



Euroopa Maaelu Arengu  
Põllumajandusfond:  
Euroopa investeeringud  
maapiirkondadesse

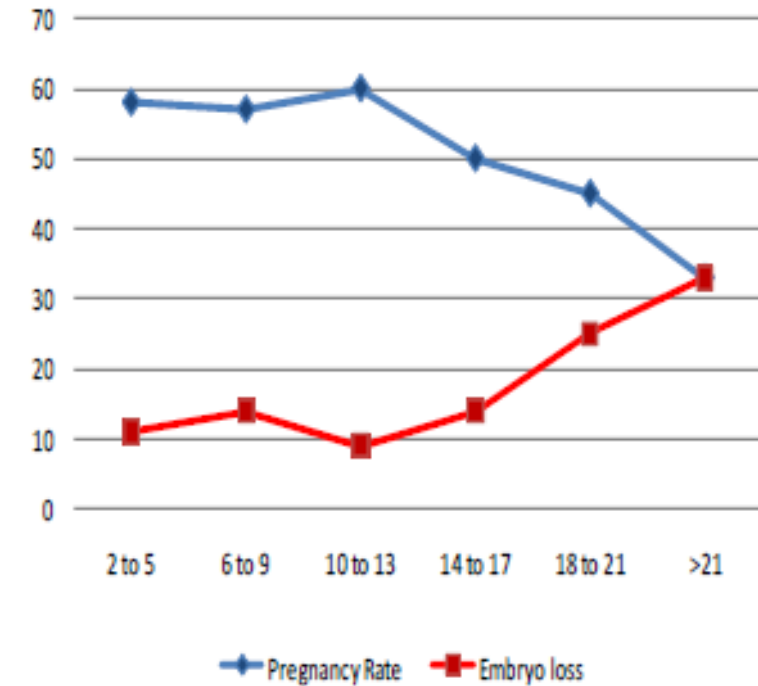
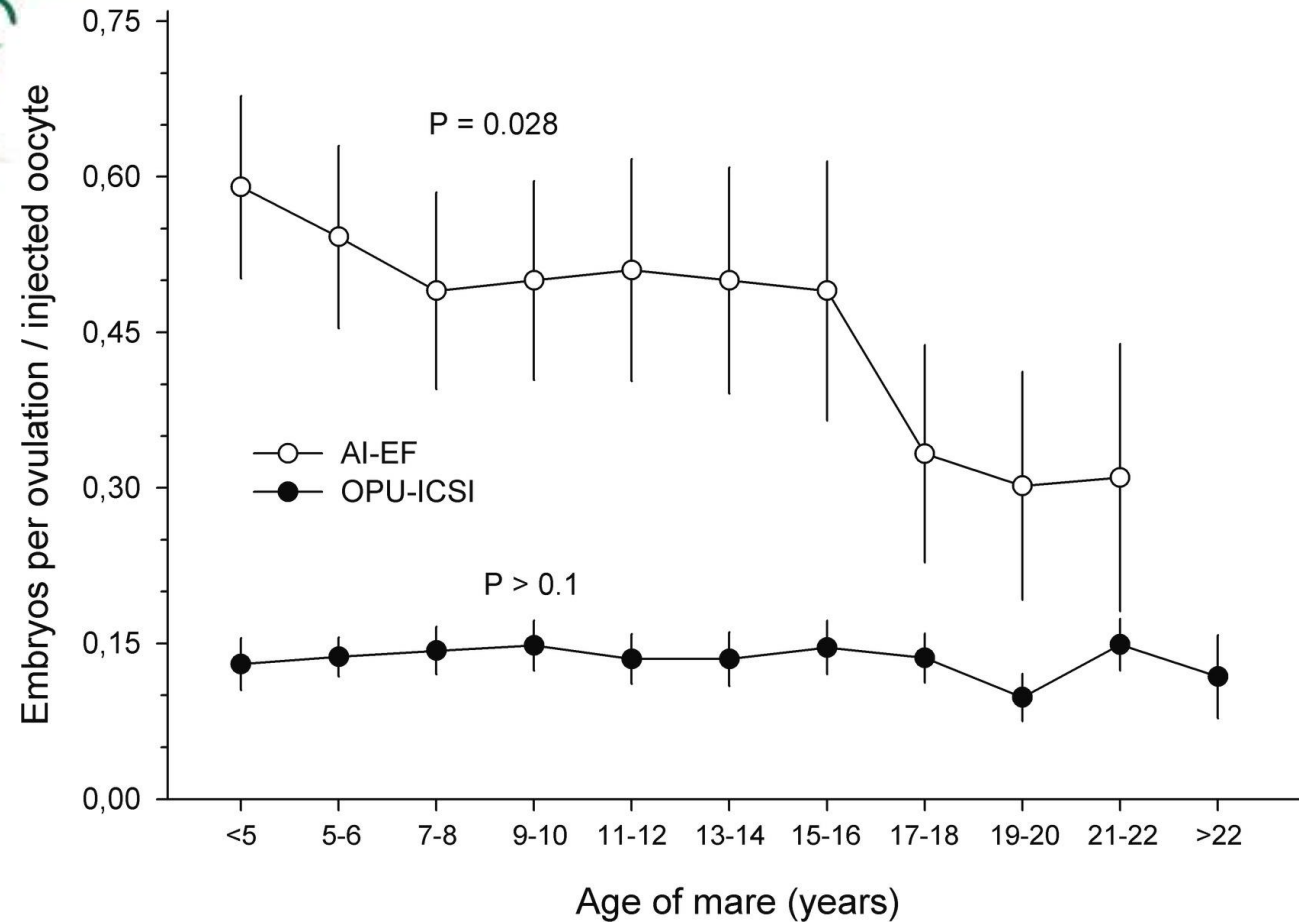
# Reproduktiivtehnoloogiad loomageneetiliste ressursside säilitamisel

