

Techniki wspomaganego rozrodu wykorzystywane w hodowli koni

DR HAB. N. WET. MACIEJ WITKOWSKI
DR N. WET. SYLWESTER ZAJĄC
LEK. WET. MAGDALENA PROFASKA



UNIWERSYTECKIE CENTRUM
MEDYCyny WETERYNARYJNEJ
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie



EQUIBIOTECH



Pierwszy embriotransfer komercyjny w Polsce – 2012 r.

Pierwsze OPU
komercyjne
w Polsce –
2021 r.



Roberto
Sanchez





Anthony CLAES
University UTRECHT



Gregory Staniek
Bourton Vale Equine Clinic



Juan Cuervo-Arango
University Utrecht

Techniki wspomagane rozrodu u koni

- ✓ Inseminacja (AI) – nasienie świeże, nasienie konserwowane: nasienie świeże, nasienie rozrzedzone schłodzone, nasienie mrożone
- ✓ Transplantacja zarodków – embriotransfer (ET)
- ✓ Przyżyciowe pobieranie oocytów z jajników klaczy – ovum pick up (OPU)
- ✓ Zapłodnienie oocytów w warunkach laboratoryjnych metodą docytoplazmatycznej iniekcji plemnika - intracytoplasmic sperm injection (ICSI)
- ✓ Kriokonserwacja zarodków po pozyskaniu zarodka z klaczy dawczyni

- Seksowanie nasienia
- Klonowanie zarodków
- Seksowanie zarodków ICSI
- Diagnostyka genetyczna zarodków
- Kriokonserwacja oocytów

Inseminacja



Nasienie
przeznaczone
do inseminacji

świeże - podajemy bezpośrednio po
pobranii

świeże rozrzedzone - podajemy do 12h po
pobranii

świeże rozrzedzone schłodzone do 4 st. C
- podajemy do 72h (12-72h) po pobranii

mrożone - przechowywane w temp.
ciekłego azotu -196 st. C

Nasienie świeże
i schłodzone

Termin unasienniania - nasienie świeże i schłodzone

- inseminacja powinna być wykonana 48h przed owulacją do 6h po owulacji
 - zależy od przeżywalności nasienia
- rozpoczęcie monitorowania klaczy przy wystąpieniu objawów rujowych i obecności pęcherzyka >35mm
- opcjonalnie podanie hormonów kontrolujących owulację

Transport nasienia świeżego rozrzedzonego schłodzonego



Nasienie mrożone

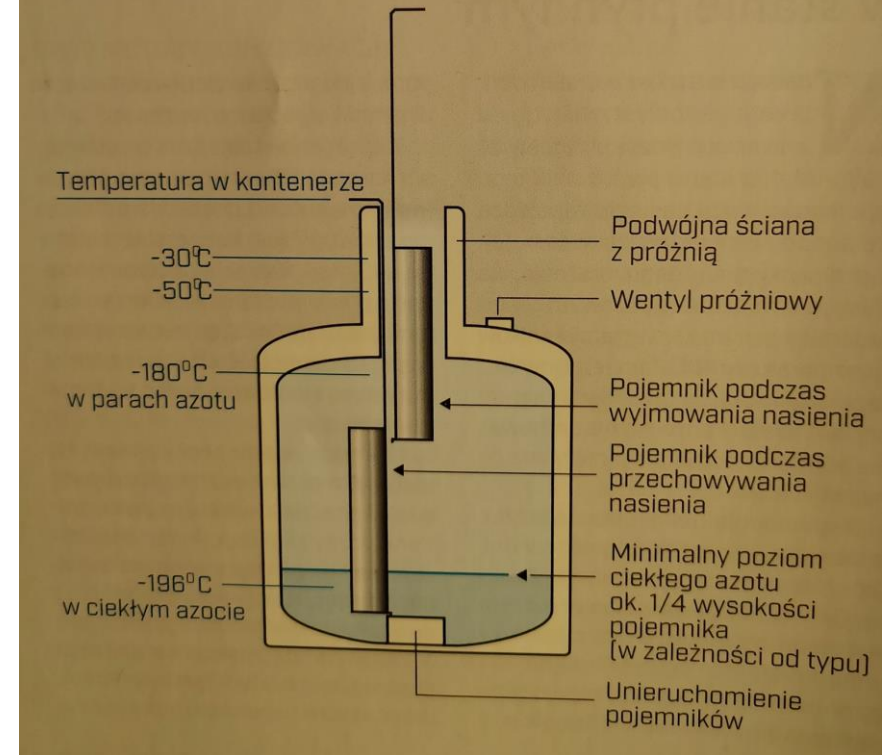
Termin unasieleniania - nasienie mrożone

