

Komplikacje występujące u jałowic dawczyń zarodków

JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI, KRZYSZTOF URBANIAK *, JANUSZ ZBYLUT

Pracownia Biotechniki Rozrodu Zwierząt Państwowego Instytutu Weterynaryjnego Oddział w Bydgoszczy,
Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

*Katedra Weterynarii Rolniczej Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt AR, ul. Wojska Polskiego 52, 60-625 Poznań

Jaśkowski J. M., Urbaniak K., Zbylut J.

Problems occurring in heifer embryo donors

Summary

The aim of this investigation was the evaluation of complications occurring in the collection of embryos from heifers. Examinations were conducted on 285 heifers, aged from 11 to 30 months. Among 285 heifers, 170 were of crossbreed Black-and-White × Holstein-Friesian or Holstein-Friesian breed, while 115 were of beef breeds. Embryo collection was not conducted on 37 (12.9%) heifers. In this group of donors, females unresponsive to gonadotropin comprised the largest part (11.9%). Before the 16th month of life – no reaction of ovary after hormonal treatment was noted in 27.2 and 7.6% beef and dairy heifers, while in elder females 11.5 and 8.8%, respectively. Permanent problems with inserting the catheter into the uterus were a reason for eliminating 3 (1.2%) heifers. Finally, embryos were collected from 245 heifers (85% superovulated donors). The greatest problem in this group of animals was the absence of embryos after flushing. It was noted in 61 (24.8%) heifers – 33 (22.2%) Black-and-White × Holstein-Friesian and 28 (28%) beef breeds. Mechanical harm to the endometrium or a bursting of its wall was insignificant – it was noted in 5 (2%) and 2 (0.8%) heifers, respectively. Additionally 2 (0.8%) Black-and-White × Holstein-Friesian and 3 (1.2%) heifers of beef breeds were diagnosed with ovary cysts or presence of pus in mucus from uterus. Troubles with catheters entering the uterus were noted in 6 (2.4%) heifers. In Polish conditions the major reason for the failures noted in the collection of embryos from heifers aged above 10 months was the absence of reaction or inadequate reaction of females to exogenous gonadotropin. Technical factors (troubles with inserting the catheter into the uterus) are of marginal significance.

Keywords: heifers, superovulation, embryo collection

Jak wynika z krajowych publikacji, zdecydowaną większość wśród krów dawczyń zarodków stanowią wartościowe – z hodowlanego punktu widzenia – samice wieloródki (4, 5). Coraz częściej jednak przedmiotem zainteresowania hodowców stają się młode, kilkunastomiesięczne jałowice (4). W miarę możliwości – przed zacieleniem – jałowki poddawane są dwu-, czasem trzykrotnej superowulacji. Jediną barierą, z jaką należy się liczyć podczas pozyskiwania zarodków od bardzo młodych jałowic, wydają się trudności techniczne wynikające z niewielkich rozmiarów macicy oraz szybki macicznej. Uzasadnione jest przypuszczenie, że małe światło kanału szyjki, może w wielu przypadkach znacznie utrudnić bądź nawet uniemożliwić pasaż katetera do jamy macicy. Stosunkowo niewiele wiadomo także o innych niż trudności techniczne przyczynach niepowodzeń podczas pozyskiwania zarodków u jałowic oraz o skali tych komplikacji. Z wielu powodów nie były one i nie są przedmiotem publikacji.

Celem badań była ocena częstości komplikacji występujących podczas pozyskiwania zarodków od jałowic.

Materiał i metody

Badaniami objęto 285 jałowic w wieku od 11. do 30. miesięcy. Sto siedemdziesiąt należało do rasy czarno-białej z wysokim dolewem krwi holsztyńsko-fryzyjskiej lub do rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, 115 natomiast do ras mięsnych – limousine i charolaise. Superowulację wywoływano przy pomocy egzogenego oFSH podając przez 4 kolejne dni malejące dawki preparatu Ovagen (ICP) w łącznej ilości 14 ml. Po 6 iniekcji podawano domięśniowo syntetyczną prostaglandynę (Bioestrowet, Gorzów Wlkp.), a następnie zwierzęta unasienniano według objawów rui. W 7. dniu po rui przystępowano do zabiegu pozyskiwania zarodków, poprzedzając go szczegółową kliniczną kontrolą jajników. Kontrolę tę uzupełniano w przypadku wątpliwości, ultrasonograficzną oceną morfologicznych struktur powierzchni jajników. Do tego celu wykorzystywano ultrasonograf PieMedical 450 wyposażony w liniową głowicę o częstotliwości 5 MHz. Samice, u których jajniki nie były powiększone, a na ich powierzchni nie stwierdzono obecności ciała(ek) żółtych, nie poddawano zabiegowi pozyskiwania zarodków. Zabiegu nie wykonywano także u samicy z torbielami jajnikowymi obecnymi na obu jajnikach. Zarodki wyplukiwano z macicy płynem Dulbeco, wykorzystując do tego celu dwudrożny gumowy kateter model

