

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ФОРМИРОВАНИЯ УНИКАЛЬНОЙ ВРОЖДЕННОЙ ПОЛИДАКТИЛИИ У МИНИ-СВИНЕЙ

¹**С.П. Князев**, кандидат биологических наук, доцент,
действительный член Российской академии естественных наук

²**С.В. Никитин**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

^{1,3}**Ю.Д. Шмидт**, кандидат биологических наук, доцент

⁴**М.А. Травин**, кандидат медицинских наук, руководитель патоморфологической лаборатории

^{5,6}**М.А. Карпов**, кандидат медицинских наук, доцент

¹**О.С. Козлова**, старший преподаватель

¹**А.Е. Назаренко**, ветеринарный врач

¹**В.И. Ермолаев**, доктор биологических наук

¹Новосибирский государственный аграрный университет

²Институт цитологии и генетики СО РАН

³ГБУ «Областной центр ветеринарно-санитарного обеспечения»

Управления ветеринарии Новосибирской области

⁴АО «Европейский медицинский центр»

⁵НИИ клинической и экспериментальной лимфологии

⁶Новосибирский государственный медицинский университет

E-mail: knyzer@rambler.ru

Ключевые слова: мини-свиньи, полидактилия, морфогенез, гистология.

Реферат. Изучено формирование уникальной аномалии строения дистальных отделов конечностей – полидактилии у мини-свиней селекции Института цитологии и генетики (ИЦиГ) СО РАН. Проанализирована генеалогия двух исследованных животных с полидактилией – шестипалостью на передних (грудных) и задних (тазовых) конечностях – чёрного хряка и белой свинки. Она продемонстрировала наследственный характер проявления этой аномалии, различающийся в зависимости от способа разведения в ряде поколений. Анатомирование дистальных фрагментов конечностей двух полидактильных животных, выбракованных в возрасте 15 – 16 месяцев, показало формирование дифференцировки трофических структур кровоснабжения добавочных пальцев и сухожильно-связочного аппарата, в том числе связок мышцы-поднимателя пальца. Отпрепарированные образцы были обработаны для гистологического окрашивания и микроскопирования, которое позволило выявить интерьерные особенности формирования соединительной и костной тканей фаланг дополнительных пальцев на передних и задних конечностях, характерные для каждого из исследованных животных. Результаты обсуждаются в связи с актуальными вопросами ветеринарной патогенетики сельскохозяйственных животных и в контексте интереса классической и новейшей биологии к феномену полидактилии.

STUDY OF THE PROCESS OF FORMATION OF A UNIQUE CONGENITAL POLYDACTYLY IN MINI-PIGS

¹**S.P. Knyazev**, PhD in Biological Sciences, Associate Professor,
full member of the Russian Academy of Natural Sciences

²**S.V. Nikitin**, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher

^{1,3}**Yu.D. Schmidt**, PhD in Biological Sciences, Associate Professor

⁴**M.A. Travin**, PhD in Medical Sciences, Head of Pathomorphology Laboratory

^{5,6}**M.A. Karpov**, PhD in Medical Sciences, Associate Professor

¹**O.S. Kozlova**, Senior Lecturer

¹**A.E. Nazarenko**, Veterinarian

¹**V.I. Yermolaev**, Doctor of Biological Sciences

¹Novosibirsk State Agrarian University

²Institute of Cytology and Genetics SB RAS

³SBU "Regional centre of veterinary and sanitary support" Veterinary Administration
of the Novosibirsk region

⁴JSC "European Medical Center"

⁵Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology

⁶Novosibirsk State Medical University

E-mail: knyser@rambler.ru

Keywords: mini-pigs, polydactyly, morphogenesis, histology.

Abstract. The formation of a unique anomaly of the structure of the distal extremities – polydactyly in mini-pigs of the selection of the Institute of Cytology and Genetics (ICiG) SB RAS was studied. The genealogy of two looked animals with polydactyly (six-toed on the fore and hind limbs) - a black boar and a white pig, demonstrated the hereditary nature of the manifestation of this anomaly, differing depending on the method of breeding in several generations, is analysed. Anatomisation of distal fragments of the limbs of these two pigs culled at the age of 15-16 months showed the formation of differentiation of trophic structures of blood supply to the accessory fingers and tendon-ligamentous apparatus, including ligaments of the finger-lift muscle. The prepared samples were processed for histological staining and microscopy, which showed the interior features of the formation of connective and bone tissues of the phalanges of additional fingers on the fore and hind limbs, characteristic of each studied animal. The results are discussed in connection with topical issues of veterinary pathogenetics of farm animals and the context of the interest of classical and modern biology in polydactyly.

Домашняя свинья *Sus scrofa domesticus* L. является типичным представителем нежвачных парнокопытных – обладает на каждой ставшей в результате эволюции четырехпалой конечности двумя парами пальцев, заканчивающихся четко разделенными копытами, из которых третий и четвертый пальцы опираются на основные центральные копыта, а второй и пятый заканчиваются боковыми копытцами, выполняющими функцию дополнительной опоры. Это характерно и для грудных конечностей (в зоотехнии их обычно называют передними), и для тазовых (соответственно задних). На рис. 1 представлена схема строения скелета типичной кисти на примере дистального отдела правой грудной конечности нормальной свиньи.



Рис. 1. Схема скелета нормальной кисти правой грудной конечности свиньи *Sus scrofa* L. (цифрами обозначены порядковые номера пальцев)

Scheme of the skeleton of the average hand of the right thoracic limb of the pig *Sus scrofa* L. (the numbers indicate the serial numbers of the fingers)

У домашних свиней и их ближайших диких родичей - кабанов, принадлежащих к одному виду *Sus scrofa* L., известны случаи формирования разных аномалий развития конечностей,

прежде всего, полидактилии (многопалости), которая издавна привлекала внимание исследователей, поскольку может являться примером или атавизма (при полном или частичном восстановлении одного или нескольких пальцев, утраченных предками в процессе эволюции), или нарушения нормального онтогенеза [1]. Реже у свиней наблюдалась противоположная аномалия – синдактилия (слияние парных пальцев с образованием одного общего копыта).

Однако недавно именно она стала широко известна благодаря сообщениям [2] о выведении «методом генной инженерии» на сельскохозяйственном факультете Еврейского университета в Реховоте (Израиль) «породы» свиней с нераздвоенным копытом – авторы презентовали их как пригодных для преодоления религиозных запретов иудаизма на потребление свинины.

Также известны и феномены с более резкими нарушениями нормальной морфологии конечностей *Sus scrofa* – как, например, на фотографии Edmunds Busmanis (рис. 2) фактически «удвоенных» дистальных отделов на каждой из грудных конечностей добытого латвийскими охотниками дикого кабана. Это фото опубликовано недавно в сети Интернет на сайте латвийского СМИ [3] под вопросительным заголовком – является ли эта аномалия проявлением тератогенного реагирования природы на воздействие современной цивилизации?



Рис. 2. Аномальные грудные конечности у дикого кабана с дополнительными кистями (фото Edmunds Busmanis [2])

Abnormal thoracic limbs in a wild boar with additional hands (photo by Edmunds Busmanis [2])

У нормальных кабанов, как и их одомашнированных родичей свиней, формируются две пары копыт на каждой конечности – пара центральных крупных (которыми оканчиваются 3-й и 4-й пальцы) и пара боковых «копытец» (на 2-м и 5-м пальцах) – они оставляют «четверные» отпечатки следа каждой ноги, отличающиеся от большинства остальных парнокопытных, у которых отпечатываются следы только двух центральных копыт каждой конечности (рис. 3).

Два года назад мы опубликовали в «Вавиловском журнале генетики и селекции» статью «Необычная врожденная полидактилия мини-свиней селекционной группы ИЦиГ СО РАН» [4] с описанием впервые обнаруженной патологии строения дистальных отделов конечностей – полидактилии (многопалости) у мини-свиней селекционной группы, разводимой в Институте цитологии и генетики (ИЦиГ) СО РАН. Необычна эта аномалия тем, что, в отличие от выявлявшихся иногда ранее у домашних свиней случаев [5–8] медиальной (преаксиальной) полидактилии (с прибылыми пальцами на внутренней стороне конечностей), дополнительные пальцы у мини-свиней ИЦиГ располагаются либо только на латеральной (т.е. наружной, боковой) стороне кистей и стоп – тогда формируется пятипалая конечность; либо и на латеральной,

и на медиальной сторонах – при этом формируется шестипалая полидактилия. В этих случаях шестипалости прибылые пальцы имели разную степень выраженности: латеральные дополнительные пальцы были гораздо более выраженными, чем медиальные.