Ants Kavak DVM, Dr (vet-med)  
dotsent

# Sigimise füsioloogia

- Mära:
  - Hooajaliselt polüestruseline
  - Innatsükkel 19-24 päeva (keskmine 21 päeva)
  - Ind 5-7 päeva
  - Ovulatsioon 24-48 tundi enne innalõppu
  - Ovuleerub 1 (vahel 2) folliikulit
  - Viljakus hakkab langema 13-15 aastaselt

# Märade sigivus ja vanus



Comparison of conception and foaling rates per cycle and seasonal foaling rates between young and aged mares (mare age in years)

	Young	Aged	Difference
Percentage conception rate per cycle			
	56.6 (3–8)	32 (>18)	24.6 [9]
	57 (10–11)	30 (20–26)	27 [10]
Average	56.8	31	25.8
Percentage foaling rate per cycle			
	46 (2–6)	0 ( $\geq 25$ )	46 [11]
	56.6 (2–4)	25.4 ( $\geq 14$ )	31.2 [2]
Average	51.3	12.7	38.6
Percentage foaling rate per season			
	82.5 (3–8)	47.1 ( $\geq 19$ )	35.4 [9]
	84.7 (2–4)	42.6 ( $\geq 17$ )	42.1 [2]
	85 (10–11)	53 (20–26)	32 [10]
	75 (4)	48 ( $\geq 20$ )	27 [5]
Average	81.8	47.7	34.1

