

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET



PRIMJENA ASISTIRANE REPRODUKCIJE U HRVATSKOJ VETERINARSKOJ MEDICINI

Zdenko Makek

*IV Srednjeeuropski Bujatrički Kongres – Asistirana Reprodukcijska u Goveda
(Međunarodni Znanstveno-Stručni Kongres), 23-27 travnja 2003.*

**ASISTIRANA
REPRODUKCIJA**

termin u humanoj medicini

=

**BIOTEHNOLOGIJA
RASPLOĐIVANJA**

termin u veterinarskoj medicini

METODE ASISTIRANE REPRODUKCIJE (ART*):

- I generacija - UMJETNO OSJEMENJIVANJE
- II generacija – EMBRIOTRANSFER
- III generacija – PROIZVODNJA ZAMETAKA *IN VITRO*
- IV generacija – MANIPULACIJA ZAMECIMA,
KLONIRANJE, TRANSGENEZA

*ART = Assisted Reproductive
Technologies

Biotehnološka metoda I. generacije UMJETNO OSJEMENJIVANJE

- učinkovito poboljšanje intenziteta i preciznosti selekcije korištenjem sjemena progeno testiranih bikova;
- povećanje efikasnosti proizvodnje mlijeka i mesa;
- sprečavanje širenja zaraznih bolesti;
- međunarodna trgovina kvalitetnim genetskim materijalom.

Umjetno osjemenjivanje U.O.

- Prvo uspješno U.O. krava obavljeno 1943. god., što je potvrđeno zahvalnicom stočara iz Remeta nakon poroda te krave prof. dr. sc. Božidaru Oklješi, predstojniku Porodiljske klinike.
- Sustavni podaci o umjetnom osjemenjivanju postoje tek od 1948. godine te od tada možemo pratiti rad i rezultate u suzbijanju i liječenju neplodnosti krava i junica te iskorištavanju bikova.
- Otada do 70-tih godina prijeđen je težak put primjene umjetnog osjemenjivanja najprije kao zoohigijenske mjere i pomoći za suzbijanje jalovosti pa do mogućnosti izbora visokovrijednih bikova i bikovskih majki.

Biotehnološka metoda II. generacije EMBRIOTRANSFER (MOET)

- Širenje genoma najkvalitetnih plotkinja
- Zamrzavanje zametaka
- Trgovina zamecima, uvoz genetike
- Sprečavanje širenja zaraznih bolesti
- Bližnjenje
- Dobivanje potomstva od sekundarno jalovih krava
- Očuvanje genetskog fonda, te ugroženih vrsta
- Nukleus stada

Biotehnološka metoda II. generacije EMBRIOTRANSFER

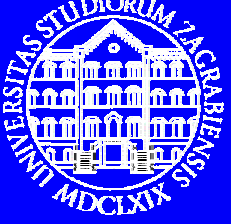
- Superovulacija davateljica (PMSG, FSH)
- U.O. davateljica
- Ispiranje maternice davateljica (polučivanje zametaka) 6. Ili 7. dana nakon U.O.
- Transfer u sinkronizirane primateljice

EMBRIOTRANSFER

- Superovulacija: 10 do 20 C.L.
- 5 do 6 zametaka/kravi davateljici po ispiranju
- Postotak bređosti nakon transfera svježih zametaka iznosi preko 65%, a zamrznutih 50 do 60%
- Međunarodni promet zametaka iznosi oko 30.000 godišnje.
- Superovulacija davateljica - glavni ograničavajući čimbenik

Embriotransfer (MOET)

- Međunarodni projekt: “Mogućnost prijenosa viroza u svinja embriotransferom” – 1985./86. glavnog istraživača prof. dr. sc. Miroslava Heraka
- Projekt Ministarstva znanosti i tehnologije “Embriotransfer u krava” (1992.-1996.) glavnog istraživača prof. dr. sc. Zdenka Makeka – *utemeljen Laboratorij za asistiranu reprodukciju*



Laboratorij za asistiranu reprodukciju Klinike za porodništvo i reprodukciju



Utemeljitelj: Prof. dr. sc. Zdenko Makek

Voditelj: Mr. sc. Iva Getz

Projekt "Embriotransfer u krava" (1992.-1996.)