Рис. 3. Схема следов некоторых парнокопытных (сверху вниз – олень, косуля, кабан)
Scheme of tracks of some artiodactyls (from top to bottom - deer, roe deer, wild boar)

В упомянутой статье [4] нами описана феноменология фенотипического проявления полидактилии у мини-свиней селекции ИЦиГ, её цитологические, гибридологические и генетические аспекты (в том числе по итогам анализа специальной литературы). Обсуждалось также и возможное значение полидактилии как маркера селекционного процесса воспроизводства генетически изолированной микропопуляции мини-свиней. Их разводят как лабораторную биомодель для генетических исследований и медико-биологических экспериментов с целью возможного применения в новейших технологиях ксенотрансплантаций и т.п. [9–12]. Однако в процессе редакционной подготовки рукописи и общения с редактором и рецензентами авторам были высказаны рекомендации продолжить углубленное изучение обнаруженной аномалии, в том числе выяснить морфологические и гистологические особенности формирования дополнительных пальцев у мини-свиней в фило- и онтогенезе. Попытка ответов на эти пожелания и стала целью исследований, результаты которых приведены в настоящем сообщении.

Объектом для настоящего исследования послужили мини-свиньи селекции ИЦиГ СО РАН, которые содержатся и разводятся на экспериментальной базе (п. Каинка Новосибирского сельского района Новосибирской области) в качестве лабораторных биомodelей для медико-биологических исследований. Материалом послужили две особи – хрячок и свинка, рождённые в августе 2019 г. в разных помётах, у которых обнаружена врождённая полидактилия с шестипалостью на всех четырёх конечностях. Это свинка белой масти под номером 4654 и чёрный хрячок под номером 4699. Были составлены их графические родословные на основании материалов зоотехнического учёта для генеалогического анализа. В возрасте 15 и 16 месяцев эти животные были выранжированы из племенного ремонта в результате выбраковки по селекционируемым модельным признакам («слабые на ногах») и после забоя дистальные отделы их шестипалых конечностей изучены морфологически, включая компьютерную рентгенографию (с помощью аппарата ерх-f3200), подвергнуты анатомическому препарированию прибылых пальцев грудных (передних) и тазовых (задних) конечностей с последующим гистологическим исследованием выделенных образцов тканей. Для этого образцы тканей отпрепарированных добавочных пальцев фиксировали в 10 %-м нейтральном формалине и декальцинировали в кислотном декальцинирующем растворе, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в парафин. Из каждого образца на микротоме марки Microm HM 355S (Thermo Scientific, США) готовили по 4-6 срезов толщиной 5-6 мкм [13–15]. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Морфологическое исследование проводили с

использованием светового микроскопа фирмы Leica DM3000, Великобритания, при комбинированном увеличении в 50, 100 и 200 раз.

Феноменология полидактилии и генеалогический анализ объектов исследования. Две особи мини-свиней были отобраны как обладающие уже с рождения ярко выраженной полидактилией на всех четырёх конечностях и происходящие от предков, часть которых также обладала этой аномалией.

Первое из двух животных – хрячок чёрной масти с небольшими белыми отметинами на венчиках возле копыт с инвентарным номером 4699 родился 01.08.2019 в гнезде номер 4 от мини-свиноматки номер 7954 (с пятипалостью только на передних ногах) и мини-хряка номер 3295, который обладал нормальными конечностями, но сам происходил от отца с полидактилией. Этот поросёнок впервые был сфотографирован нами в возрасте 7 дней, и на рис. 4, а отчётливо видны на его грудных (передних) конечностях дополнительные пальцы сверх нормального комплекта, хотя эти прибылые пальцы уже в перинатальный период онтогенеза обладали разной степенью выраженности: латеральные были значительно крупнее медиальных, которые проявлялись в первые дни жизни хрячка еще как зачатки. Для сравнения рядом (см. рис. 4, в) видны передние конечности его ровесника – хрячка масти агути из гнезда номер 6 – тоже с полидактилией, но с пятипалой – у него имеется только по одному дополнительному латеральному пальцу на каждой грудной конечности. У хрячка же 4699 шестипалыми были все четыре конечности. В процессе дальнейшего роста его прибылые пальцы формировались до степени, достигшей к возрасту 15 месяцев изображенной на рис. 4, б: латеральный (он обозначен цифрой 6), как и сразу после рождения, ярче и сильнее выражен с более сформированным копытом, по сравнению с медиальным (обозначенным цифрой 1). Интересно, что два однопомётника этого хрячка также родились с полидактилией: они также обладали шестипалостью на всех четырёх конечностях, и медиальные (первые) пальцы находились в зачаточном состоянии, но всё же явно проявлялись по сравнению со сверстниками, обладавшими пятипалостью и имевшими только латеральные добавочные пальцы.



Рис. 4. Пример онтогенеза латеральной и двусторонней полидактилии у мини-свиней: а – поросёнок 4699 в возрасте 7 дней: на передних (грудных) конечностях видно по 2 прибылых пальца – латеральные (обозначенные как 6) выражены сильнее, чем медиальные (обозначены как 1); б – копыта правой передней (грудной) конечности этого же хряка в возрасте 15 месяцев: 1 и 6 – номера пальцев; в – передние (грудные) конечности поросёнка из гнезда 6 в возрасте 6 дней: латеральная полидактилия с пятипалостью – с одним дополнительным пальцем на каждой ноге

An example of the ontogenesis of lateral and bilateral polydactyly in mini-pigs: а – piglet 4699 at the age of 7 days: 2 dewclaws are visible on the forelimbs (thoracic) - the lateral ones (marked as 6) are more pronounced than the medial ones (marked as 1); б – hooves of the right fore (thoracic) limb of the same boar at the age of 15 months: 1 and 6 – toe numbers; в – forelimbs (thoracic) of a piglet from nest six at the age of 6 days: lateral polydactyly with five-toed fingers – with one extra toe on each leg

Вторая исследованная особь – белой масти свинка номер 4654 – родилась 04.08.2019 от другой пары мини-свиней (отец 7753, мать 3700); она так же, как и хрячок, была выбракована по причине «слабых ног» и забита в возрасте 16 месяцев (при живой массе в этом возрасте 55 кг), после чего мы использовали дистальные отделы её конечностей в настоящем исследовании. У неё также выявлена полидактилия – на всех четырёх шестипалых конечностях уже при рождении было по два дополнительных пальца, так же, как у черного хрячка, латеральные (шестые) выражены у неё были сильнее, чем медиальные (первые), и различия сохранились вплоть до возраста выбраковки. Но степени выраженности и развития прибылых пальцев у свинки и хрячка заметно различались, как будет показано ниже.

Данные зоотехнического учёта происхождения этих двух особей позволили построить генеалогическую схему (рис. 5), из которой видно, что они являются достаточно близкими родственниками – двоюродными братом и сестрой: мать черного хрячка 4699 – свиноматка номер 7954(92) и мать белой свинки 4654 – свиноматка номер 7154(16) происходят от одной и той же свиноматки под номером 14.5(2).

