

Endoskopowa inseminacja klaczy przy wykorzystaniu nasienia ogierów o normalnej i obniżonej wartości.

N. Ismer, M. Koene, M. Przewoźny

Tierärztliche Klinik für Pferde, Essener Str. 39 a, 49456 Lüsche, Niemcy

Summary:

Endoscopically controlled insemination in the mare using normal and low quality spermatozoa. (N. Ismer; M. Koene; M. Przewoźny)

Hysteroscopic insemination in the mare is a proven method which is used already under experimental conditions. Morris et al. (2000) obtained pregnancy rates up to 75 % with insemination doses of only $1-10 \times 10^6$ progressive motile spermatozoa (PMS).

88 mares were inseminated on two different commercial breeding stations by the use of a coloscope which was led transcervical into the lumen of the uterus. The inseminate ($100, 150, 200 \times 10^6$ PMS; 5-20 ml) was deposited on the papilla of the salpinx with a special catheter which was guided through the working channel of the endoscope after distension of the uterus with CO₂ gas. At the same time 383 mares were inseminated on the same breeding centres with conventional technique (500×10^6 PMS; 10-20 ml) and the obtained pregnancy rates were compared to the ones from hysteroscopic insemination.

The used semen from one stallion was good quality (average of 57.5 % PMS; stallion 1). The other stallion had an asthenozoospermia with an average of 14.9 % PMS (stallion 2).

It was shown that endoscopically controlled insemination is a practical technique which can be used under field conditions. The pregnancy rates obtained with endoscopically controlled insemination were comparable (stallion 1; 45.0% vs. 70.2%) or even higher (stallion 2; 55.2% vs. 9.0%) than the ones from conventional insemination.

Streszczenie:

Inseminacja klaczy kontrolowana za pomocą endoskopu jest metodą, która w warunkach eksperymentalnych pozwoliła na osiągnięcie współczynnika żebności do 75% przy zastosowaniu nasienia zawierającego jedynie $1-10 \times 10^6$ plemników o ruchu postępowym w dawce inseminacyjnej (Morris et al. 2000).

W tym celu używano powszechnego w handlu kolonoskopu, który przeprowadzano przez szyjkę macicy i kierowano w odpowiedni róg macicy. Następnie za pomocą specjalnego kateteru prowadzonego przez kanał roboczy endoskopu deponowano nasienie na ipsilateralną brodawkę macicy.

Na jednej z prywatnych stacji ogierów o statusie EU w Oldenburgu zabiegowi inseminacji w warunkach terenowych poddano 88 klaczy nasieniem dwóch różnych ogierów. Zabiegu dokonano różnymi dawkami inseminacyjnymi (100, 150 u. 200 x 10⁶ PMS - Progressiv Motile Spermien – plemników o ruchu postępowym) oraz różną objętością (5 – 20 ml). Uzyskane dane zostały porównane z wynikami konwencjonalnej inseminacji (n=383) w tym samym sezonie rozplodowym gdzie stosowano nasienie w objętości 10-20 ml zawierające min. 500 x 10⁶ PMS.

Sperma ogiera nr 1 wykazywała normalne parametry andrologiczne (Ø 57,5 % PMS).

Nasienie ogiera nr 2 wykazywało w czasie wielokrotnych badań asthenospermię (Ø 14,9 % PMS).

Zostało dowiedzione, że wymieniona metoda jest prosta do zastosowania w praktyce terenowej. Uzyskane za pomocą endoskopowej inseminacji klaczy wskaźniki żrebności u ogiera o obniżonej wartości nasienia były wyższe, a u ogiera o normalnym nasieniu porównywalne, z wartościami dla konwencjonalnej inseminacji.