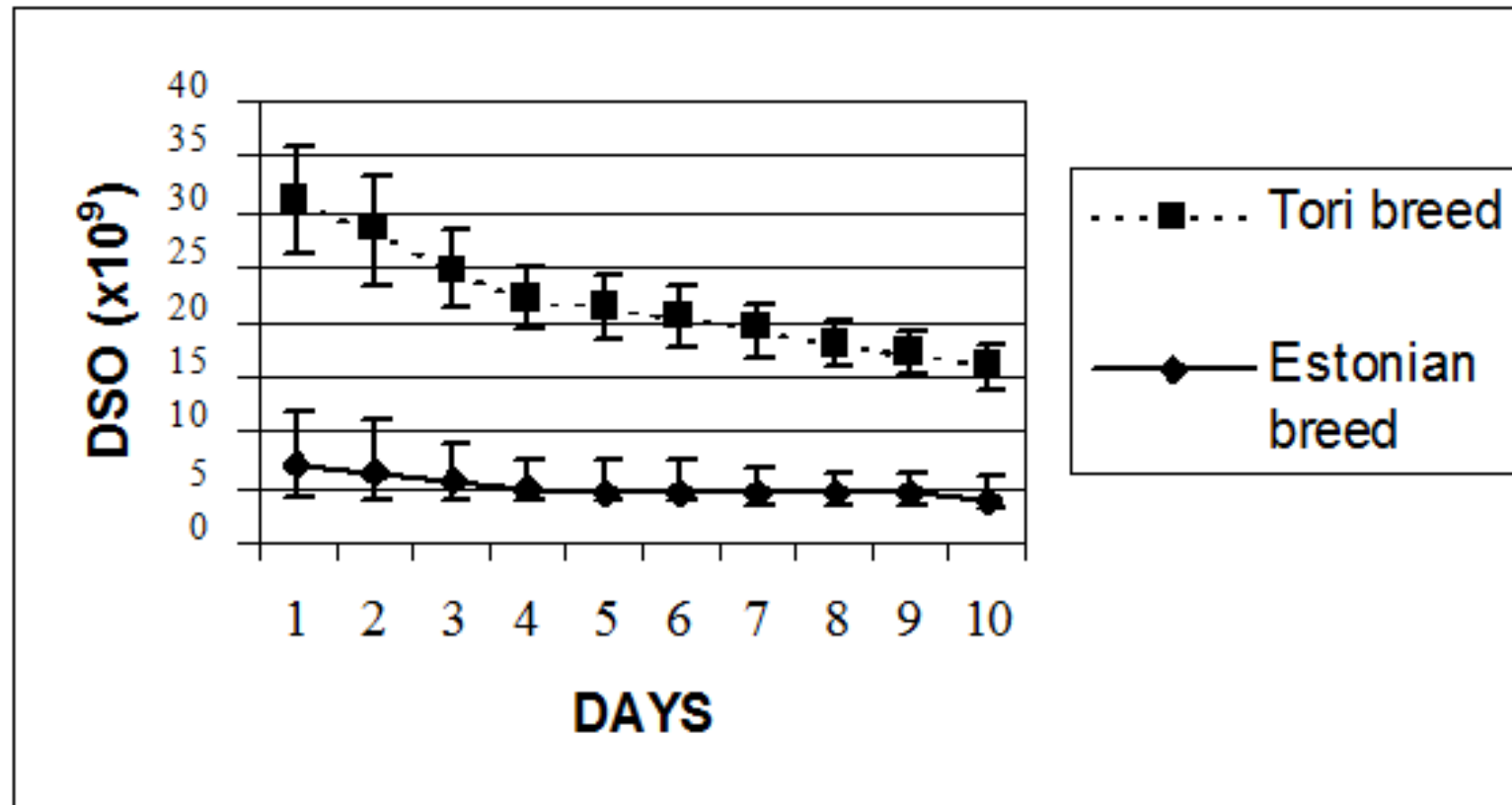
# Täku roll järglaste saamisel

- Toota elusaid ja terveid sperme kes on võimelised viljastama munaraku
- Omama sugutungigi, et huvi äratada emasloomas ning „teenindada“ piisavalt märasid piiratud aja jooksul

# Täkid ja vanus

- Hooajalisus?
- Halveneb sperma kvaliteet
- Väheneb päevane toodetav spermide hulk