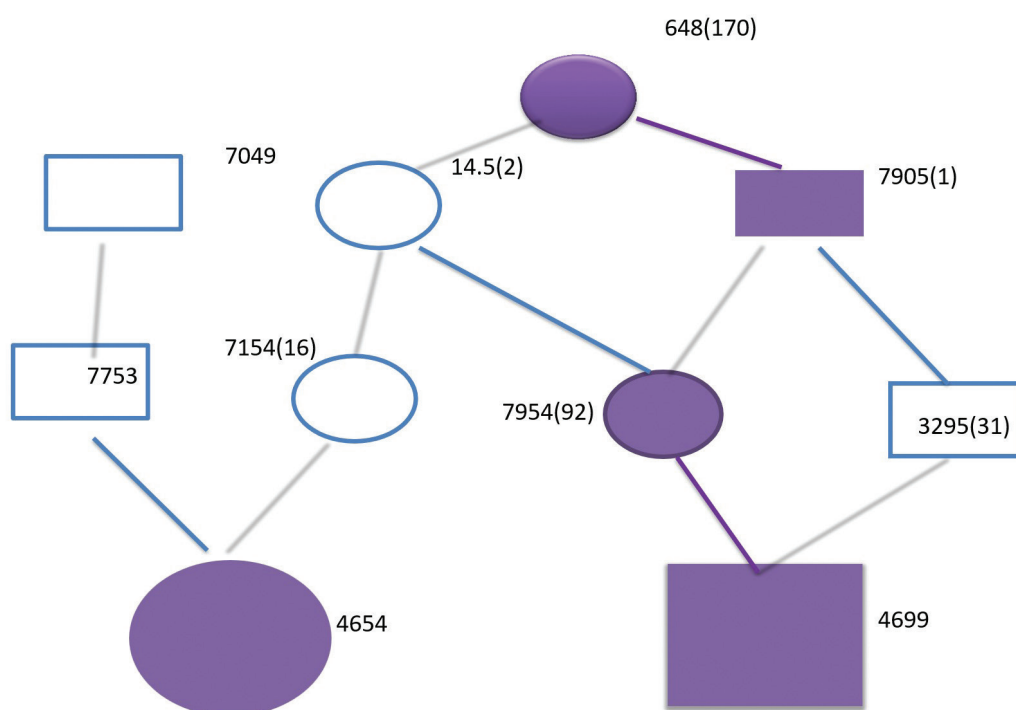


Рис. 5. Генеалогическая схема происхождения изученных мини-свиней с полидактилией. Обозначения: прямоугольники – самцы, кружки – самки, закрашенные символы – животные с полидактилией

Genealogical diagram of the origin of the studied mini-pigs with polydactyly. Designations: rectangles – males, circles – females, filled symbols – animals with polydactyly

Однако генеалогический анализ схемы, приведенной на рис. 5, показывает, что происхождение полидактилии двух исследованных свиней является результатом применения разных способов их выведения: черный хряк 4699 является последним звеном в цепи четырёх смежных поколений мини-свиней, в каждом поколении полидактилия проявлялась – начиная с его прабабки номер 648 (170), от которой полидактилию унаследовал её сын 7905(1) – дед чёрного хрячка 4699, «передавший» эту аномалию своей дочери 7954(92), от которой и родился изученный нами пробанд. Он, кстати, получен методом тесного инбридинга – от скрещивания «брат x сестра»: детьми полидактильного хряка 7901(1) являлись и его полидактильная мать, и отец (который хоть и обладал нормальным по конечностям фенотипом, но определённо унаследовал в гетерозиготном состоянии часть отцовской аномальной наследственности). Таким

образом, в процессе четырёх смежных поколений происходила консолидация наследственной обусловленности полидактилии, проявившейся в итоге в фенотипе черного хрячка 4699. Его сверстница и двоюродная сестра свинка белой масти 4654 – хоть и является правнучкой той же родоначальницы семейства полидактильных мини-свиней под номером 648(170), которая является прабабкой и чёрного хряка 4699, но её происхождение оказалось существенно иным: от полидактильной прабабки её отделяют два поколения предков, у которых не было проявлений этой аномалии конечностей, и она не была получена столь тесным инбридингом, как её «кузен» 4699.

Таким образом, шестипалость у этой свинки «выщепилась» после скрещиваний в течение двух поколений её фенотипически «нормальных» предков.

На рис. 6 приведены две расширенные генеалогические схемы их происхождения, каждая из восьми смежных поколений предков-потомков: видно, что они не только происходят от одной и той же полидактильной прабабки 648(170), но имеют и других общих предков в более отдаленных рядах родословных, восходящих к общему родоначальнику – хряку номер 207(53), отстоящему на семь поколений от этих двух изученных пробандов.

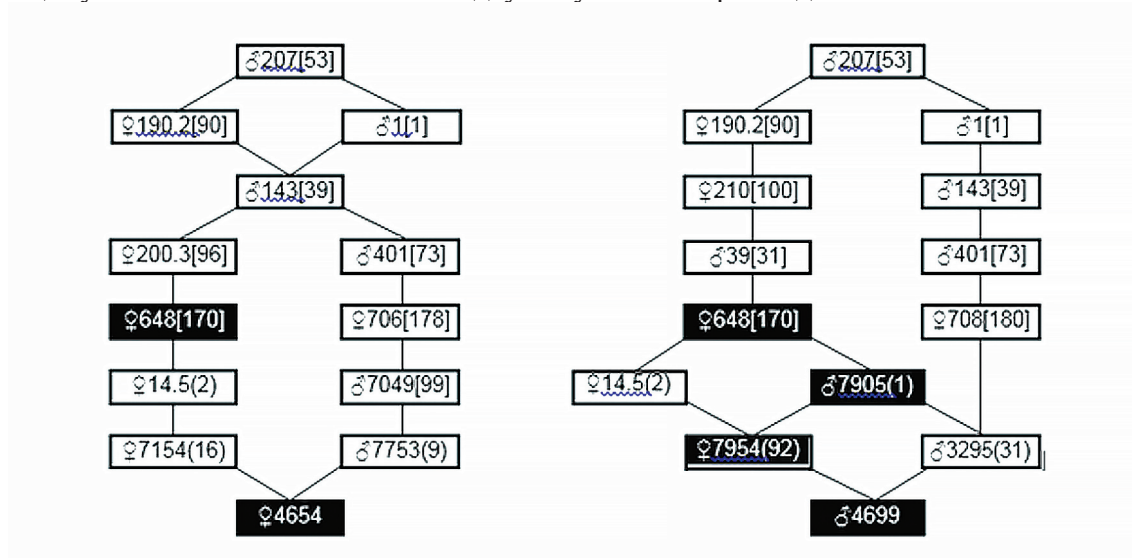


Рис. 6. Расширенные родословные происхождения изученных мини-свиней с полидактилией. Обозначения: чёрные прямоугольники – животные с аномалией числа пальцев

Extended pedigrees of origin of the studied minipigs with polydactyly. Designations: black rectangles – animals with an anomaly in the number of fingers

Очевидно, выявленные генеалогическим анализом различия в происхождении двух полидактильных шестипалых пробандов могут служить объяснением различий в морфогенезе их на первый взгляд идентичной аномалии, которые подробно рассмотрим в следующих разделах.

Феноменология. Морфогенез полидактилии. У чёрного хряка 4699 шестипалыми были все четыре конечности, но на них латеральные добавочные пальцы начиная с раннего постнатального периода вплоть до 15-месячного возраста отличались большей степенью выраженности по сравнению с медиальными. На рис. 7, а представлена пальмарная поверхность дистального отдела его грудной правой ноги: обращает на себя внимание крупный латеральный добавочный палец (6-й), относительно небольшой по сравнению с ним добавочный медиальный (1-й), при том, что эти пальцы уступали и размерами, и степенью сформированности «нормальным» для конечностей свиней паре центральных основных опорных пальцев (3-й и 4-й) с ненормально деформированными копытами и паре боковых (2-й и 5-й) пальцев с копытцами.