Wstęp:

Powszechnie używane w inseminacji klaczy dawki nasienia zawierają minimum 500 x 10⁶ PMS (Progressiv Motile Spermien – plemników o ruchu postępowym) (Klug 1993). Dla stacji ogierów o statusie EU od 2002 roku jest wymagane minimum 600 x 10⁶ PMS dla nasienia wysyłanego w obrocie wewnątrzunijnym (Sieme et al.2001) . Nasienie o wyżej wymienionej jakości pozwala w warunkach terenowych w zależności od menagenentu uzyskać wskaźniki żrebności w granicach od 70% do 90% (Pickett, Voss 1975; Householder et al. 1981). Występują jednakże okoliczności w których ogier nie jest w stanie oddać wystarczającej objętości nasienia o wymaganej jakości w celu inseminacji przewidzianych dla niego klaczy. Taka sytuacja ma miejsce gdy chodzi o wartościowe genetycznie i popularne reproduktory. Innym zagadnieniem jest obniżona płodność ogierów o różnej etiologii. Obniżona płodność może mieć podłoże genetyczne, patologiczne jak i jatrogenne. Przykładem może być

niewaściwe użycie anaboliów sterydowych (Amann 1993), zapalenia jąder lub najądrzy (Schneider 1999), atrofia, fibroza lub degeneracja jąder (Klug 1999).

Cel badań:

Celem badań było sprawdzenie w jakim stopniu technika opisana przez Morrisa i innych (2000) pozwala wykorzystać się w praktyce terenowej oraz jakie wskaźniki żrebności mogą zostać osiągnięte przy wykorzystaniu nasienia o obniżonej dawce inseminacyjnej.

Materiał i metody:

W skład grupy doświadczalnej wchodziły 88 klacze podzielone na grupy. Klaczki były inseminowane nasieniem dwóch ogierów (nr 1, nr 2).

Wykorzystywane nasienie było zawsze pobierane w dniu inseminacji oraz było badane mikroskopowo i makroskopowo pod względem barwy, konsystencji, objętości, gęstości jak i ruchliwości. Ostatecznie nasienie było wirowane i przygotowywane według wytycznych EU. Nasienie ogiera nr 2 dotknięte było asthenospermią (obniżona ruchliwość plemników), której średnia wartość dla plemników o ruchu postępowym w wykorzystanych 42 ejakulatach wynosiła 14,9%.

Metody:

Technika inseminacji (ryc. 1)

Klaczki wybrane do inseminacji pod kontrolą endoskopu wstawiano do poskromu. Po zabandażowaniu ogona następowało gruntowne mycie zewnętrznych narządów płciowych. Do histeroskopowej inseminacji używano powszechnego w handlu kolonoskopu (GIF-XQ 10, Olympus, Hamburg, długość robocza 1600 mm, średnica zewnętrzna 9,4 mm, średnica kanału roboczego 2,8 mm), który był dezynfekowany przed każdym zabiegiem. Endoskop przeprowadzano wpierw przez szyjkę macicy. Następnie macicę wypełniano CO₂ przy pomocy insuflatora (AR-10-901, Dr. Fritz, Tuttlingen) podłączonego do przewoźnej butli. Ciśnienie zwiększano maksymalnie do 50 mmHg, do momentu uzyskania dobrego pola widzenia w całym trzonie macicy (ryc.2). Połączenie insuflatora z endoskopem było zapewnione za pomocą silikonowego przewodu zakończonego końcówką typu Luer. Jako źródło światła służył generator światła zimnego (Typ B, Dr. Fritz, Tuttlingen). Ostatecznie endoskop wprowadzano pod kontrolą wzroku do ipsilateralnego rogu macicy tak daleko aż

brodawka jajowodu była dobrze uwidoczniła (ryc.3). W tym momencie odcinano dopływ CO₂ i przez kanał roboczy endoskopu wsuwano sterylny, wcześniej wypełniony nasieniem teflonowy kateter (długość robocza 2200 mm, średnica 2 mm, Dr. Fritz, Tuttlingen) aż do osiągnięcia okolicy brodawki jajowodu. Następnie deponowano nasienie na brodawkę jajowodu lub w jej bezpośrednią okolicę (ryc.4). Niezwłocznie potem usuwano endoskop z macicy.