Neustadt/Aisch numer 18 lub 15. W przypadku napotkania na trudności podczas pasażu katetera przez szyjkę macicznej, do jej rozwarcia wykorzystywano stalowy rozwieracz szyjkowy. W popłuczynach pod mikroskopem stereoskopowym wyszukiwano zarodki, które następnie liczono i oceniano morfologicznie.

Wyniki i omówienie

Rycina 1 przedstawia dystrybucję poddanych superowulacji jałowic dawczyń ras mlecznych i mięsnych. Spośród jałowic mlecznych najwięcej osobników poddawano superowulacji między 14. a 17. miesiącem życia (12,1-14,3%), najmniej – 11-13-miesięcznych (4,1-5,9%). Jałowice mięsne poddawano superowulacji później. Najczęściej miały one 19 (17,8%) i 10 (10,2%) miesięcy, najrzadziej (poniżej 4%) 13,20 i więcej niż 29 miesięcy. Z krajowego piśmiennictwa wynika, że u 15-22% poddanych superowulacji krów nie jest przeprowadzany zabieg pozyskiwania zarodków. Z reguły pozycja ta odnotowywana jest jako „dawczyni nie reagujące na superowulację”. Dodatkowo z wcześniejszych obserwacji wynika, że u 17-40,1% dawczyń poddanych superowulacji nie uzyskuje się w ogóle zarodków przydatnych do transferu (5, 6, 8).

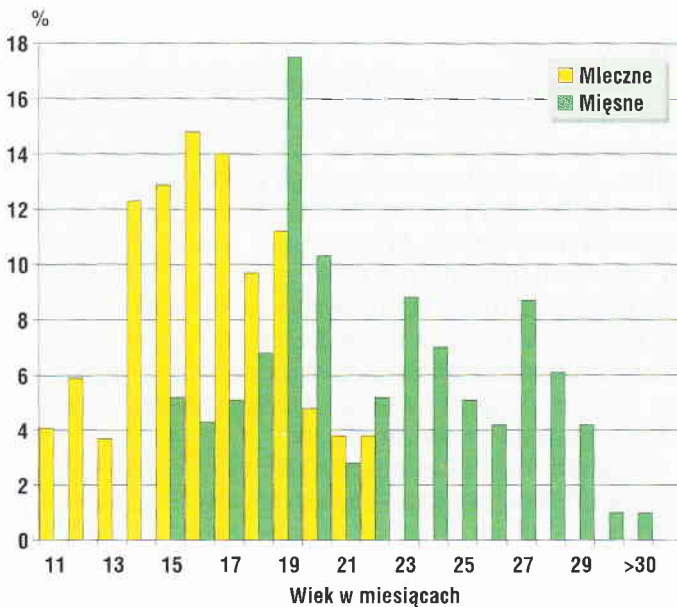
Tabela 1 przedstawia przyczyny odstępowania od zabiegu pozyskiwania zarodków oraz rodzaje i częstość komplikacji lub trudności napotkanych podczas po-

