

# EMBRYOTRANSFER

## gissel eller möjlighet ?

På många håll i världen och inom vissa raser är embryoöverföring hos häst en vanlig företeelse och utförs i ganska stor utsträckning. I länder som USA, Australien, Argentina m.fl är det snarare rutiner än kuriosas.

Inom vissa raser tillåts det däremot inte alls, t.ex fullblodsaveln. Många är de som är mycket skeptiska till ingreppet, och den vanligaste anledningen till detta är nog att man tror att "tillåter vi embryo överföring är steget inte långt till kloning och genmanipulation". Och visst förutsätter kloning att man kan ta ut embryon, men steget från urspolning och överföring av embryon till mer avancerade labmetoder som till exempel kloning är ändå mycket stort, åtminstone i praktiken.

Den första lyckade urspolningen och överföringen av embryon hos häst rapporterades 1974 av japaner. Nu nästan 30 år senare har man visserligen modifierat metoderna en del, men man lyckas fortfarande inte samla fler än ett eller högst två embryon per tillfälle, och det är detta som är den stora begränsningen när det gäller häst. Det är alltså mycket svårt, för att inte säga nästan omöjligt att få ett sto att superovulera, dvs ha flera ägglossningar samtidigt och därmed möjliggöra samling av flera embryon.

### Olika motiv

Vilka motiv finns det då för att göra embryoöverföring?

Det absolut vanligaste motivet i Sverige idag är än så länge att man vill låta ett lovande eller väldokumenterat sto fortsätta sin tävlingskarriär och ändå få avkommor. Inom halvblodsaveln är det numera tillåtet att registrera flera avkommor per sto och år, och det finns de som försöker med detta, men eftersom dräktighetsprocenten inte är så hög (ca 50 procent) har det inte lyckats i så många fall hittills. Andra anledningar till embryoöverföring kan till exempel vara att ett sto som i flera år gett mycket bra avkommor skadas



Vetelinär Ann Gånheim på Flyinge i arbete med embryotransfer.

och får svårt att genomgå en hel dräktighet, eller har haft en mycket svår förlossning som försvårar ytterligare dräktighet/förlossning. Ston som aborterar upprepade gånger i sent dräktighetsstadium kan också vara kandidater för ET. Observera dock att problemston som har svårt att ta sig dräktiga, ej är lämpade. Andel ston som blir dräktiga efter embryoöverföring varierar mellan 25 och 70 procent i olika undersökningar. Resultaten beror på många olika faktorer.

### Spermakvaliteten viktig

Givarstoet måste vara i god kondition och ha normal fertilitet. Hos så kallade problemston hittar man embryo vid urspolning endast i 10-15 procent av fallen, medan motsvarande siffra hos fertila ston är 60-70 procent. Spermakvaliteten är av stor betydelse. Enligt en fransk undersökning har man sett att vid seminering med färsk sperma av god kvalitet hittar man embryo hos 55-80 procent av stona, men om fryst sperma används sjunker denna siffra till ca 35 procent!

De mycket varierande resultaten beror på stora skillnader hos ston. Det är till exempel svårt att få bra resultat vid embryoöverföring från äldre ston, men det är ofta de som

är intressanta att göra överföringar från, åtminstone inom vissa raser. Ston i tävlings-kondition tenderar att ge oregelbundna och oförutsägbara resultat; en del producerar embryon utan problem medan andra har stora problem att ta sig dräktiga. Några veckors nedvarning från tävlingar krävs därför oftast för ett lyckat resultat. Tekniskt sett är det alltså de unga stona som är mest lämpade för ET, men för uppfödaren är dessa något av ett vågspel då man ju vet mindre när stoet självt inte har börjat prestera något.

### Olika metoder

Dels kan embryon överföras med den nedan beskrivna oblodiga metoden, vilken numera är den mest använda då tekniken har blivit bättre och bättre, dels kan de överföras med en kirurgisk metod, där man via ett snitt i flanken letar upp livmodern och med hjälp av punktion av livmoderväggen lägger in embryot direkt i hornet. Resultatmässigt skiljer sig dessa metoder inte åt, åtminstone inte i Colorado där uppgifterna är hämtade ifrån. Enligt andra rapporter från framförallt Frankrike, har man bättre resultat med den kirurgiska metoden. Denna är dock inte tillåten i Sverige.

### Embryoöverföring - metodbeskrivning

Det sto som man ska ta ett embryo ifrån, kallas givare, och det sto man lägger in embryot i kallas mottagare.