Wyniki:

Nasieniem ogiera nr 1 zainseminowano pod kontrolą endoskopu łącznie 20 klaczy. Zabieg wykonano dawką zawierającą 100 milionów PMS w objętości 5 ml. Spośród tych klaczy 9 (45%) zażrebiło się (tab.1). Nasieniem tego samego ogiera inseminowano metodą konwencjonalną 305 klaczy, gdzie dawka inseminacyjna zawierała 500 milionów PMS przy objętości 10-20 ml. żrebność potwierdzono u 214 (70,2%) klaczy (tab.2).

Nasieniem ogiera nr 2 zainseminowano techniką endoskopową 21 klaczy dawką zawierającą 100 milionów PMS, 23 klacze dawką 150 milionów PMS oraz 24 klacze dawką zawierającą 200 milionów PMS. U wszystkich klaczy używano objętości nasienia od 10 do 20 ml. W pierwszej wymienionej grupie potwierdzono żrebność u 13 (61,9%) klaczy, w drugiej grupie u 8 (34,8%) klaczy oraz w trzeciej grupie u 16 (66,7%) klaczy. średnio odpowiada to żrebności 55,2% (37/68) (tab.1). Dla nasienia tego samego ogiera w tym samym sezonie rozplodowym przy inseminacji metodą konwencjonalną uzyskano u 78 klaczy inseminowanych dawką zawierającą 500 milionów PMS żrebność jedynie u 7 (9%) klaczy (tab.2).

Tab.1: Wyniki żrebności dla nasienia ogierów nr 1 i nr 2 przy inseminacji techniką endoskopową.

ogier (nr)	objętość dawki inseminacyjnej (ml)	PMS dawki inseminacyjnej (mln)	liczba klaczy (n)	liczba klaczy żrebných (n)	żrebność (%)
1	5	100	20	9	45,0
2	10-20	100	21	13	61,9
2	10-20	150	23	8	34,8
2	10-20	200	24	16	66,7
2	10-20	100-200	68	37	55,2

Tab.2 : Wyniki żrebności dla nasienia ogierów nr 1 i nr 2 przy inseminacji techniką konwencjonalną.

ogier (nr)	objętość dawki inseminacyjnej (ml)	PMS dawki inseminacyjnej (mln)	liczba klaczy (n)	liczba klaczy żrebnych (n)	żrebność (%)
1	10-20	500	305	214	70,2
2	10-20	500	78	7	9,0

Technika endoskopowej inseminacji klaczy okazała się być możliwa do zastosowania w praktyce terenowej. Po uzyskaniu pewnej wprawy zabieg inseminacji trwał od 2 do 5 minut przy średniej 3 minuty.

Dyskusja :

Technika okołobrodawkowej inseminacji videoendoskopowej jest wiele obiecującą metodą, która tak dla klaczy jak i dla ogierów może mieć wiele pozytywnych aspektów.

Możliwość histeroskopowej oceny macicy i szyjki macicy ze względu na anomalie rozwojowe, cysty, zlepy wewnątrzmaciczne, sekrecję, zawartość jak i konsystencję, barwę błony śluzowej macicy znacznie poszerza możliwości diagnostyczne w praktyce ginekologicznej klaczy (Schoon et al. 1992).

Dla ogierów metoda inseminacji endoskopowej jako najbardziej pozytywny aspekt przedstawia ogromne możliwości oszczędzania nasienia. Należy tutaj jednakże jasno podkreślić, że omawiana metoda może ułatwiać niebezpieczeństwo wykorzystania w hodowli ogierów o obniżonej płodności o podłożu genetycznym. Ten problem powinien być jednakże wykluczony przez badania andrologiczne przeprowadzane w momencie przyznawania licencji hodowlanych umożliwiającym użytkowanie rozplodowe ogiera. Ogiery których nasienie nie spełnia minimalnych kryteriów określonych dla młodych osobników nie mają szans na wykorzystanie w rozplodzie (Merkt i Klug 1989).