zyskiwania zarodków od jałowic poddawanych superowulacji. Z przeprowadzonych obserwacji własnych wynika, że zabiegu pozyskiwania zarodków nie wykonano u 37 (12,9%) spośród 285 poddanych superowulacji jałowic. W tej grupie dawczyń, najliczniejsze (34 samice – tj. 11,9% ogółu dawczyń i 91,8% spośród samic, od których nie pozyskiwano zarodków) były samice, których nie poddano zabiegowi na skutek braku reakcji jajników na egzogenną gonadotropinę. Przypadłość ta nieco rzadziej dotyczyła jałowic ras mlecznych (19-11,1%) niż mięsnych (15 jałowic – 13%). Wydaje się, że pewien wpływ na występowanie tej komplikacji mógł mieć wiek i rasa jałowic. Rycina 2 przedstawia częstość i przyczyny rezygnacji z pozyskiwania zarodków u jałowic dawczyń ras mlecznych z uwzględnieniem ich wieku, natomiast ryc. 3 – częstość rezygnacji z zabiegu pozyskiwania zarodków na skutek braku reakcji jajników u jałowic ras mięsnych w zależności od ich wieku. Z przedstawionych danych wynika, że do 16. miesiąca życia brak reakcji jajników na podanie hormonów notowano u 27,2% i 7,6% jałowic mięsnych i mlecznych, podczas gdy u samic starszych odpowiednio u 11,5% i 8,8%. Być może obserwowane różnice mogły być także efektem różnic w terminie dojrzewania względnie *anestrus* obserwowanego u krów ras mięsnych. Równocześnie nie można do końca wykluc-

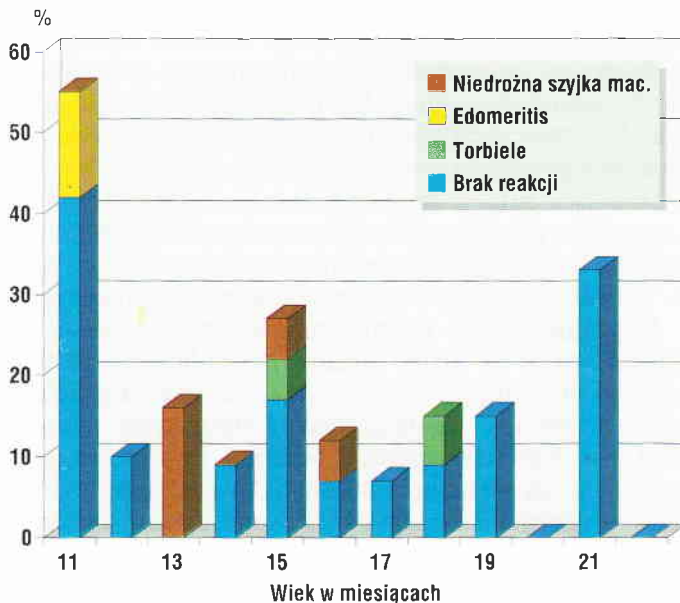
Tab. 1. Przyczyny odstąpienia od zabiegu pozyskiwania zarodków oraz rodzaje i częstość komplikacji lub trudności występujących podczas pozyskiwania zarodków od jałowic poddanych superowulacji

Wyszczególnienie	Trudności i komplikacje		
	mleczne	mięsne	razem
Liczba jałowic poddanych superowulacji	170	115	285
Brak reakcji na gonadotropiny	19 (11,1%)	15 (13,0%)	34 (11,9%)
Torbiele jajnikowe	2 (1,2%)	0	2 (0,7%)
Ropne zapalenie błony śluzowej macicy	1 (0,6%)	0	1 (0,35%)
Liczba jałowic zakwalifikowanych do wyptukiwania zarodków	148 (87,0%)	100 (86,9%)	248
Niemożliwość penetracji szyjki macicznej	3 (2%)	0	3 (1,2%)
Liczba wyptukanych jałowic	145 (85%)	100 (86,9%)	245 (86%)
Grupa I – niedostateczna reakcja na FSH, wyptukane OE, brak TRE	10 (8,6%)	12 (12%)	22 (%)
Grupa II – niedostateczna reakcja na FSH, brak OE i TRE	9 (6,2%)	9 (9%)	18 (7,3%)
Grupa III – dobra reakcja na FSH, wyptukane OE, brak TRE	9 (6,2%)	5 (5%)	14 (5,7%)
Grupa IV – dobra reakcja na FSH, brak OE i TRE	5 (3,4%)	2 (2%)	7 (2,9%)
Trudności	5 (3,4%)	1 (1%)	6 (2,4%)
Perforacje macicy	2 (1,4%)	0	2 (0,8%)
Uszkodzenia błony śluzowej macicy	2 (1,4%)	3 (3%)	5 (2%)
Obecność ropy w śluzie macicznym	2 (1,4%)	1 (1%)	3 (1,2%)