# Päevane sperma toodang



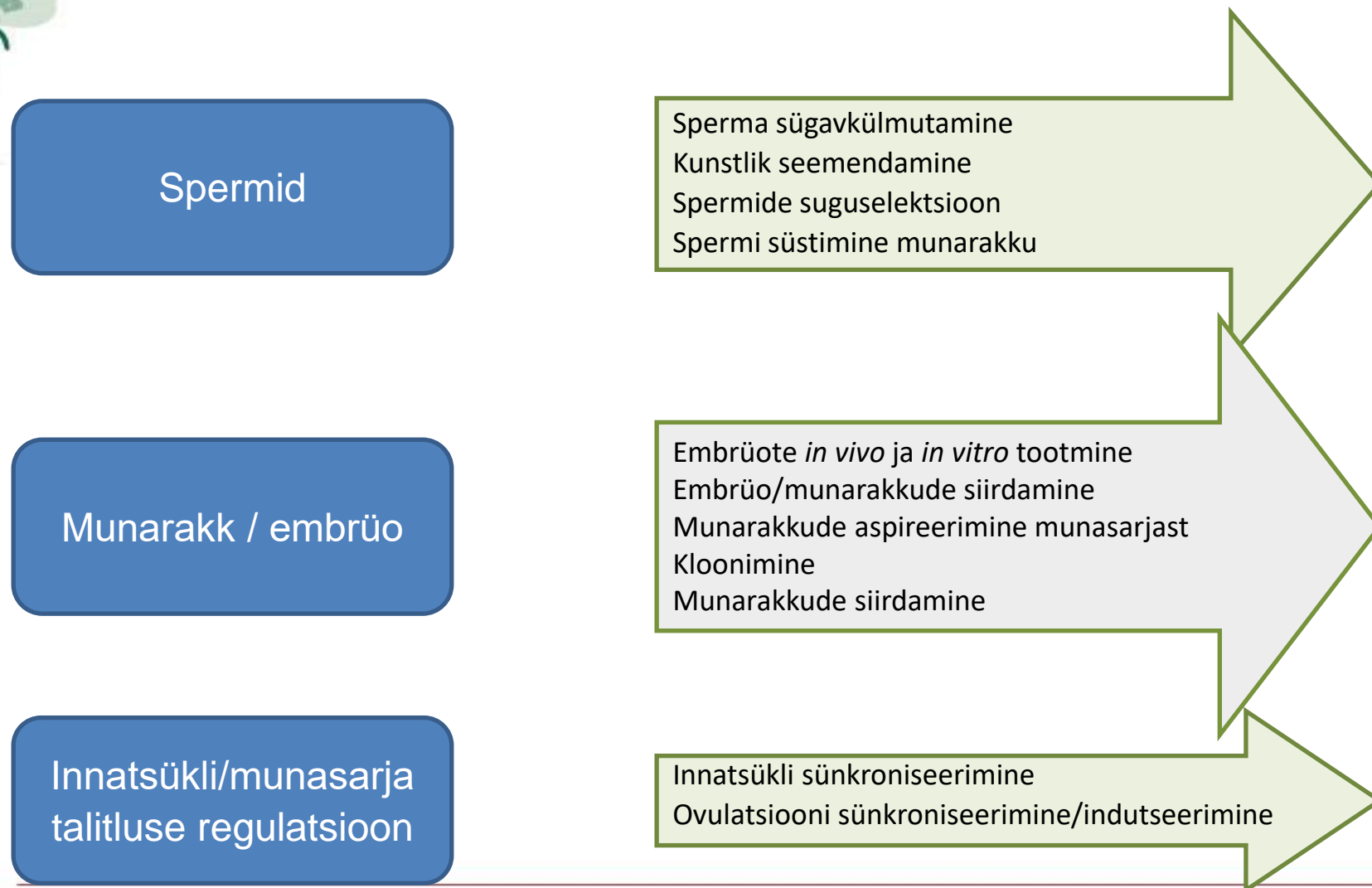


# Sigimise biotehnoloogiad

- Miks?
  - Geneetilise materjali paljundamine/säilitamine
  - Saada järglasi vähenenud viljakusega märadelt ja täkkudelt
  - Munarakkude arengu ning küpsemise, viljastumise ja varajase embrüonaalse arengu uurimiseks
  - Pakkuda võimalusi erinevate teaduste arendamiseks – geenitehnoloogiad, mikromanipulatsioonid



# Sigimise biotehnoloogiad hobustel



# Ajalugu

- Kunstlik seemendamine – 1322
- Seemendamine sügavkülmutatud spermaga - 1957
- Embrüo siirdamine – 1970
- Munaraku siirdamine - 1988
- *In vitro* viljastamine (IVF) - 1991
- Spermi süstimine munarakku (ICSI) - 1996
- Sugurakkude siirdamine munajuhasse (GIFT) – 1998
- Kloonimine - 2001

# Sigimise biotehnoloogia kasutamine

- Saada üks/mitu järglast lühikese ajaga
- Sigimisprobleemidega märad
- Sperma probleemid
- Võistlushobused
- Traumad, ei ole võimelised ise kandma tiinust lõpuni

# Täku sperma sügavkülmutamine

- Eesmärk sperma säilitamine pikemaajaliselt
- Sõltub tükust
  - 25 % hästi külmutatavad (50% liikuvaid sperme)
  - 50 % rahuldavalt külmutatavad (35% liikuvaid sperme)
  - 25 % mitterahuldavalt külmutatavad (alla 35% sperme liiguvad)

# Mära

- Embrüote tootmine/siirdamine
- Munarakkude aspiratsioon munasarjadest
- Munaraku siirdamine
- Spermi süstimine munarakku (ICSI)

# Embrüosiirdamine/doonor

- Munasarjad: arenevad folliikulid, ovuleerub elujõuline/viljastusvõimeline munarakk
- Munajuha: sugurakkude transport, soodne keskkond viljastumiseks ja embrüo esmaseks arenguks, embrüo transport emakasse
- Emakas: sobiv keskkond embrüo esmaseks arenguks kuni embrüo loputuseni
- Emakakael: peab olema funktsioneeriv tiinuse varajases arengus

# Embrüosiirdamine/doonor

- Sobimatud kandidaadid embrüosiirdamiseks:
  - Probleemid munasarjades –ovulatsiooni häired, viljastusvõimetud munarakud
  - Ei viljastu, ebanormaalne varajane embrüonaalne areng
  - Seemendusjärgne endometriit
  - Emakakaela traumad
  - Emaka/munajuha traumad/liited