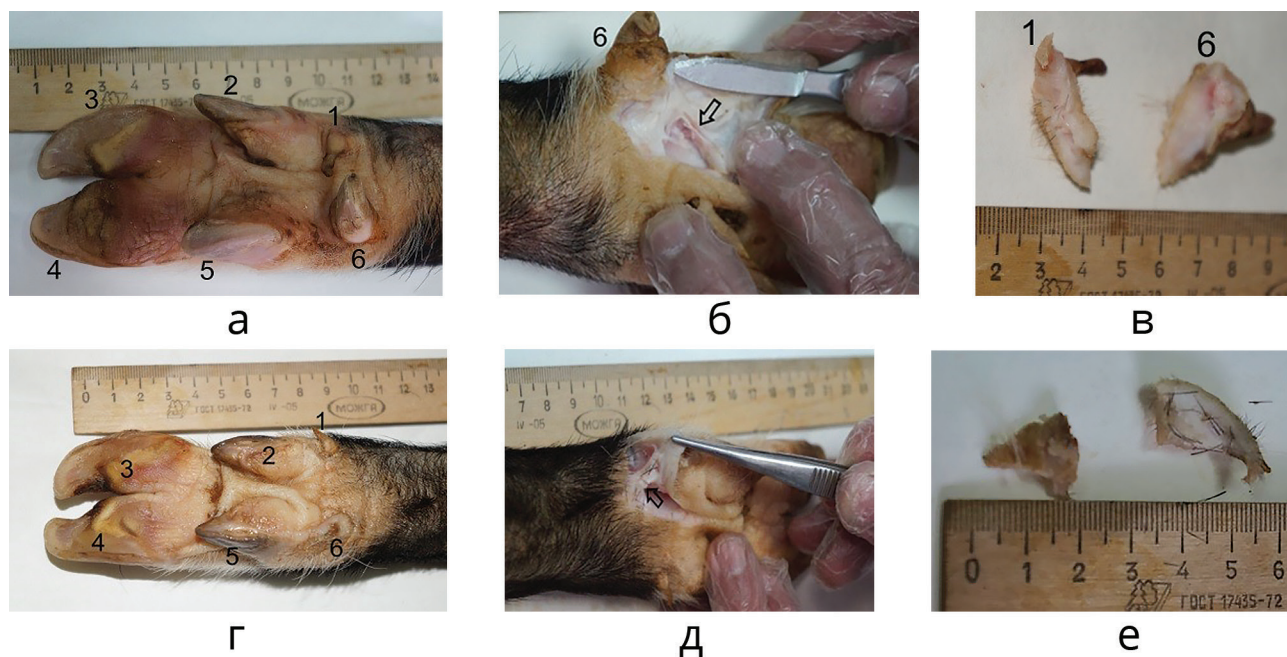


Рис. 7. Внешний вид и препарирование конечностей хряка 4699 с полидактилией: а - пальмарная поверхность дистального отдела грудной (передней) правой ноги (цифрами обозначены шесть пальцев); б - препарирование добавочного латерального пальца грудной (передней) правой ноги: скальпелем выделена связка (указана стрелкой) мышцы-поднимателя добавочного 6-го пальца; в - отпрепарированные добавочные пальцы этой же грудной правой ноги (справа латеральный 6-й, слева медиальный 1-й); г - плантарная поверхность дистального отдела тазовой (задней) правой конечности, цифры - порядковые номера пальцев; д - препарирование латерального добавочного (6-го) пальца этой конечности и выделение связки (указана стрелкой) поднимаателя пальца; е - отпрепарированные добавочные пальцы этой конечности (слева латеральный, справа медиальный)

Appearance and dissection of the limbs of boar 4699 with polydactyly: а – palmar surface of the distal part of the thoracic (front) right leg (numbers indicate six toes); б – dissection of the accessory lateral toe of the thoracic (front) right leg: the ligament (indicated by the arrow) of the levator muscle of the accessory 6th toe is isolated with a scalpel; в – prepared accessory toes of the same thoracic right leg (lateral 6th on the right, medial 1st on the left); д – plantar surface of the distal part of the pelvic (hind) right limb, numbers – serial numbers of the fingers; е – preparation of the lateral accessory (6th) finger of this limb and isolation of the ligament (indicated by the arrow) of the levator digit; е – prepared accessory fingers of this limb (lateral on the left, medial on the right)

Рис. 7, б иллюстрирует препарирование добавочного латерального (6-го) пальца этой же ноги: скальпелем выделена связка мышцы-поднимателя добавочного пальца. На рис. 7, в представлены отпрепарированные для гистологического исследования добавочные пальцы этой ноги (справа – латеральный 6-й, слева - медиальный 1-й). На рис. 7, г показана плантарная поверхность дистального отдела тазовой (задней) правой ноги этого полидактильного хряка с шестипалостью. Видно, что 3-й основной опорный палец заканчивается деформированным искривленным копытом. На рис. 7, д зафиксировано препарирование латерального добавочного (6-го) пальца этой ноги и выделение связки поднимаателя пальца, а на рис. 7, е – отпрепарированные для гистологического исследования добавочные пальцы этой конечности.

На рис. 8, а приведено рентгенографическое изображение дистальных отделов грудных (передних) конечностей хряка 4699 с полидактилией: вверху – латеральная поверхность, внизу – медиальная; видны чёткие изображения трёх фаланг дополнительного латерального 6-го пальца, а у медиального добавочного (1-го) – только две фаланги; пониженная контрастность изображения их костей свидетельствует о сравнительно меньшей сформированности этого добавочного пальца на грудной шестипалой конечности к 15-месячному возрасту чёрного хряка с полидактилией. Аналогичная рентгенография его тазовых конечностей в боковой проекции (см. рис. 8, б) убедительно демонстрирует, что оба дополнительных пальца на этих (также ше-

стипалых) ногах имеют, в отличие от грудных, анатомическую основу из одной фаланги, хотя каждая из них, судя по контрастности изображения, также представлена сформировавшейся костной тканью.

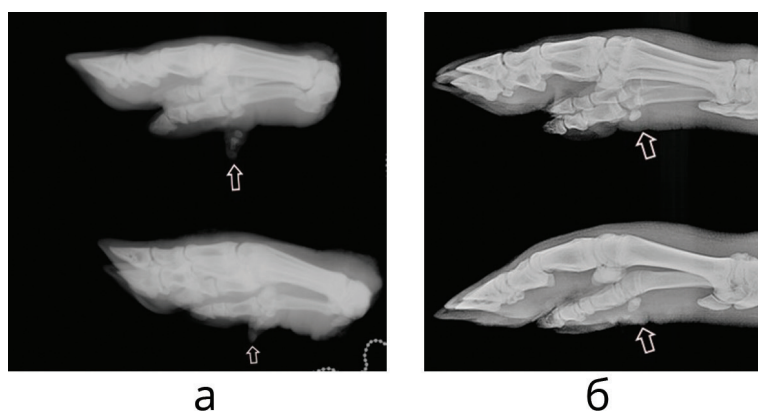


Рис. 8. Рентгенография дистальных отделов конечностей хрячка 4699 с полидактилией в возрасте 15 месяцев в боковой проекции. Стрелки указывают на фаланги добавочных пальцев; а – грудные (передние) конечности; б – тазовые (задние) конечности

X-ray of the distal limbs of boar 4699 with polydactyly at 15 months in the lateral projection. Arrows point to the phalanges of the accessory fingers: а – pectoral (fore) limbs; б – pelvic (hind) limbs

Второе изученное в настоящем исследовании животное с врождённой полидактилией – двоюродная сестра хрячка, белой масти свинка номер 4654 – обладала сходной аномалией строения конечностей, также шестипалых. Рис. 9, а демонстрирует пальмарную поверхность дистального отдела её левой передней (грудной) ноги с двумя добавочными пальцами – большим добавочным латеральным (6-й палец) и меньшим добавочным медиальным (1-й палец), пара основных опорных пальцев (3-й и 4-й) заканчиваются заметно деформированными (искривлёнными) копытами – по-видимому, вследствие ненормальной для обычной свиньи шестипалости. Вид её тазовых (задних) конечностей с каудальной стороны проиллюстрирован на рис. 9, б: видно, что латеральные добавочные пальцы и на задних ногах полидактильной свинки заметно более сформированные, чем медиальные.

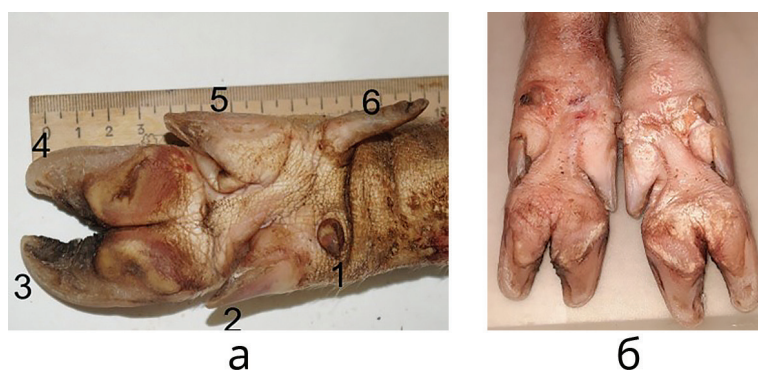


Рис. 9. Внешний вид дистальных отделов конечностей белой свинки 4654 в возрасте 16 месяцев: а – пальмарная поверхность дистального отдела левой грудной (передней) конечности с шестипалой полидактилией. Цифрами обозначены порядковые номера пальцев: добавочных (латеральный 6-й, медиальный 1-й) и основных (3-й и 4-й – пара основных опорных пальцев, 2-й и 5-й – боковые пальцы); б – каудальная поверхность тазовых (задних) конечностей с шестипалой полидактилией (слева – левая, справа – правая)

The appearance of the distal limbs of white pig 4654 at the age of 16 months: a - palmar surface of the distal left thoracic (fore) limb with six-fingered polydactyly. The numbers indicate the serial numbers of the fingers: additional (lateral 6th, medial 1st) and central (3rd and 4th - a pair of main supporting fingers, 2nd and 5th - lateral fingers); b - the caudal surface of the pelvic (hind) limbs with six-fingered polydactyly (left - left, right - right)

На рис. 10 приведены последовательные этапы препарирования передней (грудной) левой конечности этой свинки 4654 по её состоянию на возраст 16 месяцев. Рис. 10, а показывает выделение связки мышцы-поднимателя добавочного латерального (шестого) пальца; рис. 10, б представляет её фиксированную пинцетом; рис. 10, в иллюстрирует доказательства сформированной полноценной кровеносной сети этого добавочного пальца (видно красное пятно капилляров на срезе подкожной клетчатки); на рис. 10, г показаны оба отпрепарированных добавочных пальца, подготовленных для гистологического исследования.