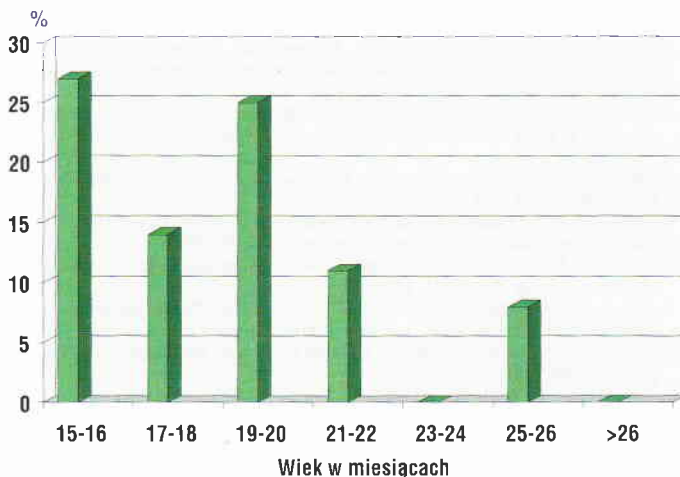
Objaśnienia: OE – pozyskane komórki jajowe i zarodki, TRE – pozyskane zarodki przydatne do transferu



Ryc. 1. Dystrybucja poddanych superowulacji jałowic dawczyń ras mlecznych i mięsnych



Ryc. 2. Częstość i przyczyny rezygnacji z pozyskiwania zarodków w jałowic dawczyń ras mlecznych



Ryc. 3. Częstość rezygnacji z pozyskiwania zarodków na skutek braku reakcji jajników w jałowic ras mięsnych w zależności od ich wieku

czyć że zastosowano optymalną dawkę FSH. W tym przypadku niezamierzony, niekorzystny efekt mogła spowodować zarówno zbyt niska, jak i zbyt wysoka dawka hormonu. Ostatnio coraz częściej preferowane jest używanie mniejszych niż rekomendowane dawek hormonów. Z kolei wiek jałowic dawczyń w przeciwieństwie do ich rasy nie wywiera istotnego wpływu na efektywność superowulacji mierzoną m.in. liczbą zarodków przydatnych do transferu u jałowic powyżej 13. miesiąca życia (11).

Duże, nie uległe owulacji pęcherzyki lub torbiele jajnikowe stwierdzono u 4 jałowic (1,4%). Tylko w dwóch przypadkach (0,7% ogółu superowulowanych jałowic i 5,4% spośród zdyskwalifikowanych dawczyń) były one przyczyną rezygnacji z zabiegu pozyskiwania zarodków. W pozostałych dwóch natomiast stwierdzono je na powierzchni jednego jajnika. Od samic tych pozyskano odpowiednio 3 i 6 zarodków przydatnych do transferu. Częstość dużych pęcherzykowatych tworów na powierzchni jajników krów dawczyń zarodków notowana w dniu pozyskiwania zarodków może wynosić 3,5-8% (1, 8). U części zwierząt torbielowate zmiany stwierdzone po superowulacji są obecne na jajniku(ach) już w dniu jej rozpoczynania. Obecność torbieli jajnikowych, towarzyszących ciała żółtemu w podrozpoczynaniu poliowulacji nie wyklucza reakcji na FSH (4). Przykładowo, od krów dotkniętych torbielowatością uzyskiwano przeciętnie 1,6 zarodków przydatnych do transferu (8). U pewnej grupy dawczyń duże, niezowulowane pęcherzyki lub torbiele jajnikowe mogą być następstwem zaburzenia procesu owulacji w wyniku podawania egzogennych gonadotropin (2, 6, 9). Ich obecność wiązana jest nie tylko z rodzajem stosowanych preparatów gonadotropowych, ale także z wysokością używanych dawek (2). Przeważnie po podaniu FSH ich częstość jest mniejsza niż po iniekcjach PMSG (2, 9).

Tylko u jednej samicy w dniu przystąpienia do zabiegu wyplukiwania zarodków stwierdzono ropne zapalenie błony śluzowej macicy. Jałowicę tę skierowano do leczenia.