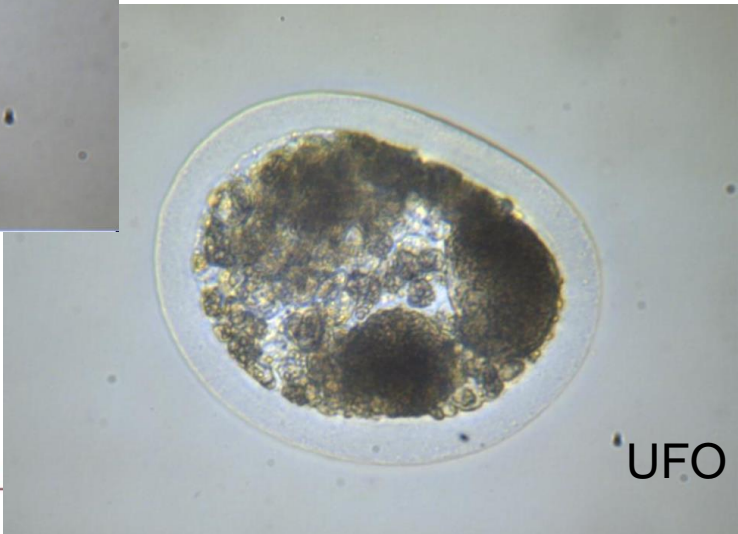
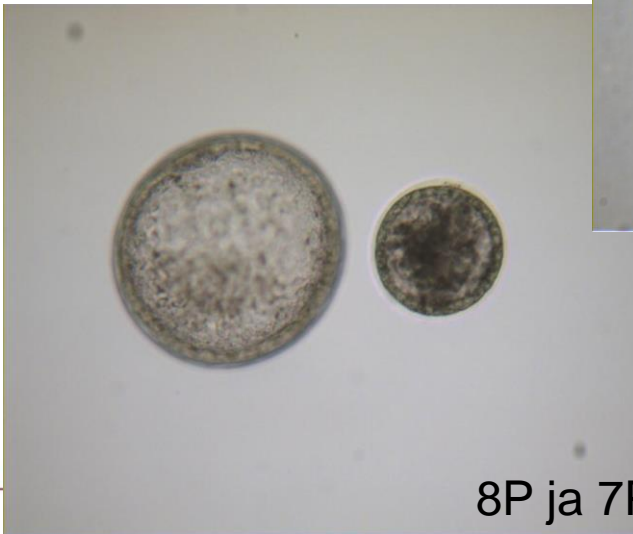
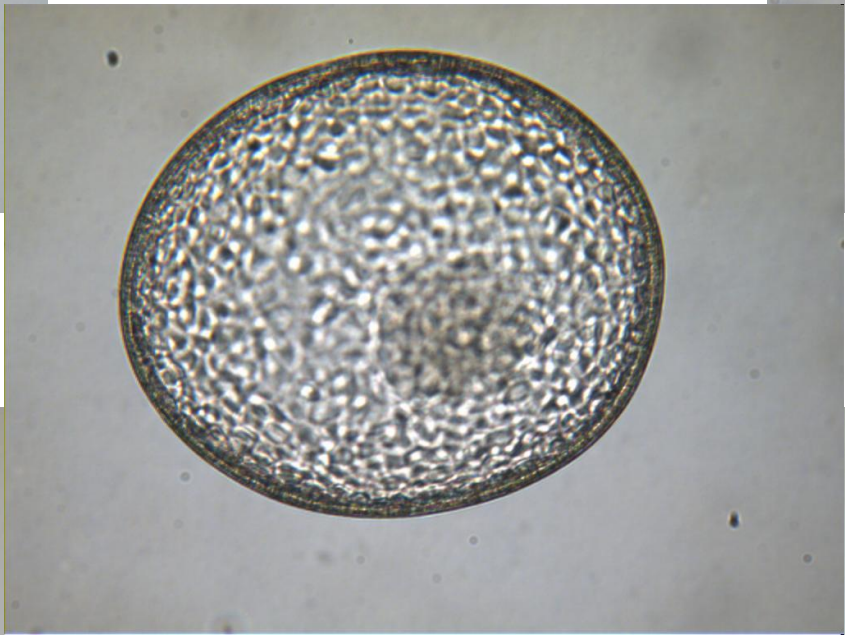
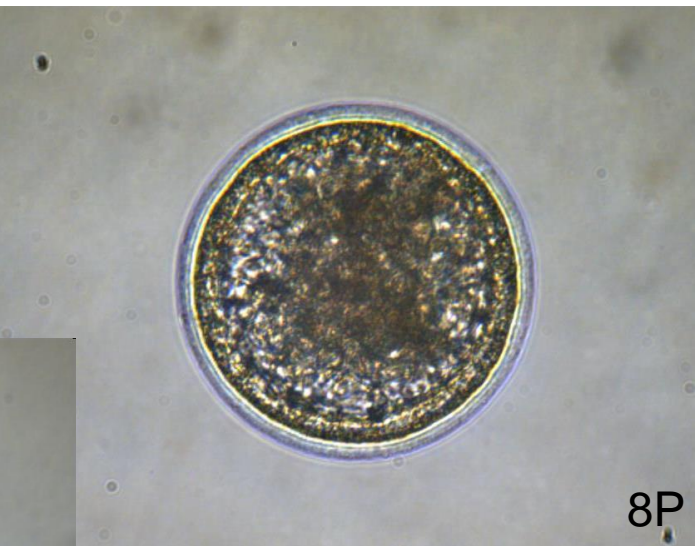
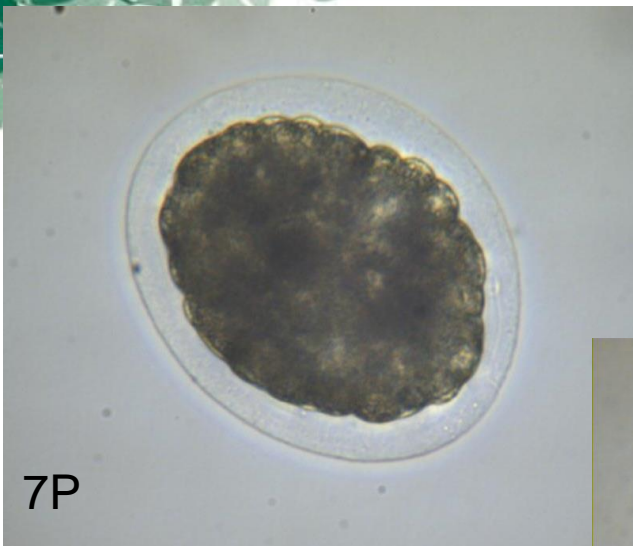