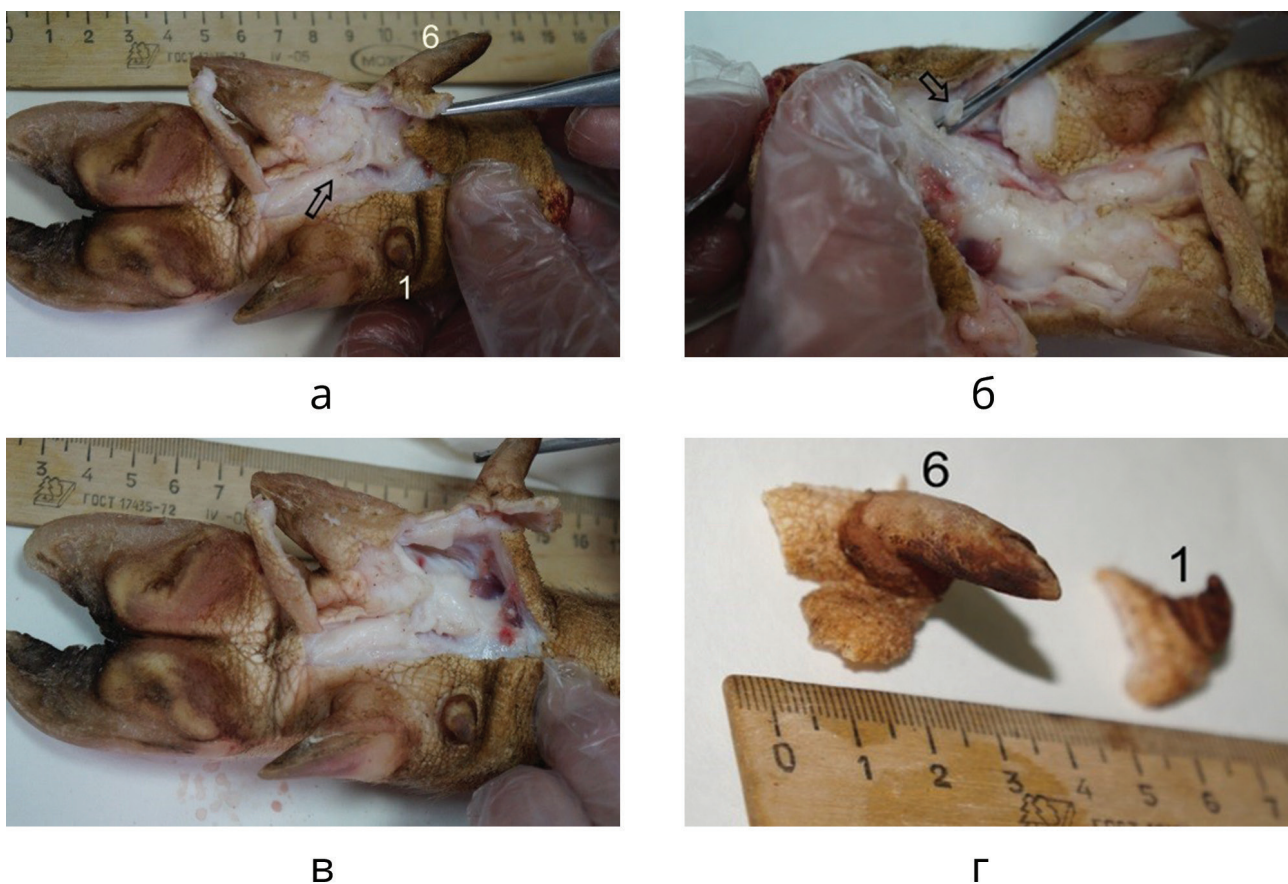


Рис. 10. Препарирование грудной левой конечности белой свинки 4654 с полидактилией в возрасте 16 месяцев: а – препарирование связки (указана стрелкой) мускула-поднимателя добавочного латерального (шестого) пальца (1 – добавочный медиальный палец); б – пинцет фиксирует изолированную связку (указана стрелкой) поднимающего добавочного латерального пальца; в – красные пятна на срезе – формирование капиллярной сети подкожной клетчатки добавочного латерального пальца; сформирована полноценная кровеносная сеть в добавочном пальце; г – отпрепарированные добавочные пальцы (латеральный слева, медиальный справа) для гистологического исследования

Dissection of the left thoracic limb of the white pig 4654 with polydactyly at the age of 16 months: a - dissection of the ligament (indicated by an arrow) of the levator muscle of the accessory lateral (sixth) finger (1 - accessory medial finger); b - tweezers fix the isolated ligament (indicated by the arrow) of the levator of the accessory lateral digit; c - red spots on the section - formation of the capillary network of the subcutaneous tissue of the accessory lateral finger; a complete vascular network has been formed in the accessory finger; d - prepared accessory fingers (lateral on the left, medial on the right) for histological examination

Рентгенография конечностей этой свинки представлена на рис. 11: достаточно чётко выделяются кости добавочных пальцев и на грудной (передней), и на тазовой (задней) конечностях, но, в отличие от чёрного хряка, у свинки каждый из пальцев представлен только одной фалангой.

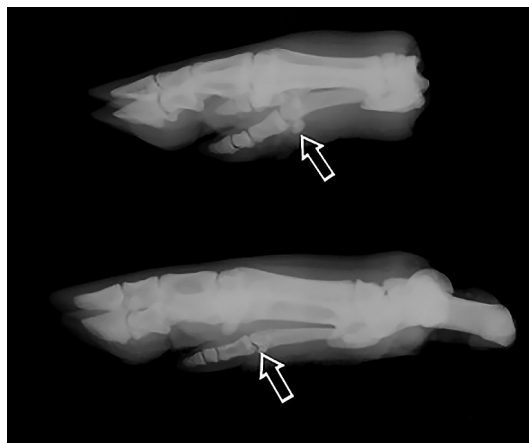


Рис. 11. Рентгенография дистальных отделов грудной (вверху) и тазовой (внизу) конечностей свинки 4654 в боковой проекции; стрелки указывают на фаланги дополнительных пальцев

X-ray of the distal thoracic (top) and pelvic (bottom) limbs of pig 4654 in a lateral projection; arrows point to phalanges of additional fingers

Таким образом, препарирование и рентгенография дистальных отделов полидактильных конечностей демонстрируют сходные процессы формирования и дифференциации добавочных пальцев, происходящие в постнатальном онтогенезе обеих исследованных мини-свиней, но вскрывают и различия в степени выраженности аномалии. Приведенные ниже результаты гистологического анализа подтверждают эти предварительные выводы.

Гистологический анализ препаратов из образцов тканей добавочных пальцев белой свинки 4654. На микрофотографиях рис. 12 изображены окрашенные препараты срезов добавочных пальцев грудной конечности: на рис. 12, а – увеличенное (x50) изображение среза эпидермиса: чётко видно формирование кожных покровов добавочного пальца; рис. 12, б демонстрирует костные балки, окруженные пролиферирующим остеοидом и островками хрящевой ткани, а рис. 12, в – островки частично обезызвествленного хряща: видны разные степени дифференцировки соединительной ткани – матрицы, из которой формируется кость. На рис. 12, г изображена зрелая кость – видны костные пластинки, погруженные в фибробластную матрицу и остеοциты, на рис. 12, д – более тонкий слой эпидермиса, глубоко расположенные волосяные фолликулы (увеличение x50): видно формирование трофических связей (питание костной ткани); рис. 12, е демонстрирует зрелую кость фаланги добавочного пальца.