- inseminacja powinna być wykonana 6h przed owulacją do 6h po owulacji
 - zależy od przeżywalności nasienia
- rozpoczęcie monitorowania klaczy przy wystąpieniu objawów rujowych i obecności pęcherzyka >35mm
- kontynuować monitorowanie pęcherzyka, opcjonalnie podać hormony kontrolujące owulację
- **badanie wykonuje się rutynowo 2-4 x / dobę !!!**
- inseminacje wykonuje się do 6h po owulacji

Przechowywanie nasienia mrożonego



Kontener do nasienia mrożonego



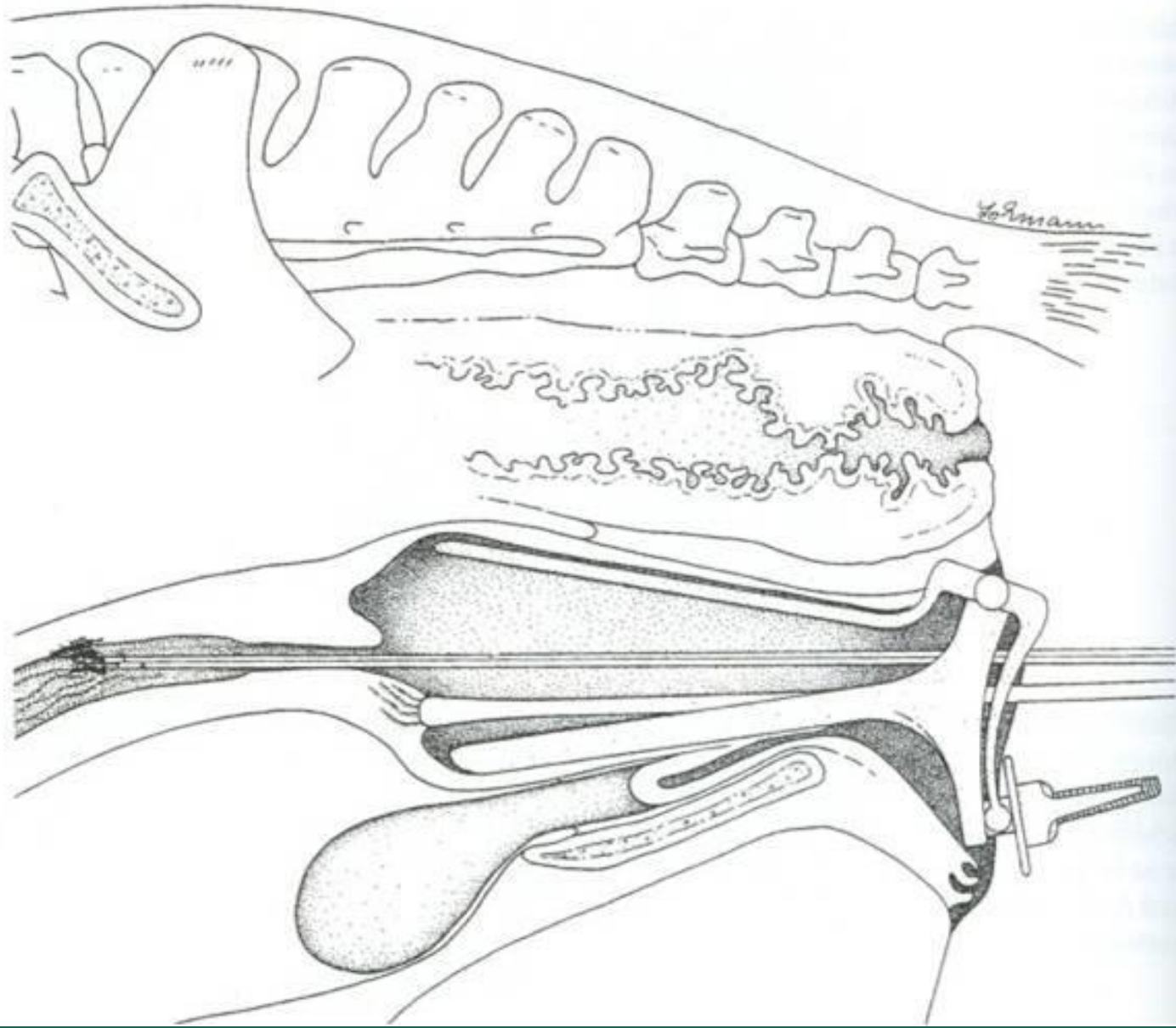
Techniki inseminacji klaczy

Domaciczna (do trzonu macicy)

Głęboka domaciczna (w okolicę ujścia jajowodu)