# Embrüosiirdamise puudused

- Superovulatsioon
- Keelatud osadel tõugudel
- Vanematel märadel vähem embrüoid/halvem kvaliteet
- 1 embrüo/tsükkel

# Embrüosiirdamine

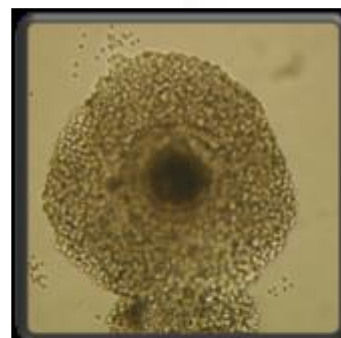
- Embrüo saagis – 75%
- Tiinestumine loputatud embrüotest – 75%
- Innatsüklist tiinestumine -50%



Courtesy of P.McCue,2006, ERL, Colorado State University

# Munarakkude aspireerimine munasarjadest (OPU)

- OPU (Ovum pick-up)  
= munarakkude aspireerimine
- Mida teha munarakkudega edasi?
  - OT: munarakkude siirdamine
  - GIFT: sugurakkude siirdamine
  - ICSI or (IVF)



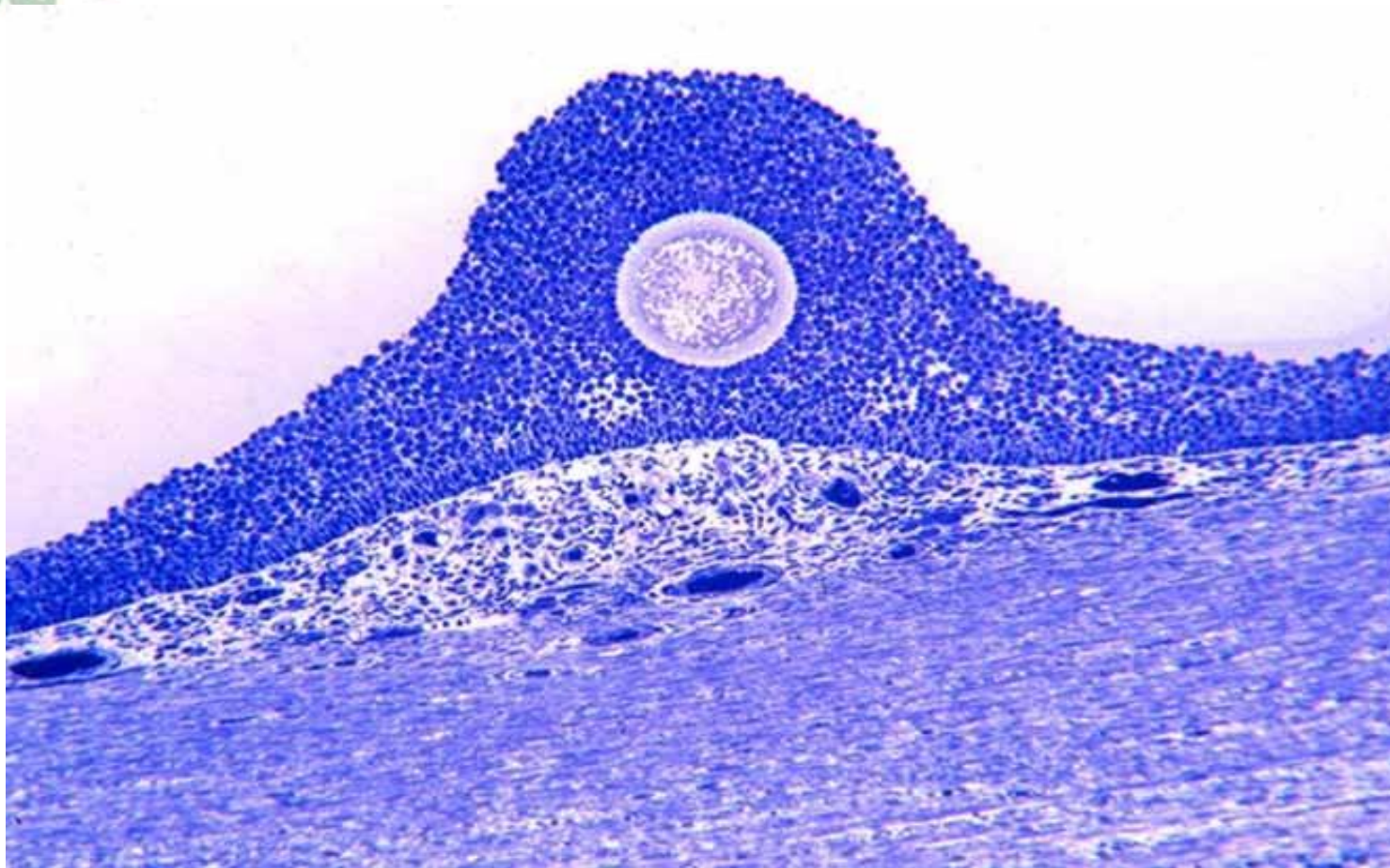


# Munarakkude aspiratsioon munasarjast

- Kūpse munaraku aspireerimine