Z 285 poddanych superowulacji jałowic, zarodki wyplukiwano od 248 to jest 87%. Z tej grupy samic u 3 (1,2%) napotkano na poważne trudności podczas pasażu katerera przez światło szyjki macicznej. Po wielu nieudanych próbach zrezygnowano z wyplukiwania zarodków, pozyskując je ostatecznie od 245 jałowic (85,9%) – 148 jałowic mlecznych oraz 100 jałowic mięsnych. W tej grupie zwierząt jedną z głównych przyczyn nie przeprowadzenia zabiegu pozyskiwania zarodków były trudności podczas pasażu katetera przez światło szyjki macicznej. Ogólnie natrafiono na nie u 9 jałowic (3,6%) przy czym u 3 (1,2%) z nich, pomimo stosowania rozwieracza i zmiany średnicy katetera, jego wprowadzenie do macicy okazało się niemożliwe. Dodać należy, że umiarkowane trudności podczas penetracji kateterem szyjki macicznej notowano głównie u jałowic ras mlecznych, u których szyjka jest dłuższa i silniej zwarta niż u jałowic mięsnych. Częściej napotymano na nie u jałowic poniżej 14. miesiąca życia

(12,3%) niż u starszych (7,6%). W uzupełnieniu dodać należy, że u 11-miesięcznych jałowic komplikacja ta dotyczyła 2 (28,5%) spośród 7 poddanych superowulacji samic. Trudności podczas penetracji szyjki macicznej nie można także wykluczać u jałowic mięsnych. Należy jednak wyraźnie podkreślić, że zabieg wypłukiwania zarodków u dawczyń mięsnych przeprowadzano na jałowicach starszych niż 14 miesięcy.

W tej grupie zwierząt podstawowym problemem, istotnie rzutującym na efektywność superowulacji były przypadki, w których nie pozyskano zarodków w ogóle. Komplikację tę odnotowano u 61 (24,8%) jałowic – 33 (22,2%) jałowic $cb \times hf$ i 28 (28%) jałowic ras mięsnych. W rzeczywistości niesatysfakcjonujące wyniki superowulacji mogą być znacznie częstsze. Z nowszych badań krajowych wynika, że spośród dawczyń, od których pozyskiwano zarodki po raz pierwszy tzw. złe dawczyni – to jest takie, od których pozyskiwano dwa i mniej zarodków – stanowiły 63,4% (6). Podobne rezultaty przedstawiali badacze argentyńscy, którzy analizowali wyniki ponad 5 tys. dawczyń poddawanych superowulacji w warunkach komercyjnych (9).

Dawczyni, od których nie pozyskano zarodków przydatnych do transferu podzielono na cztery grupy. Do pierwszej zaliczono dawczyni, u których reakcja na gonadotropiny była niedostateczna (2-3 ciała żółte na jajnikach) i od których mimo obecności w popłuczynach pojedynczych zarodków lub komórek jajowych nie pozyskano zarodków przydatnych do transferu. W grupie drugiej zestawiono dawczyni z niedostateczną reakcją na gonadotropiny, u których nie pozyskano ani zarodków i komórek jajowych, ani zarodków przydatnych do transferu. Do grupy trzeciej zaliczono dawczyni, u których stwierdzano dobrą i bardzo dobrą reakcję na gonadotropiny (powyżej 3 ciała żółte na każdym jajniku) i od których, mimo obecności w wypłuczynach licznych zarodków lub komórek jajowych, nie pozyskano zarodków przydatnych do transferu, do grupy czwartej natomiast – dawczyni, u których stwierdzano dobrą i bardzo dobrą reakcję na gonadotropiny i od których nie pozyskano ani zarodków i komórek jajowych, ani zarodków przydatnych do transferu. W tej grupie zdarzały się skrajne przypadki, w których – mimo obecności 20-25 ciałek żółtych na jajnikach – wypłuczyny nie zawierały zarówno zarodków jak i komórek jajowych.

Najliczniejszą okazała się grupa pierwsza, do której zakwalifikowano 22 dawczyni (9% ogółu wypłukiwanych dawczyń) oraz druga – 18 dawczyń (7,3% ogółu wypłukiwanych dawczyń). Od 14 dawczyń (5,7%) pozyskano wprawdzie liczne zarodki i komórki, jednak nie wypłukano ani jednego zarodka, wreszcie od 7 (2,8%) mimo dobrej lub bardzo dobrej reakcji na gonadotropiny z macicy nie wypłukano ani komórek jajowych, ani zarodków.

W warunkach fizjologicznych zarodki (lub niezapłodnione komórki jajowe) można wypłukać u krów ze szczytów rogów macicznych około 5 dni po owulacji (3). Brak zarodków lub komórek jajowych w popłuczynach macicznych pozyskiwanych w 7. dniu po rui – zwłaszcza od krów dobrze reagujących na hormony –

może wskazywać na poważne zaburzenia transportu do macicy.