Наконец, на рис. 13 приведена микрофотография пластинки со срезом добавочного пальца на тазовой (задней) конечности этой свинки: виден островок кости в процессе формирования фаланги, отмечены остеοиды в разной степени созревания.

Гистологический анализ препаратов из образцов тканей добавочных пальцев грудной (передней) конечности чёрного хряка 4699. На рис. 14, а наглядно представлены костные балки, окруженные пролиферирующим остеοидом и островками хрящевой ткани препарата добавочного пальца в процессе его роста: обозначены базофильные костные балки, пролиферирующая хрящевая ткань, очаги хрящевой ткани, зрелая кость и соединительная ткань.

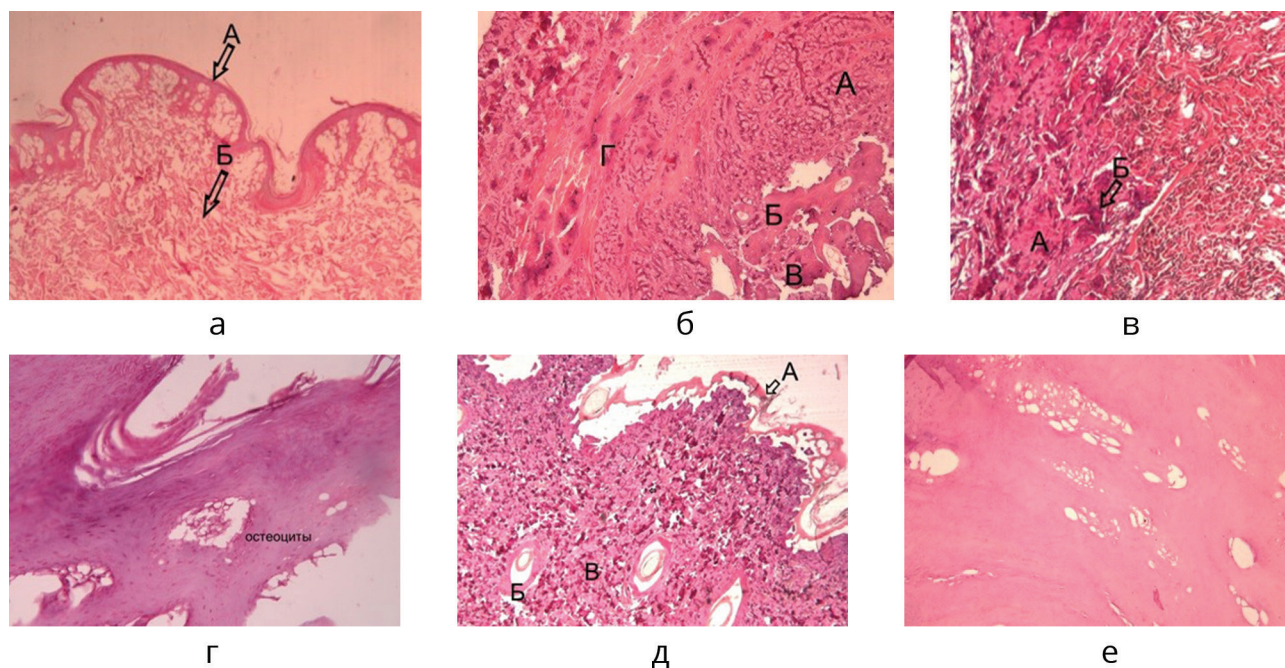


Рис. 12. Гистологические препараты добавочных пальцев грудной конечности свинки 4654: а – формирование кожных покровов добавочных пальцев (увеличение x50): А – эпидермис, Б – дерма; б – костные балки, окруженные пролиферирующим остеонидом и островками хрящевой ткани (увеличение x100): А – костная ткань в процессе созревания, Б – костные пластинки зрелой ткани, В – трабекулы, питающие кровью костную ткань, Г – тяжи хрящевой ткани; в – островки частично обызвествленного хряща (увеличение x50): А – хрящевая ткань (окрашена в розовый цвет), Б – очаги обызвествления хряща (темно-красный цвет, указывает стрелка); г – зрелая кость (увеличение x50); д – тонкий слой эпидермиса, глубоко расположенные волосяные фолликулы (увеличение x50): А – эпидермис, Б – фолликулы, В – коллаген кожи; е – зрелая кость на срезе фаланги добавочного пальца (увеличение x50)

Histological preparations of the accessory digits of the thoracic limb of pig 4654: а – formation of the skin of the accessory digits (magnification x50): А – epidermis, Б – dermis; б – bone beams surrounded by proliferating osteoid and islands of cartilage tissue (magnification x100): А – bone tissue in the process of maturation, Б – bone plates of mature tissue, C – trabeculae feeding bone tissue with blood, D – cords of cartilage tissue; c – islands of partially calcified cartilage (magnification x50): А – cartilaginous tissue (painted pink), В – foci of cartilage calcification (dark red, arrow indicates); d – mature bone (magnification x50); e – thin layer of epidermis, deeply located hair follicles (magnification x50): А – epidermis, В – follicles, C – skin collagen; e – mature bone on the section of the phalanx of the accessory finger (magnification x50)

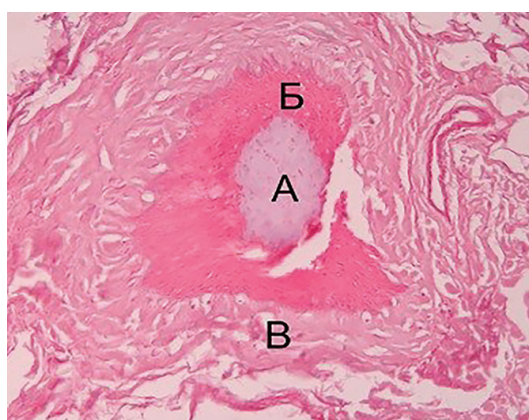


Рис. 13. Островок кости на срезе препарата добавочного пальца тазовой конечности свинки 4654 (увеличение x50): А – формирующийся остеонид, Б – созревающий остеонид, В – соединительная ткань

An island of bone on a section of preparation of an accessory finger of the pelvic limb of a pig 4654 (magnification x50): А – forming osteoid, В – maturing osteoid, C – connective tissue

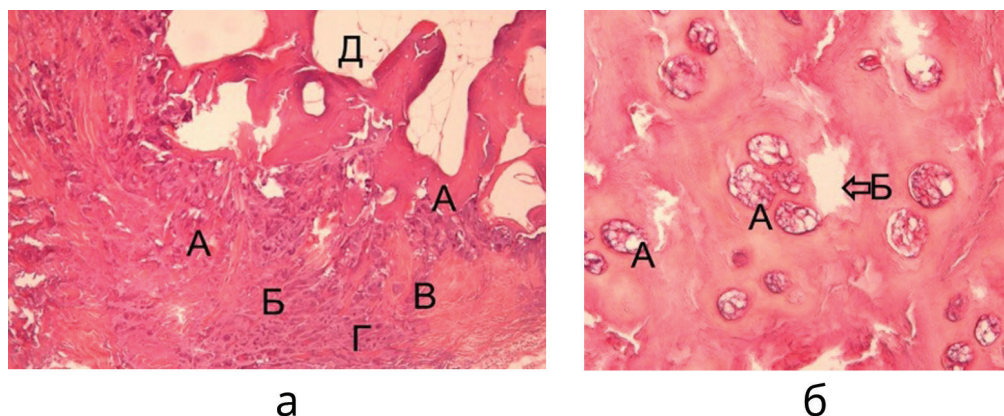


Рис. 14. Гистологические препараты добавочных пальцев грудной конечности чёрного хряка 4699: а – костные балки, окруженные пролиферирующим остеοидом и островками хрящевой ткани в процессе роста: А – базофильные костные балки, Б – пролиферирующая хрящевая ткань, В – соединительная ткань, Г – очаги хрящевой ткани, Д – зрелая кость; б – зрелая кость с лакунами (увеличение x50) на стадии финальной дифференцировки: А – островки костной ткани, Б – лакуны костного матрикса

Histological preparations of the accessory digits of the thoracic limb of black boar 4699: а – bone beams surrounded by proliferating osteoid and islands of cartilaginous tissue during growth: А – basophilic bone beams, Б – increasing cartilaginous tissue, В – connective tissue, Г – foci of cartilaginous tissue, Д – mature bone; б – mature bone with lacunae (magnification x50) at the stage of final differentiation: А – islands of bone tissue, Б – lacunae of bone matrix

Рис. 14, б демонстрирует зрелую кость среза фаланги добавочного пальца с костными балками и лакунами на стадии финальной дифференцировки.