Istraženi su postupci superovulacije davateljica (FSH/LH i PMSG preparatima),

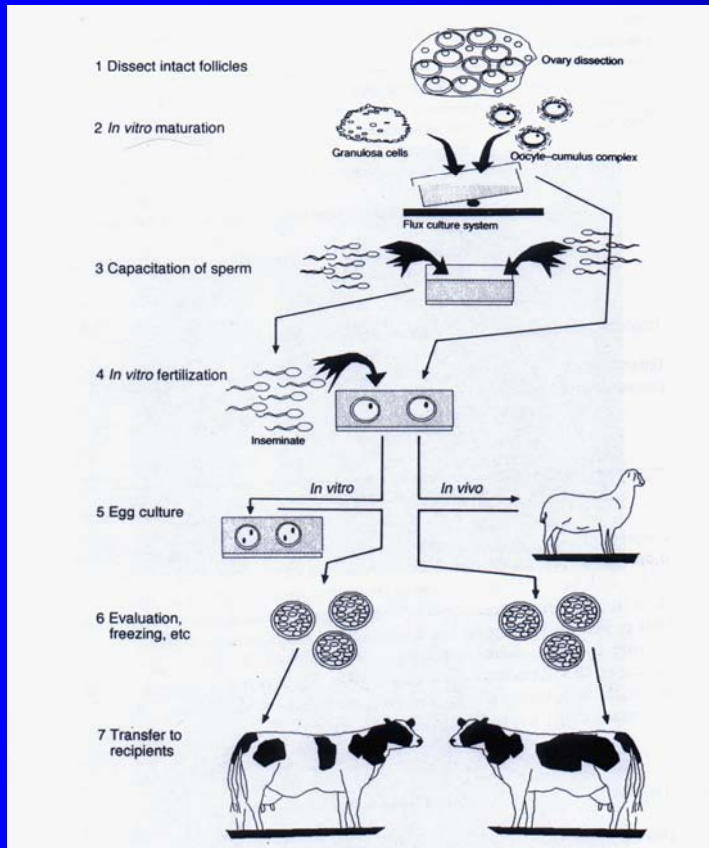
Superovulacijski odgovor u krava i junica,

Postupak dubokog smrzavanja goveđih zametaka,

Transfer u sinkronizirane primateljice.

Rujan 1995. - prvo ET tele u Republici Hrvatskoj

Biotehnološka metoda III. generacije PROIZVODNJA ZAMETAKA *IN VITRO*:



- A. Polučivanje nezrelih jajčanih stanica
- B. Ocjena i kategorizacija jajčanih stanica
- C. Dozrijevanje *in vitro* (IVM)
- D. Oplodnja *in vitro* (IVF)
- E. Uzgoj zametaka *in vitro* (IVC)
- F. Transfer zametaka

PROIZVODNJA ZAMETAKA *IN VITRO*, mogućnosti primjene:

EKONOMSKI ASPEKTI:

- transfer IVP zametaka teladi mesnih pasmina u primateljice mliječnih pasmina;
- dobivanje gameta od genetski elitnih životinja koje su postale jalove;
- OPU krava eminentnog pedigrea;
- korištenje jajčanih stanica juvenilnih životinja (značajno smanjene generacijskog intervala);
- sprječavanje prijenosa bolesti.

BIOTEHNOLOŠKE MOGUĆNOSTI:

- cijepanje zametaka
- određivanje spola zametaka (PCR = Polymerase Chain Reaction)
- duboko smrzavanje IVP zametaka
- kloniranje
- transgene životinje

Projekt "In vitro oplodnja u goveda" (1997.-2002.)