  - Piiratud ajalisel sigimise hooajalisusega
  - Aspiratsioon ca 21 päeva tagant
  - Munasarjas valminud 1 folliikul enne ovulatsiooni
  - Säilib lühiajaliselt – ICSI 12 tunni jooksul
  - Areneb blastotsüstiks 33-75 % munarakkudest

# Munarakkude aspiratsioon munasarjast

- Mitte küpsete munarakkude aspireerimine
  - Ei sõltu sigimise hooajalisusest
  - Aspiratsiooni vahemik umbes 14 päeva
  - Aspireeritakse üle 5mm kõik nähtavad folliikulid
  - Talvel folliikulid väiksemad aga koguarv sama mis suvel
  - Keerulisem aspireerida
  - Blastotsüste

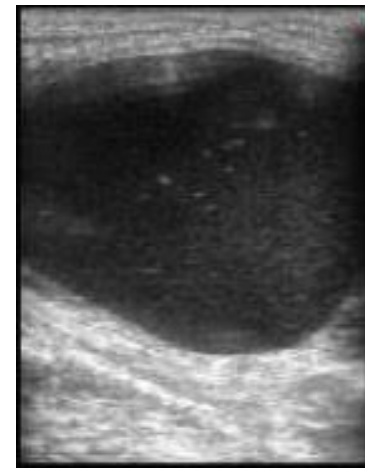
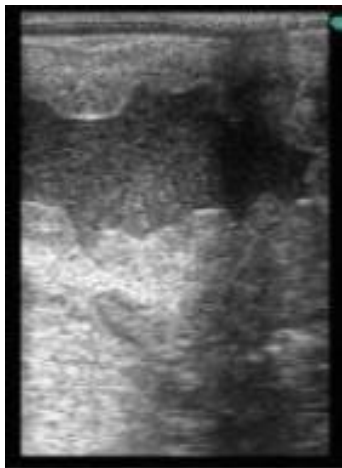