- elastyczną pipetą
- Endoskopowa

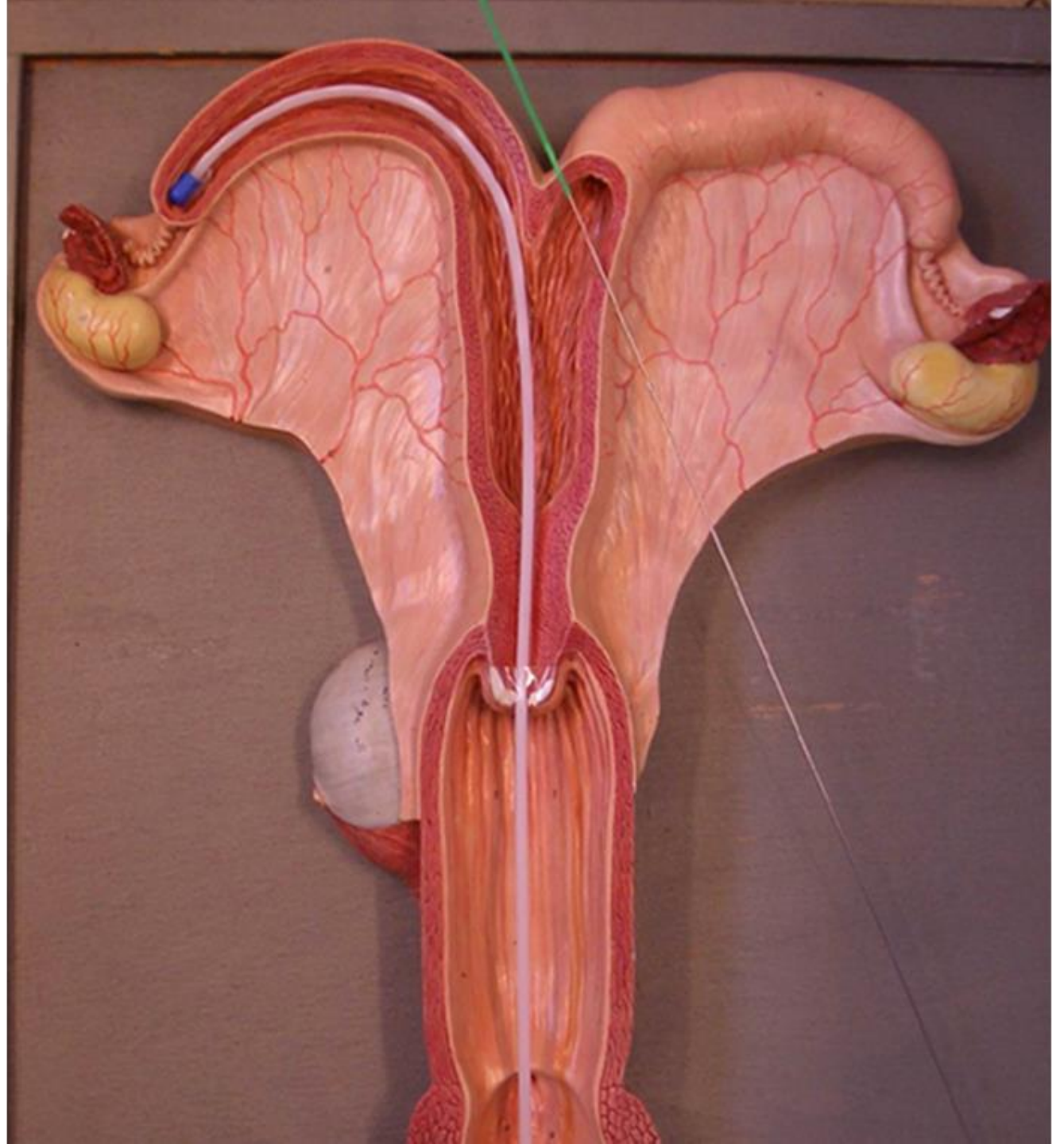
Dojajowodowa



3a

Głęboka domaciczna inseminacja

- Nasienie mrożone
- pozwala na znaczne zmniejszenie dawki nasienia (objętość, liczba plemników o ruchu progresywnym)
- metoda używana jest gdy:
 - nasienie jest słabej jakości
