

Forschungsziele

- Erhöhung der Anzahl von transfertauglichen Embryonen
- Senkung der Variabilität
- Vereinfachung der Superovulationsbehandlung
- Erhöhung der Trächtigkeitsrate

Variabilität

- ähnliche Superovulationsprotokolle innerhalb der Rinderrassen:
 - 0 bis zu mehr als 100** gewonnenen Eizellen/Embryonen,
 - 0 bis mehr als 60** Embryonen von guter Qualität (Moore and Hasler, J. Dairy Sci. 100:10314–10331)
 - 2048 Rindfleischspender
 - 11,5 gewonnene Eizellen/Embryonen davon 6,2 transfertauglicher Embryonen
 - **24%** Spülungen waren ohne **transfertauglichen Embryo**
 - **2/3** aller Spender produzierte **weniger als der Durchschnitt**
 - **1/3** aller Tieren produzierte **70% von Embryonen** (Looney CR., 1986, pp. 16–29.)
 - 987 Holstein Kühe- Embryogewinnung niedriger, aber ähnliche Variabilität (Lerner S. et al., J Anim Sci 1986;63:176–183)
- Hohes Maß an **Unvorhersehbarkeit** der superovulatorischen Reaktion
- **Effizienz** und **Rentabilität** von Embryotransferprogrammen betroffen

Variabilität

Tier:

- Rasse
- Alter
- Laktationsphase
- Ernährungszustand
- Fortplanzungsgeschichte

Behandlung:

- Präparate und Gesamtdosen von Gonadotropinen
- Dauer der Behandlung
- Beginn der Superovulationsbehandlung
- Verwendung anderer Hormonen

Beginn der Superovulation

- höhere superstimulatorische Reaktion, wenn Behandlung vor der Selektion eines dominanten Follikels erfolgt
- mehrere Ovulationsstellen, wenn Behandlung **am Tag des Auftretens der Follikelwelle** statt am Tag vor oder 1 bzw. 2 Tage nach dem Auftreten der Follikelwelle beginnt
- Jederzeit neue Follikelwellen induzieren, eine Superstimulation kann unabhängig vom Stadium des Östruszyklus induziert werden

Induktion der Follikelwelle

- Ultraschall-geleitete Follikelablation: alle **Follikel über 5 mm**
- neue Follikelwelle entsteht: **24–36 Stunden später**
- Start der Superstimulation



Induktion der Follikelwelle

- **Ablation der zwei größten Follikel** unabhängig vom Ovarzyklus
- **Gestagenapplikation**
- **FSH-Behandlung 24 bis 48 Stunden** später

Baracaldo et al. (2000): Theriogenology 53, 1239-1250

Induktion der Follikelwelle

- **GnRH**: Ovulation des dominanten Follikels; **neue Follikelwelle** entsteht **1-2 Tage später**
- GnRH – zyklusunabhängig: Ovulation erfolgt bei weniger als **60% der Tiere**
- **GnRH** Applikation **2 Tage nach** Beginn einer **Gestagenbehandlung** (Progestin-induzierte Entwicklung eines persistierenden dominanten Follikels)
- **Start der FSH-Behandlung 60 Stunden** später

Steel and Hasler (2009): Reprod Fertl Dev 21, 246

FSH-Behandlung

- Einmalige Applikation: Tierstress, 1 statt 8 Behandlungen
- **Fleischrassen**: einmalige s.c. Injektion von FSH (Fettgewebe)
- **Holsteins**: FSH aufgeteilt auf 1. Tag mit **75%** s.c. und 48 Stunden später **25 %**
- **Fleischrassen**:
- **2% Hyaluronsäure** (20 mg/ml) einmalige i.m Injektion von FSH

Bo et al (2010): Reprod. Fertl. Dev. 22, 106–112

- **0,5-1% Hyaluronsäure** (5 und 10 mg/ml) FSH aufgeteilt:
2/3 i.m. 1. Tag und **1/3** 48 Stunden später mit PG-Applikation

Tribulo et al. (2012) : Theriogenology 77, 1679–1685

FSH-Behandlung

- **Epidurale Applikation:**
- Medikamente werden langsam freigesetzt
- FSH wird im epiduralen Fettgewebe gebunden
- FSH wurde in 5 ml Kochsalzlösung gelöst und in den epiduralen Raum auf Höhe der Schwanzwirbel verabreicht
- 48 h später wurde PG i.m. appliziert

Sakaguchi et al. (2018): J. Reprod. Dev. 64: 451–455

Künstliche Besamung „time-fixed - AI“

- ohne Brunsterkennung
- **PG Applikation** (mit 5. und 6. FSH-Injektion)
- **24/36 Stunden** (Holstein Kühe) nach 1. PG-Appl. wird **Gestagenbehandlung** beendet
- **24 Stunden nach Beendigung der Gestagenbehandlung** wird **GnRH/LH** verabreicht
- nach weiteren **24-36 Stunden** wird **Ovulation** erwartet
- **Besamung: 12 und 24 Stunden** nach GnRH/LH