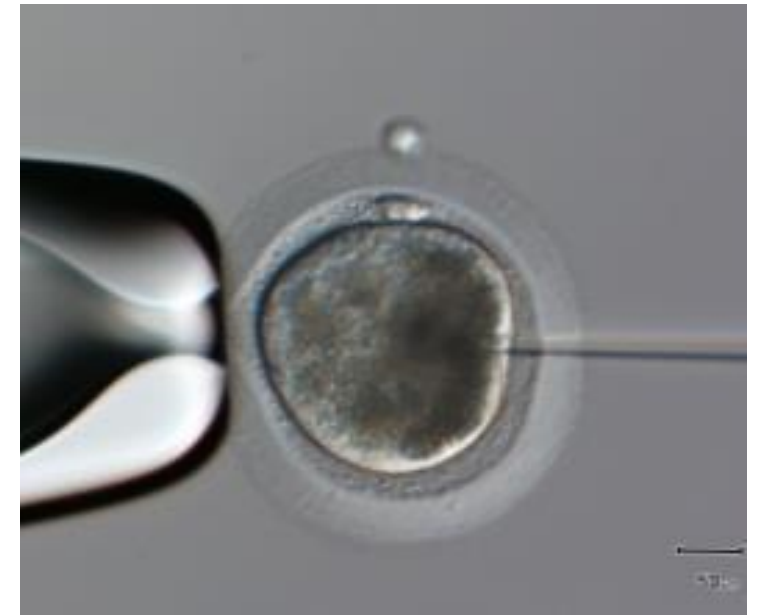
# Munarakkude aspireerimise/ICSI tulemused

- 50% munarakke
- Küpsenud munarakke  $\geq 60\%$
- Blastotsüste  $\geq 20\%$
- Tiinestumisi  $\geq 65\%$
- Sündinud varssasid  $\geq 80\%$

# Näidustused OPU/ICSI



# IVF või ICSI



# Munaraku siirdamine

- Kirurgiline protseduur
- Siirdatakse kas IVM munarakk või munarakk preovulatoorsest folliikulist
- Vajalik kõrge kvaliteediga (hea liikumisega) sperma
- Võib siirdada mitu munarakku ja teostada hiljem embrüo loputus
- Tiinestumine 70%

# Munarakkude ja embrüote sügavkülmutamine

- Munarakud – ei ole igapäevaselt soovitatavat tehnoloogiat
  - Katsetes saadakse ca 10 % embrüoid ICSIga
- Embrüod
  - < 300  $\mu\text{m}$  sügavkülmuvad hästi
  - >300  $\mu\text{m}$  vajavad blastotsüsti õõne „tühjaks laskmist“
    - Peale külmutamist/sulatamist taastuvad

# Embrüosiirdamine/retsipient

- Optimaalne kehakaal-sarnane doonoriga
- Vanus 3-8 aastat
- Hea piimanäärmete areng
- Normaalne innatsükkel
- Suguorganid patoloogiateta



# Hobuste embrüosiirdamine

Riik	<i>In vivo</i> embrüod				<i>In vitro</i> embrüod				
	Loputusi	Embrüoid	ET värske	ET külmutatud	Doonorid	Munarakke	Embrüoid	ET värske	ET külmutatud
Prantsusmaa	1543	783	939	0	0	0	0	0	12
Itaalia	289	212	212	0	2045	25917	3711	48	501
Euroopa	1917	1044	1183	0	2094	26153	3722	48	513
USA	2597	1603	2863	181	0	5460	1015	1139	419
Argentiina	313	229	229	0	0	0	0	0	0
Brasiilia	32640	19260	19028	0	1563	7716	1533	1147	289
Kokku	37545	22198	23365	181	3657	39329	6303	2334	1230

IETS statistika 2019



# Kokkuvõtteks

- Geneetilise materjali säilitamise võimalused
  - Sügavkülmutatud sperma
  - Sügavkülmutatud embrüod
    - Loputatud
    - OPU/ICSI



Täna tähelepanu eest!

© A. Kavak