 - nasienie jest drogie - ekonomiczność
 - klacz jest problematyczna (wrażliwa na *endometritis* - zmniejszamy dawkę i ryzyko stanu zapalnego)



Transplantacja
zarodków –
embriotransfer
(ET)



Dobór klaczy biorczyń do klaczy dawczyni

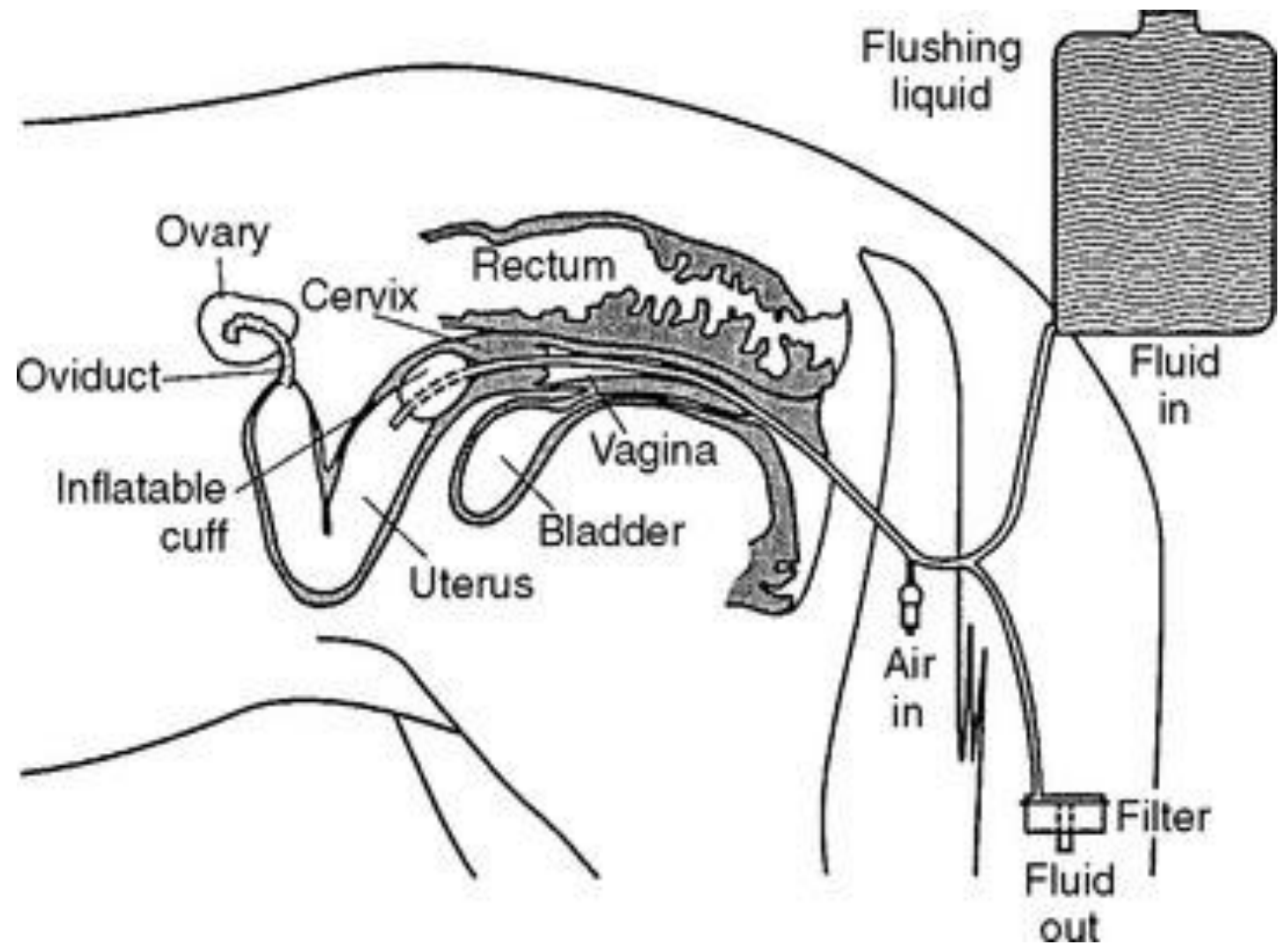
Synchronizacja klaczy dawczyni i biorczyni