Результаты генеалогии исследованных двух мини-свиней с полидактилией наглядно демонстрируют наследственную обусловленность данной аномалии строения их конечностей. При этом выявлены различия в проявлении полидактилии в ряду поколений в зависимости от способа разведения мини-свиней: в случае близкородственного спаривания особей с аномальными копытами и накопления наследственности аномальных родоначальников в генотипах потомков полидактилия проявляется во всех смежных поколениях, а при отсутствии такого тесного инбридинга и при спаривании относительно неродственных животных без полидактилии аномалия проявилась спустя несколько поколений фенотипически «нормальных» свиней.

Морфологический анализ шестипалой полидактилии изученных хряка и свинки показал явно неравную степень развития их добавочных латеральных и медиальных пальцев: латеральные выделялись как большими размерами, так и более чёткой дифференцированностью и развитием всех типичных структур, включая копытца, тогда как медиальные добавочные пальцы были по сравнению с ними в зачаточном состоянии. Патолого-анатомическое препарирование конечностей исследованных двух особей продемонстрировало и зафиксировало на представленных выше фотографиях явное формирование морфологических структур дифференцировки добавочных пальцев – кровеносной системы для трофического обеспечения этой новой структуры, а также чётко развитого сухожилия мускула-поднимателя пальца. Полученные при гистологическом исследовании данные демонстрируют, что в коже добавочных пальцев грудных (передних) конечностей белой мини-свинки слой эпидермиса и роговой слой были тонкими, обнаруживали большое количество глубоко расположенных волосяных фолликулов и роговые кисты, тогда как в добавочных пальцах задних (тазовых) конечностей слой эпидермиса и роговой слой были более широкими, базальный слой образовывал акантотические тяжи. В структуре добавочных пальцев, под слоем дермы грудных конечностей этой свинки обнаруживали формирующуюся костную ткань из хаотичных костных балок, окруженную частично обызвествленной хрящевой тканью. Однако в препарате добавочного пальца задней (тазовой) конечности на границе дермы и подкожной клетчатки в одном поле зрения был обнаружен

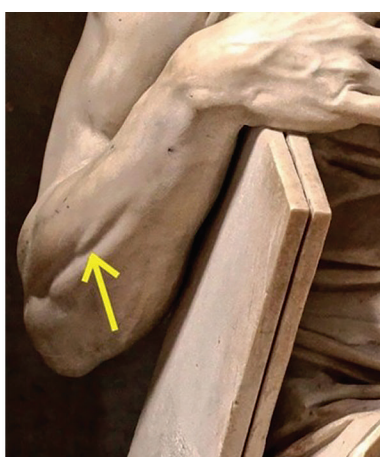
одиноким островком костной ткани. В строении добавочных пальцев задних (тазовых) конечностей чёрного мини-хряка костной ткани не обнаружено, в сравнении с добавочными пальцами задних конечностей белой свинки слой эпидермиса и роговой слой были тоньше, однако базальный слой формировал тонкие акантотические тяжи. На границе дермы и жировой ткани добавочных пальцев передних (грудных) конечностей чёрного мини-хряка обнаруживали зрелую костную ткань из костных балок с лакунами, содержащими соединительную и жировую ткань, массива пластинчатой кости. Костная ткань добавочных пальцев передних конечностей этого чёрного мини-хряка была окружена пролиферирующей, частично обызвествленной хрящевой тканью и остеобластами, костными балками с расположенными между ними лакунами.

В связи с отмеченным фактом выделения нами при препарировании полидактильных конечностей сухожилия мускула-поднимателя добавочного пальца – уместно привести сравнение с широко известной особенностью изваянной в 1513 – 1515 гг. великим гением эпохи Возрождения Микеланджело скульптуры Моисея, поддерживающего одной рукой «скрижали с заветами»: гениальность этого выдающегося достижения мирового искусства подчёркивается именно тщательной проработкой мышцы-поднимателя мизинца (рис. 15). Эта деталь рассматривалась рядом исследователей, в том числе основателем психоанализа З. Фрейдом [16], как важнейшее средство выражения «застывшего движения» скульптуры, как проявление воли и силы духа изображенного героя. На рис. 15, в выделена деталь правой руки Моисея: синей окружностью обведен мускул подниматель мизинца (*extensor digiti minimi*), который сокращается только тогда, когда мизинец приподнимается. Красные стрелки указывают на слегка приподнятый мизинец Моисея, придерживающего скрижали.

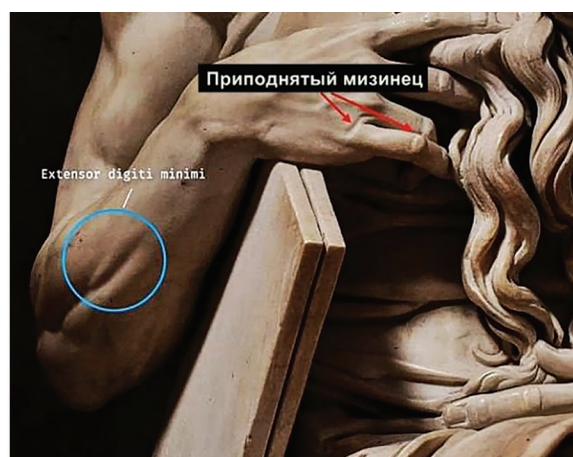
Значимость самого явления полидактилии – не только для изобразительного искусства, но прежде всего для биологии – обусловлена тем, что эта аномалия оказалась [5] популярной моделью в эволюционной биологии развития последних десятилетий, особенно в новейшую эпоху сбора баз данных по молекулярной регуляции формирования конечностей, предоставляющих возможности в биоинформатике симуляций развития нормальных и изменённых пальцев [5]. Это открывает новые подходы к изучению феномена полидактилии, привлекающего внимание множества исследователей. Так, в библиотеке Йельского Университета, начиная с 2011 г. ежегодно добавляется более 1000 новых публикаций по этой тематике [5].



а



б



в

Рис. 15. Скульптура Микеланджело «Моисей» (а); деталь скульптуры с тщательной проработкой мышцы-поднимателя мизинца (б; в)

Michelangelo's sculpture "Moses" (а); detail of the sculpture with careful detailing of the levator digitorum muscle (б)

Самое выдающееся открытие, связанное с полидактилией в современной биологии – открытие серии мутаций генов-«ёжиков» SHH, sonic hedgehog (названных в честь ёжика Соника, героя комиксов и компьютерных игр), регулирующих виды преаксиальной полидактилии и играющих важную роль в эмбриональном развитии. За открытие серии генов-«ёжиков», включая SHH, в 1995 г. была присуждена Нобелевская премия Эрику Вишаусу вместе с Эдвардом Льюисом и Кристианой Нюсляйн-Фольхард «за открытия, касающиеся генетического контроля на ранней стадии эмбрионального развития» [17]. Исследовательская работа этих нобелевских лауреатов была сфокусирована на изменениях, которые происходят в эмбрионе на ранних этапах развития. Большинство продуктов генов, которые участвуют в развитии эмбриона, присутствуют уже на стадии неоплодотворённого яйца и синтезируются в организме матери во время оогенеза. Однако небольшая часть генных продуктов образуется самим эмбрионом, профили транскрипции с активных генов которого являются тем запускающим механизмом, который и определяет эмбриональное развитие с формированием добавочных пальцев.

Настоящее сообщение о полученных результатах исследования (проводившегося как этап изучения мини-свиней селекции ИЦиГ СО РАН [18, 19]) конкретных материалов – свиней с добавочными пальцами – можно рассматривать как очередной вклад в изучение проявлений полидактилии в качестве феноменов и моделей фундаментальных вопросов развития живых систем.

Таким образом, результаты настоящего исследования позволяют сформулировать следующие выводы.

1. Впервые обнаруженная у мини-свиней ИЦиГ СО РАН преаксиальная полидактилия отличается широкой фенотипической вариабельностью по степени проявления и развития добавочных пальцев на грудных (передних) и тазовых (задних) конечностях. Ранее нами описаны случаи её проявления в виде пятипалости (с добавочным латеральным 6-м пальцем) или шестипалости (с добавочными 1-м и 6-м) только на грудных (передних) или на всех четырёх конечностях. У двоих подробно изученных в настоящей статье мини-свиней их шестипалость на всех четырёх ногах имела разную степень формирования прибылых пальцев.

