємозв'язок зростання голштинських телиць з їх лінійної приналежністю. *Наукове забезпечення розвитку АПК в умовах реформування*. СпбГАУ. Ч. 1. 2013. Вип. 436. С. 251-253.
9. Тузов І.М. Створення інтенсивного молочного типу голштинізованого худоби в навчальному господарстві «Краснодарське». *Технологія племінного і промислового тваринництва*. 2005. Вип. 414. С. 4-10.
10. Квасницький А.В., Мартыненко Н.А., Близнюченко А.Г. Трансплантація ембріонів и генетическая инженерия в животноводстве. К.: Урожай, 1988. 264 с.
11. Трансплантація ембріонів // Студреф. [Електронний ресурс]. Режим доступу:<https://studref.com/316975/agropromyshlennost/transplantatsiyaembrionov>
12. Shull JW. Managing the problem beef embryo donor. In: *Proceedings. Society For Theriogenology*. Montgomery. AL. 2009. P. 283-288.
13. Kurome M., Ueda H., Tomii R., Naruse K., Production of transgenic-clone pigs by the combination of ICSI-mediated gene transfer with somatic cell nuclear transfer. *Transgenic Research*. 2006. 15. P. 229–240.
14. Lee G.S., Kim H.S, Hyun S.H. Improved developmental competence of cloned porcine embryos with different energy supplements and chemical activation. *Mol. Reprod. Dev*. 2003. 66. P. 17–23.

I. Tkachivska. SWINE EMBRYON TRANSPLANTATION: GENETIC PROGRESS AND PROSPECTS OF FUTURE TECHNOLOGIES

An overview of the application of new approaches to breeding and breeding work, which would accelerate the genetic improvement of populations in pig breeding. Developments on embryo transplantation in pigs in recent years are considered.

Key words: embryo transplantation, fertilization, sow, donor, recipient.