Wykorzystanie tej metody potwierdziło swoją dużą przydatność w praktyce terenowej u ogierów, które ze względu na swoją wielką wartość hodowlaną a nie ze względu na wadę genetyczną, nie są w stanie pokryć olbrzymiego zapotrzebowania na swoje nasienie.

Udowodniono, że możliwe jest uzyskanie porównywalnych wartości wskaźników żrebności przy metodzie konwencjonalnej wykorzystującej nasienie płodnego ogiera jak i wykorzystując metodę endoskopową przy zredukowanej liczbie plemników o ruchu postępowym w dawce inseminacyjnej.

U ogiera z asthenospermią możliwe było uzyskanie wyraźnego wzrostu wskaźnika żrebności pomimo używania dawek inseminacyjnych o zredukowanej liczbie plemników o ruchu postępowym.

Wyniki przedstawionych przez nas badań pozwalają zauważyć, że wskaźniki żrebności przedstawione przez Morris et al. (2000) są w warunkach terenowych bardzo trudne do osiągnięcia.

Literatura

AMMANN, R. P. (1993):

Effects of Drugs or Toxins on Spermatogenesis

in: A. O. MC KINNON, J. L. VOSS (Hrsg.): Equine Reproduction, Verlag Lea & Febiger, Pennsylvania, S. 831 – 839

HOUSEHOLDER, D. D., B. W. PICKETT, J. L. VOSS, T. T. OLAR (1981):

Effect of extender, number of spermatozoa and hCG on equine fertility.

J. Equine vet. Sci. 1, S. 9-13

KLUG, E.(1993):

Frischsamenübertragung beim Pferd, 4. Auflage, Verlag M + H Schaper, Hannover, S. 65

KLUG, E. (1999):

Morpho- funktionelle Fortpflanzungsstörungen beim Hengst

in: O. Dietz, B. Huskamp(Hrsg.): Handbuch Pferdepraxis, Verlag Enke, Stuttgart, S. 555 – 566

MERKT H von., KLUG E.

Gesundheitliche und geschlechtliche Mindestanforderungen an Zuchthengste

Deutsch. Tierärztl. Wschr. 1989;96(9);459-464

MORRIS, L. H. A., R. H. F. HUNTER, W. R. ALLEN (2000):

Hysteroscopic insemination of small numbers of spermatozoa at the uterotubal junction of preovulatory mares

J. Reprod. Fertil., (118), 95 - 100

PICKETT, B. W., J. L. VOSS (1975):

The effect of semen extenders and sperm number on mare fertility.

J. Reprod. Fertil., Suppl. 23, S. 95-98

SCHNEIDER, H. – J. (1999):

Krankheiten der männlichen Geschlechtsorgane, Sterilisation und Kastration des Hengstes, Hermaphroditismus in: O. Dietz, B. Huskamp(Hrsg.): Handbuch Pferdepraxis, Verlag Enke, Stuttgart, S. 533 – 542

SCHOON, H. – A., D. SCHOON, E. KLUG (1992):

Uterusbiopsien als Hilfsmittel für Diagnose und Prognose von Fertilitätsstörungen der Stute. Pferdeheilk. 8, (6), 355 - 362

SIEME, H., E., TÖPFER – PETERSEN, H. BADER, R. PETZOLDT, H. MERKT (2001):

A. I. sperm of the stallion: evaluation criteria and minimal standards – a survey

Pferdeheilk. 17 (2) 145 – 154

Ryc.1. : Urządzenia niezbędne do wykonania zabiegu endoskopowej inseminacji klaczy.

Ryc.2.: Wypełniony CO₂ trzon macicy z widocznym bifurcatio uteri i rogami macicy.

Ryc.3.: Widok na brodawkę jajowodu (w prawym górnym rogu).

Ryc.4.: Aplikacja nasienia bezpośrednio na brodawkę jajowodu.

Adres autora :

lek.wet. Maciej Przewoźny

Essener Str. 39 a

49456 Bakum-Lüsche

+ 48 600 855 362