Inseminacja klaczy dawczyni

Pozyskanie zarodka z macicy klaczy dawczyni 6-8 dni po inseminacji

Transplantacja zarodka do klaczy biorczyni / witryfikacja zarodka

Transplantacja zarodków – krok po kroku





Transplantacja zarodków

WADY

- Dawczyni musi być zdolna do zapłodnienia i utrzymania rozwoju zarodka przynajmniej do 7-8 dnia
- Z reguły możliwość uzyskania tylko jednego zarodka
- Konieczność utrzymywania stada biorczyń i ich synchronizacji z dawczynią
- W przypadku klaczy problematycznych skuteczność spada do jedynie 20%

ZALETY

- Stosunkowo tania i prosta procedura
- **Pozyskanie więcej niż jednego źrebięcia od klaczy dawczyni w jednym sezonie bez przerywania kariery sportowej**
- Szybszy efekt – klient już 8 dni po ET jest w stanie zobaczyć owoc naszej pracy

Idealna klacz biorczyni

Tania 😊

Wielkość klaczy
= wielkości
biorczyni

Młoda 2-7 lat

W ciąży lub w
trakcie laktacji

Dziewica?

Badanie
ginekologiczne

Ovum Pick Up

ICSI



Kommercyjnie
wykonujemy
aspiracje
niedojrzałych
oocytów z
wszystkich
pęcherzyków
obecnych na
jajnikach –
dlaczego?

Swoboda w zakresie czasu postępowania z niedojrzałymi oocytami, które mogą być przetrzymywane w odpowiedniej pożywce przez jedną, a nawet dwie doby, zanim zostaną poddane dojrzewaniu in vitro (transport lotniczy do Włoch do laboratorium [Avantea - Equine Assisted Reproduction](#)).

Pozwala to na zaplanowanie procedury ICSI w odpowiednim terminie

Ponadto badania wykazały, że aspiracja niedojrzałych pęcherzyków pozytywnie wpływa na efektywność uzyskiwania blastocyst in vitro, w porównaniu do aspiracji oocytów z pęcherzyka przedowulacyjnego stymulowanego hormonami (odpowiednio 1:0,33 blastocysty).

Przygotowanie dawczyni

Ovum Pick Up

Wysłanie oocytów do laboratorium

Hodowla oocytów ok. 2 dni

Selekcja oocytów

Zapłodnienie ICSI

Hodowla zarodków ok. 6-9 dni

Selekcja zarodków

Zamrożenie zarodków

Ovum Pick Up – krok po kroku

OPU + ICSI

WADY

- Wysokie koszty procedury
- Współpraca z wyspecjalizowanym laboratorium
- Większa inwazyjność w porównaniu do pozyskiwania zarodków na drodze klasycznego ET

ZALETY

- Wykorzystanie klaczy z anomaliami układu rozrodczego, niemogących posiadać potomstwa wg standardowego protokołu dla ET
- Pozyskanie oocytów jest niezależne od fazy rozwoju pęcherzyka
- Możliwość pobrania oocytów od klaczy żrebnych
- Zwiększenie możliwości wykorzystania nasienia o obniżonych parametrach
- Wykonanie transplantacji otrzymanego zarodka w dogodnym dla nas terminie