Martins et al. (2012): Theriogenology 78, 974–980

Gesexter Samen

- **Gesexter Samen:**
 - Niedrige Konzentration im Straw (2/4 Millionen)
 - Schritte der Samenbehandlung:
 - Verarbeitung vor der Kryokonservierung erfolgt in 20 Schritten (Zeit!)
(konventionell: 3-4 Schritte)
 - Veränderung am Spermium?
 - Kapazitation, Beweglichkeit, Bindungsfähigkeit an die Eileiterzelle, Vitalität
 - Ovulationsnahe Besamung
- **Superovulation von Milchrasen (Holstein und Ayrshire):**
 - Besamung: **12 Stunden** nach dem Beginn einer stehender Brunst
 - Konventionell: 2x 15 Millionen Spermien
 - Sex-sorted- **tiefe intrauterine Besamung**- 4+4+2 Millionen Spermien

Mikkola and Taponen (2017): Theriogenology 87, 135–140

Gesexete Samen

- **SexedULTRA gesexete Samen:**
 - Komplette Überarbeitung aller für den Prozess verwendeten Medien
 - Holstein Kühe
 - Besamung: **18 Stunden** nach dem Beginn einer stehender Brunst
 - **4+4+2 Millionen Spermien**
 - KB innerhalb **10 Stunden**

Dell'Eva et al. (2019): Reprod Dom Anim. 54, 756–761

Forschungsthemen

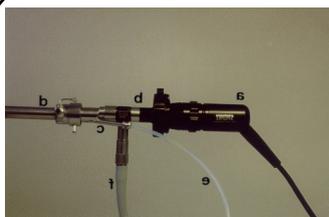
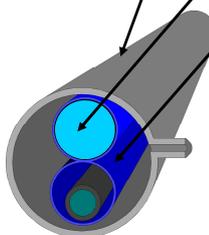
Superstimulation unter Verwendung von FSH/eCG

→ Entwicklung der Follikel/Eizellen unter
abnormalen hormonellen Bedingungen

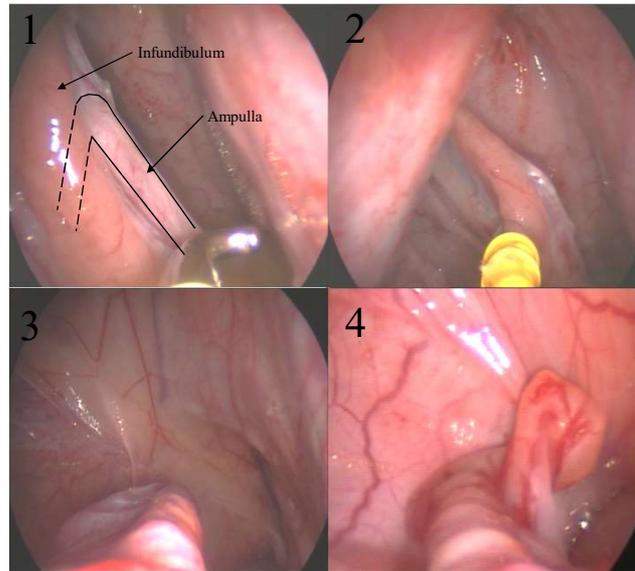
→ Embryoentwicklung für 6-8 Tage in
„überstimulierten Zwischenempfängern“

- Transport der Eizellen/Embryonen
- Frühe embryonale Entwicklung

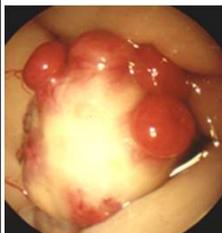
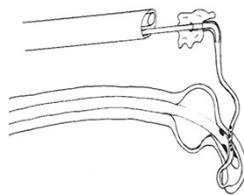
Transvaginale Endoskopie



Endoskopischer Zugang zum Eileiter



Embryogewinnung



Transport

- Auffangen der Eizelle nach der Ovulation
- Transport im Eileiter
- Übergang ins Uterus

19

Frühe embryonale Entwicklung

1. Embryonen wurden aus superovulierten Tieren am Tag 2 gewonnen und bis Tag 7 in vitro kultiviert oder erst am Tag 7 gewonnen
2. Embryonen wurden nach IVM/IVF am Tag 2 in den Eileiter von einfach ovulierten oder superovulierten Tieren transferiert und bis Tag 7 kultiviert
3. Embryonen von superovulierten Tieren wurden entweder am Tag 2 gewonnen und in den Eileiter von einfach ovulierten Tieren transferiert und bis Tag 7 kultiviert oder erst am Tag 7 gewonnen

Fazit

- Erfolg und Misserfolg unterliegen von multifaktoriellen Einflüssen
- Ergebnisse sind vorwiegend von der Fütterung, Haltung und dem individuellen Tier abhängig
- Hormonelle Behandlung bedeutet „Synchronisation“:
 - Zyklus
 - Follikelwelle
 - Eizelle, Zellen im Follikel...
- Neue wiss. Wege liefern wesentliche Kenntnisse zur Verbesserung und Effizienzsteigerung beim ET