2. Проявление полидактилии у мини-свиней в филогенезе (в ряде смежных поколений) и в онтогенезе – с разной степенью формирования разных прибылых пальцев обусловлено разной степенью накопления наследственности аномальных родоначальников в зависимости от разных способов разведения – с близким инбридингом или без него.

3. Выявлены особенности дифференцировки морфологических и гистологических параметров структур, формирующих добавочные пальцы в процессе онтогенезе мини-свиней с полидактилией.

Авторы благодарны В.И. Запорожец за зоотехническое обеспечение содержания стада мини-свиней ИЦиГ СО РАН и Т.В. Шантуровой за содействие в установлении творческих междисциплинарных контактов при формировании авторского коллектива в процессе работы над статьёй.

Работа по селекции мини-свиней ИЦиГ СО РАН поддержана бюджетным проектом №FWNR-2022-0023.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Визнер Э., Виллер З. Ветеринарная патогенетика. – М.: Колос, 1979. – 424 с.
2. Кошерная свинина – еврейская тайна потрясет мясной рынок! [Электронный ресурс] // Мясной вестник. – 2013. – 31 июля. – URL: https://www.meatvestnik.ru/2013/07/blog-post_31.html (дата обращения: 24.08.2023).
3. Sterne Kate. Mezacuka ar sesam kajam! Dabas rotala vai cilveka darbibas jetekme? // Medibam. lv. – 2023. 6 jilijs. (латыш.)

4. Необычная врожденная полидактилия мини-свиней селекционной группы ИЦиГ СО РАН / С.В. Никитин, С.П. Князев, В.А. Трифонов [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2021. – № 25 (6). – С. 652–660. – DOI: 10.18699/VJ21.074.
5. Lange A., Muller G.B. Polydactyly in development, inheritance, and evolution // *The Quarterly Review of Biology*. – 2017. – Vol. 92, N 1. – P. 1–38.
6. Polydactyl Inheritance in the Pig / D. Gorbach, B. Mote, L. Totir [et al.] // *Journal of Heredity*. – 2010. – Vol. 101 (4). – P. 469–475.
7. Ptak W. Polydactyly in wild boar // *Acta Theriologica*. – 1962. – Vol. 6. – P. 312–314.
8. Malynicz G.L. Complete polydactylism in Papua New Guinea village pig, with otocephalic homozygous monsters // *Ann. Genet. Sel. Anim.* – 1982. – Vol. 14 (3). – P. 415–420.
9. Никитин С.В., Князев С.П. Отбор и адаптация в популяциях домашних свиней: монография. – Saarbrücken: LAMBERT Academic Publishing, 2015. – 221 с.
10. Ювенильные окраски мини-свиней селекции ИЦиГ СО РАН / С.В. Никитин, С.П. Князев, К.С. Шатохин [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2017. – № 21 (6). – С. 628–635. – DOI: 10.18699/VJ17.000.
11. Разведение и селекция мини-свиней СО РАН / С.В. Никитин, С.П. Князев, К.С. Шатохин [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – № 22 (8). – С. 922–930. – DOI: 10.18699/VJ18.434.
12. Зоотехнические, физиологические и генетические особенности мини-свиней селекции СО РАН: монография / К.С. Шатохин, С.В. Никитин, С.П. Князев [и др.] / СибНИПТИЖ СФНЦА РАН. – Новосибирск: СФНЦА РАН, 2019. – 196 с.
13. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
14. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии: учеб. пособие. – М., 2002.
15. Гурова С.В. Морфология. Гистология / Перм. гос. аграр.-технол. ун-т им. акад. Д.Н. Прянишникова. – Пермь: Прокрость, 2020. – 172 с.
16. Фрейд З. «Моисей» Микеланджело // Воспоминания Леонардо Да Винчи о раннем детстве. – СПб.: Азбука: Азбука-Аттикус, 2012. – С. 149–196.
17. Лауреаты Нобелевской премии в области физиологии и медицины [Электронный ресурс] – URL: https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/index.html (дата обращения: 24.08.2023).
18. Князев С.П., Никитин С.В., Ермолаев В.И. Гетерогенность популяций и адаптация к технологии содержания домашних свиней: причины формирования // *Инновации и продовольственная безопасность*. – 2021. – № 3 (33). – С. 80–94. – DOI:10.31677/2072-6724-2021-33-3-80-94.
19. Неспецифический гетерозис по комплексу признаков приспособленности на примере мини-свиней / С.В. Никитин, С.П. Князев, К.С. Шатохин [и др.] // *Инновации и продовольственная безопасность*. – 2022. – № 3 (37). – С. 79–89. – DOI:10.31677/2311-0651-2022-37-3-79-89.

REFERENCES

1. Vizner E., Viller Z., *Veterinarnaya patogenetika* (Veterinary pathogenetics), Moscow, Kolos, 1979, 424 p.
2. https://www.meatvestnik.ru/2013/07/blog-post_31.html (August 24, 2023)
3. Sterne Kate, Mezacuka ar sesam kajam! Dabas rotdala vai cilveka darbibas jetekme? *Medibam. lv.*, 2023, 6 jilijs.
4. Nikitin S.V., Knyazev S.P., Trifonov V.A. [i dr.], *Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii*, 2021, No. 25 (6), pp. 652–660, DOI: 10.18699/VJ21.074. (In Russ.)
5. Lange A., Muller G.B., Polydactyly in development, inheritance, and evolution, *The Quarterly Review of Biology*, 2017, Vol. 92, No. 1, P. 1–38.
6. Gorbach D., Mote B., Totir L. [et al], Polydactyl Inheritance in the Pig, *Journal of Heredity*, 2010, Vol. 101 (4), P. 469–475.
7. Ptak W. Polydactyly in wild boar, *Acta Theriologica*, 1962, Vol. 6, P. 312–314.
8. Malynicz G.L. Complete polydactylism in Papua New Guinea village pig, with otocephalic homozygous monsters, *Ann. Genet. Sel. Anim.*, 1982, Vol. 14 (3), P. 415–420.

9. Nikitin S.V., Knyazev S.P., *Otbor i adaptaciya v populyacijah domashnih svinej* (Selection and Adaptation in Domestic Pig Populations), Saarbrücken: LAMBERT Academic Publishing, 2015, 221 p.
10. Nikitin S.V., Knyazev S.P., Shatohin K.S. [i dr.], *Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii*, 2017, No. 21 (6), pp. 628–635, DOI: 10.18699/VJ17.000. (In Russ.)
11. Nikitin S.V., Knyazev S.P., Shatohin K.S. [i dr.], *Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii*, 2018, No. 22 (8), pp. 922–930, DOI: 10.18699/VJ18.434. (In Russ.)
12. Shatohin K.S., Nikitin S.V., Knyazev S.P. [i dr.], *Zootekhnicheskie, fiziologicheskie i geneticheskie osobennosti mini-svinej selekcii SO RAN* (Zootechnical, physiological and genetic features of mini-pigs bred by SB RAS), SibNIPTIZH SFNCA RAN, Novosibirsk: SFNCA RAN, 2019, 196 p.
13. Sarkisov D.S., Perov Yu.L., *Mikroskopicheskaya tekhnika* (Microscopic technology), Moscow: Medicina, 1996, 544 p.
14. Avtandilov G.G. *Osnovy kolichestvennoj patologicheskoy anatomii* (Fundamentals of Quantitative Pathological Anatomy), Moscow, 2002.
15. Gurova S.V. *Morfologiya. Gistologiya* (Morphology. Histology), Perm: Prokrost', 2020, 172 p.
16. Frejd Z. *Vospominaniya Leonardo Da Vinchi o rannem detstve*, Saint Petersburg: Azbuka: Azbuka-Attikus, 2012, pp.149–196.
17. https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/index.html (August 24, 2023)
18. Knyazev S.P., Nikitin S.V., Ermolaev V.I., *Innovacii i prodovol'stvennaya bezopasnost'*, 2021, No. 3 (33), pp. 80–94, DOI:10.31677/2072-6724-2021-33-3-80-94. (In Russ.)
19. Nikitin S.V., Knyazev S.P., Shatohin K.S. [i dr.], *Innovacii i prodovol'stvennaya bezopasnost'*, 2022, No. 3 (37), pp. 79–89, DOI:10.31677/2311-0651-2022-37-3-79-89. (In Russ.)