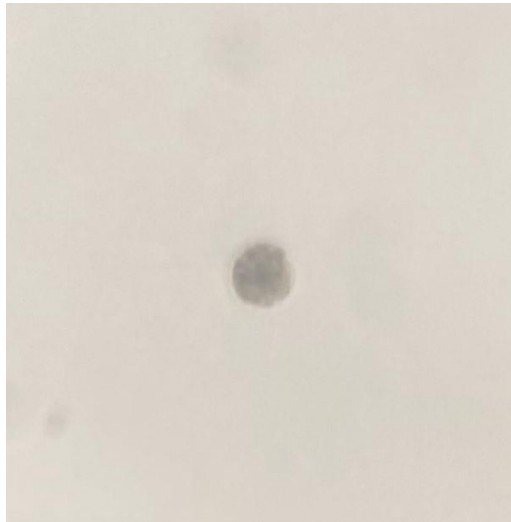
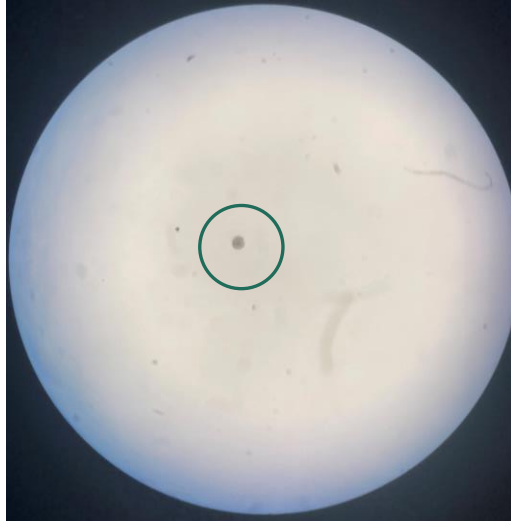
OPU sessions	No mares	Total no of collected oocytes OPU (n)	No of oocytes accepted to ICSI (n)	No of oocytes which started clavage after ICSI (n)	No of produced embryos (n)
I	1	3	1	0	0
	2	6	5	2	0
	3	9	7	3	1
	4	8	4	3	1
	5	8	4	3	2
	6	17	11	6	2
	7 C	8	3	2	1
II	8	13	8	6	0
	9	8	1	1	0
	10	12	7	7	2
	11	27	15	11	0
	12	8	3	3	0
	13 B	5	3	1	0
	14	18	11	6	2
III	15	9	9	6	3
	7 C	11	3	3	1
	16	13	8	8	1
	17	14	10	9	4
	18	2	2	2	1
	19 P	7	4	1	0
IV	19 P	4	3	2	1
	20	9	5	2	0
	21	10	4	3	0
	13 B	10	7	5	1
V	22	12	5	4	1
	23	12	10	9	2
	24	6	5	3	2
TOTAL	27	271	157 (58%) (100%)	111 (41%)	28 (10%) (18%)