*ET kräver flera noggrant genomtänkta steg:*

1. Synkronisering av **brunst hos givare och mottagare**
2. **Inseminering** eller betäckning av **givaren, inklusive noggrann kontroll av när ägglossning sker.**
3. **Urspolning samt återfinnande av embryo**
4. **Inläggning i mottagarstoet**  
Synkronisering av brunst mellan givarsto och mottagarsto samt inseminering

De två kategorierna av ston ska vara i samma stadium av brunstcykeln, och därför krävs vanligen synkronisering av brunsterna först. Har man flera mottagarston att välja mellan, förenklas proceduren avsevärt. En viss skillnad får föreligga, så att mottagaren får ha haft ägglossning inom intervallet 24 timmar före till 48 timmar efter givarstoet. För att åstadkomma detta ges prostaglandin efter gynekologisk undersökning. Inom 3-5 dagar fås en brunst, och givarstoet kan insemineras. Det är dock inte alltid detta går på första försöket, framför allt om det är ett tävlingssto som redan nämnts.



Föl tillkomna med en embryotransfer är som vilka andra föl som helst.

Insemination med färsk sperma görs som vanligt med 48 timmars intervall, med undersökning av äggstocken för ägglossning var 12:e till var 24:e timma. Om fryst sperma används krävs tätare undersökningar och inseminering enligt anvisning, helst i samband med ägglossning, och därför undersökning var 8:e timme. Den dag ägglossning sker sätts som dag 0.

#### Urspolning av embryo

Urspolningen och överföring kan ske mellan dag 6 och 9 efter ägglossningen. Embryot vandrar ner till livmodern och finns där från dag 6, medan det efter dag 9 är så pass stort att skaderisken vid hantering ökar. Vanligast är att man spolar dag 7-8. Givarstoet tvättas som inför en seminering, och spolat med speciell lösning. Denna kan vara steril koksaldlösning med tillsatts av kalvserum, eller andra speciallösningar.

Via en för ändamålet speciell kateter som har en luftkudde vid inre öppningen, i avsikt att förhindra att vätskan rinner ut vid sidan om katetern under pågående procedur, hålls vätskan in i stoet. Efter några minuter i stoet återvinns vätskan som då rinner ut genom självtryck. När livmodern spänns ut av vätskan uppkommer momentant sammandragningar i livmoderväggen. Dessa utnyttjas för återflödet av vätskan. All vätska måste komma ut och man kan upprepa sköljningen 2-3 gånger.

Noggrann kontroll över mängden infunderad vätska krävs, liksom över mängden vätska som kommer ut. Vätskan samlas upp i flaskor och filtreras genom ett speciellt embryofilter. På så sätt minskar den mängd vätska som måste letas igenom.

Den här sköljningen görs på samma sätt som när man behandlar ett sto som har livmoder inflammation. Stoet besväras inte av behandlingen och man behöver därför inte söva, bedöva eller använda tvångsmedel för att utföra ingreppet.

#### Embryåterfinning

Vätskan undersöks under mikroskop i 10-15 gångers förstoring. Embryot är ganska känsligt för temperaturförändringar och ljus, och bör läggas in i mottagaren så fort så möjligt. Embryot tvättas ca 10 gånger i fosfatbuffrad saltlösning (PBS) med tillsatts av kalvserum. Därefter suger

man upp det i en minipayett, och efter kontroll i mikroskop att embryoet är på plats läggs det in i mottagaren. Eftersom denna nu inte är i brunst krävs mycket noggrann hygien, och steril handske används. Inläggningen sker i ena livmoderhornet, så långt in man kommer utan att skada livmoderslemhinnan. Försiktig manipulering av livmodermunnen krävs också. Denna inläggning sker helt utan smärtor och reaktioner hos stoet.

Givarstoets insats är nu avslutad och hon kan antingen återgå till andra sysslor eller semineras om i nästa brunst. För att inte urspolningen ska orsaka några problem behandlar man henne i allmänhet med prostaglandin. Dels gör den därvid uppkomna brunsten så att hon renar sig, och dels ser man till att hon inte är dräktig, om man skulle ha misslyckats med att få ut embryot. Mottagarstoet ultraljudas som efter en vanlig inseminering, vid ca 16 och 40 dagars dräktighet. Inga speciella behandlingar krävs, utom i vissa fall då det kan vara aktuellt med antiinflammatorisk behandling vid ett eller flera tillfällen.

#### Framtid

För att detta ska vara attraktivt vore det bäst om man kunde ha en flock med mottagarston ur vilken man kan välja ett sto som är lämpligt i fas med givaren. Det skulle kanske kunna vara ett användningsområde för ston som inte är tillräckligt bra inom sporten och/eller att avla på. Kunde man sen frysa in embryon skulle hanteringen underlättas än mer, och det forskas intensivt på det området. Det går redan idag att frysa embryon, men tekniken behöver utvecklas ytterligare, eftersom dräktigheten efter frysning är ännu sämre. I flera länder kyler man embryon och transporterar dem i equitainer, men mig veterligen görs detta inte i Sverige ännu. Om bara efterfrågan finns - finns möjligheterna!

#### TEXT:

*Ann Gånheim, leg. Veterinär  
Hästkliniken, Bollnäs*