Mechaniczne uszkodzenia błony śluzowej macicy lub przebiccia kateterem jej ściany pośród odnotowanych u jałowic dawczyń komplikacji miały znacznie marginalne. Za uszkodzeniem naczyń krwionośnych błony śluzowej macicy przemawiała obecność krwi w popłuczynach macicznych. W badaniach własnych przypadki takie odnotowano u 5 (2%) jałowic. U dwóch jałowic natomiast (0,8%) doprowadzono do perforacji ściany macicy w miejscu rozwidlenia jej rogów. Ani mechaniczne uszkodzenia naczyń błony śluzowej macicy, ani perforacje ściany macicy nie spowodowały rezygnacji z pozyskiwania zarodków.

Ostatnią niewielką grupę stanowiły 3 (1,2%) samice, u których w popłuczynach macicznych stwierdzano obecność dużych ilości śluzu zmieszanego z wydzielaną ropną.

Reasumując, głównym powodem niepowodzeń notowanych podczas pozyskiwania zarodków od jałowic w wieku powyżej 10 miesięcy stanowi w warunkach krajowych brak reakcji lub niedostateczna reakcja samic na egzogenne gonadotropiny. Fakt ten wydaje się wskazywać, że czynnikiem wymagającym szczególnej troski jest odpowiedni dobór oraz przygotowanie jałowic dawczyń zarodków. Odpowiednie przygotowanie dawczyń powinno uwzględniać z jednej strony ich optymalne żywienie, z drugiej stosowanie sprawdzonych i skutecznych programów hormonalnych. Zapewnienie spójności obu tych elementów wydaje się przy tym w większym stopniu dotyczyć dawczyń ras mięsnych.

Czynniki natury technicznej napotymane podczas pozyskiwania zarodków od jałowic – polegające przede wszystkim na trudnościach podczas wprowadzania katetera do macicy – mają znaczenie marginalne. Ich stosunkowo niewielka częstość będzie – po zapewnieniu optymalnych warunków środowiskowych oraz prawidłowego hormonalnego przygotowania dawczyń – czynnikiem sprzyjającym dalszemu obniżaniu wieku u poddawanych superowulacji jałowic.

Piśmiennictwo

1. Bak A., Greve T., Schmidt M.: Effect of superovulation on reproduction, *Theriogenology* 1989, 31, 169 abstr.
2. Boryczko Z., Bostedt H., Gajewski Z., Witkowski M., Hoffman B.: Morphological and hormonal changes after superovulation in cows treated with Neutra – PMSG. *Arch. Vet. Pol.* 1994, 34, 117-126.
3. Hackett A. J., Durnford R., Marcus G. J.: Efficiency of nonsurgical collection of embryos from superovulated cows on day 5. *Can. J. Anim. Sci.* 1992, 72, 713-715.
4. Jaśkowski J. M., Zbylut J.: Przebieg superowulacji i jej wynik u torbielowatej krowy. *Byd. Biul. Wet.* 1995, 5, 39-41.
5. Jaśkowski J. M.: Transfer zarodków bydłych w Polsce w latach 1997-1998 – skala i skuteczność metody. *Medycyna Wet.* 2000, 56, 29-31.
6. Jaśkowski J. M., Zbylut J.: Transfer zarodków bydłych w kraju – statystyka i problemy. *Życie Wet.* 2002, 138-140.
7. Jaśkowski J. M., Zbylut J., Budzińska K., Urbaniak K.: Przewidywanie wyniku superowulacji u krów. *Medycyna Wet.* 2003 (w druku).
8. Kawamata M.: Superovulation of holstein cows with follicular cysts. *Theriogenology* 1999, 51, 408 abstr.
9. Springmann K., Holtz W., Zerobin K.: Hormonal imbalance after superovulation of beef heifers with PMSG. *Theriogenology* 1986, 25, 201.
10. Tonhati H., Lobo R. B., Oliveira H. N.: Repeatability and heritability of response to superovulation? *Theriogenology* 1999, 51, 1151-1156.
11. Zbylut J., Jaśkowski J. M.: Efektywność superowulacji u jałowic. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 37-40.

Adres autora: prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski, ul. Św. Trójcy 35/50, 85-224 Bydgoszcz; e-mail: jmjaskowski@g02.pl