ICSI vs ET in healthy donors

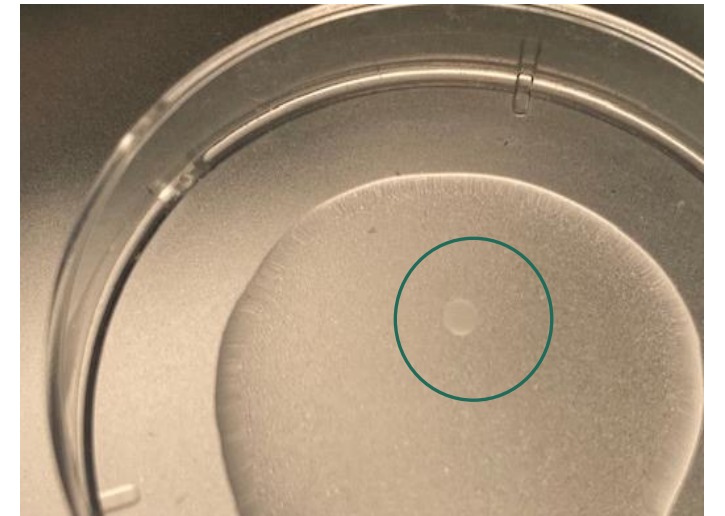
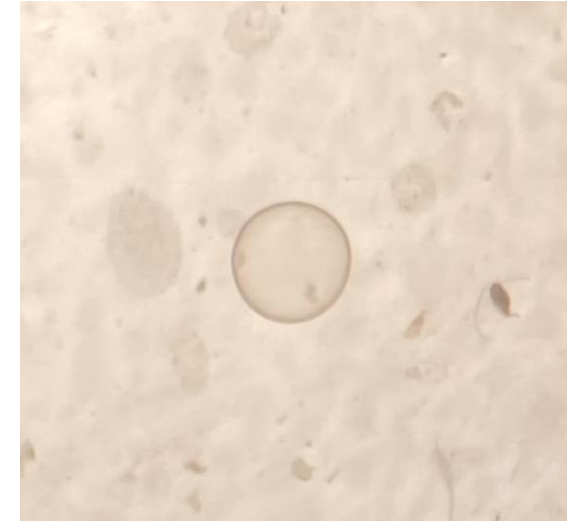
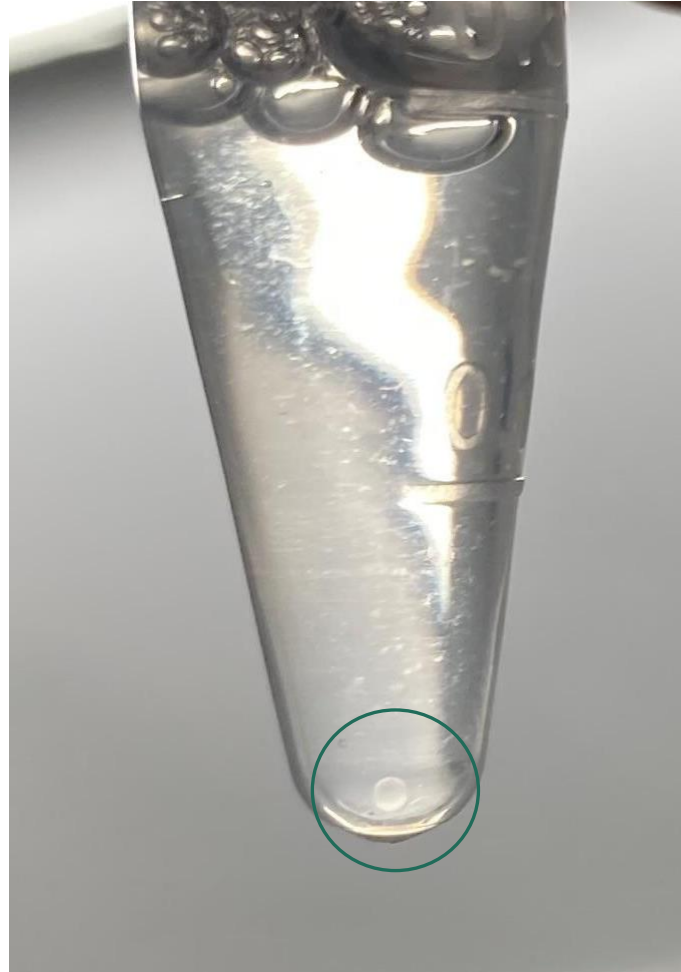


Technique	Subfertile semen	Can be done by vets?	Invasive for the donor	Embryo recovery/production	Embryo Freezability	Embryo sexing possible	Pregnancy rates
ICSI and ET	ok	Just OPU	+	~1 every 15 days	++++	Yes	Up to 70%
AI, Flushing and ET	no	Yes	-	0,5 per cycle	+	Yes	Up to 75%

Embryos after ICSI



Embryos after ET



Inne metody wspomaganego rozrodu u koni:

- Seksowanie nasienia
- Kriokonserwacja oocytów
- Klonowanie zarodków
- Seksowanie zarodków ICSI
- Diagnostyka genetyczna zarodków

A photograph of two horses in a field, overlaid with a semi-transparent green filter. The text "Dziękujemy za uwagę!" is centered in white. Two thin white horizontal lines are positioned above and below the text.

Dziękujemy za uwagę!