Istraživali smo:

- Metode uzgoja *in vitro*;
- Metode pripreme sperme za oplodnju *in vitro*;
- Metodu transvaginalne ultrazvučne aspiracije jajnih stanica krava (OPU = ovum pick-up);
- Laparoskopsku aspiraciju jajnih stanica krava;
- Travanj 2001.- prvo IVP tele u Hrvatskoj

Međunarodno Društvo za Embriotransfer (IETS = International Embryo Transfer Society)

Donosi propise vezane uz sanitarnu kontrolu proizvodnje zametaka da bi se smanjio rizik mogućeg prijenosa zaraznih bolesti

Manual of the
International Embryo Transfer Society

OVERALL BOVINE EMBRYO TRANSFER ACTIVITY IN EUROPE IN 1999 (Data collected from 20 countries)*

(Y. HEYMAN, AETE Santander, 2000)

Total number of transferable embryos	170 451
○ In vivo produced	
§ - Flushed donors	26 429
§ - Transferable embryos	145 305
§ - Mean per flushed donor	X= 5.49
○ In vitro produced	25 146
- Proportion of IVF embryos	14.7 %
Total number of transferred embryos	143 168
1. In vivo produced	129 779
2. In vitro produced	13 389
0. Proportion of IVF transferred	9.13 %
Proportion of frozen embryos transferred	58.0 %
Total number of frozen stored embryos	63 403

EVOLUTION OF BOVINE ET ACTIVITY IN EUROPE

(Y. HEYMAN, AETE Lyon, 2001)

Embryo production	Year 1997	Year 1998	Year 1999	Year 2000
<i>In vivo</i>	145032	141842	145305	125005
<i>In vitro</i>	11443	23458	25146	26520
Total	156475	165300	170451	151525
% of <i>in vitro</i>	7.3%	14.2%	14.7%	
Embryo transfer	Year 1997	Year 1998	Year 1999	Year 2000
In vivo	110802	120361	129779	105964
In vitro	7748	14153	13389	13803
Total	118550	134514	143168	119769
% Of in vitro	6.5%	10.6%	9.13%	11.52%
% of frozen Transfer	53%	51%	58%	55%

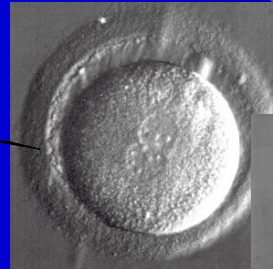
Buduća istraživanja:

- Usavršavanje protokola proizvodnje in vitro goveđih zametaka
- OPU kao metoda dobivanja jajnih stanica iz visokovrijednih živućih životinja
- Krioprezervacija in vitro uzgojenih zametaka
- Ocjena kvalitete in vitro dobivenih zametaka
- Biopsija zametaka uz pomoć mikromanipulatora i određivanje spola zametaka PCR tehnologijom
- Istraživanje značaja trofoblast proteina i leptina kao objektivnog dokaza postojanja živog zametka već 24. dana graviditeta, čime se omogućuje kvalitetna provjera uspjeha svih postupaka asistirane reprodukcije.

ZAKLJUČAK

- Primjena navedenih biotehnoloških metoda nužna je za uključivanje naše stočarske proizvodnje u međunarodne tijekove.
- Republika Hrvatska ima kvalitetan stočni fond i još uvijek uživa status zemlje slobodne od danas najopasnijih stočnih zaraza, što je prednost koju svakako moramo iskoristiti.
- Formiranjem matičnih stada domaćeg simentalskog goveda te korištenjem poželjnog genoma za proizvodnju mesa i mlijeka izravno se potiče širenje boljih proizvodnih svojstava životinja naše populacije čime ostaje očuvan status zdravog proizvoda.

Laboratorij za asistiranu reprodukciju



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET U ZAGREBU

