

Djupseminera kan förbättra resultatet för fryst sperma

Dräktighetsresultatet kan bli sämre när man använder fryssperma, men med hjälp av djupseminering kan man förbättra det. Det handlar om att deponera spermerna högre upp i livmodern än man annars brukar göra.

Hindren är emellertid många innan fölostret fått fäste i livmodern – det gäller alla betäckningsmetoder. Professor Heriberto Rodriguez berättar i den här artikeln om tekniken kring djupseminering.

FAKTA Spermernas rörlighet och livstid

Vid inseminering eller naturlig betäckning tar sig spermerna till äggladaren genom egna rörelser samt genom sammandragningar i livmodern och äggladaren. Alla hingstars spermier tål inte fryssning lika bra. Det kan variera enormt hur stor andel motila spermier det finns efter fryssning, mellan 10 och 60 procent. 60 procent är bra förstås, men spermernas överlevnadstid är kortare jämfört med icke frysta spermiers. Därför måste de semineras snabbt efter upptining och helst djupt inne i livmodern, eller till och med i äggladaröppningen (djupseminering), förklarar Heriberto Rodriguez

Ett ägg är befruktningssugligt i upp till tolv timmar. En spermie däremot, kan befrukta under betydligt längre tid om förutsättningarna finns – två till fem dagar. Har spermien däremot varit fryst är livstiden och befruktningssugligheten mycket sämre, 1–24 timmar. Det gäller alltså att pricka rätt i tid.

Djupseminering heter på engelska »deep uterine insemination« och är en teknik där man semineras med små spermadoser som deponeras vid äggladaröppningen i toppen av livmoderhornet. Metoden går ut på att förbättra dräktighetsresultatet hos stona, framför allt när det gäller fryst sperma.

Det blir vanligare att sten semineras med fryst sperma, men dräktighets- och fölprocent har varit lägre än vid användning av färsk sperma. För att kunna deponera sperman längre in i livmodern, används en längre, böjligare seminkateter än normalt. Samtidigt lokaliserar man sig genom rektalt ultraljud, alltså via ändtarmen. Alternativt används videoendoskopi, där ingreppet följs via en tv-skärm.

Livmoderinflammation

Djupseminering kan vara användbart av flera anledningar, exempelvis när spermamängderna är små, om man vill utnyttja fryst sperma mer effektivt och för att minimera risken för livmoderinflammation – en mindre mängd sperma ger mindre belastning på livmodern.

Det låter kanske lite konstigt att spermier belastar livmodern. Heriberto Rodriguez, professor i reproduktion vid Sveriges Lantbruksuniversitet, SLU, har mycket att säga i frågan.

– Sperma, framför allt spermier men enligt vissa även sädesplasma och till och med vissa spådningsvätskor, provocerar fram en inflammatorisk reaktion i livmodern eftersom det betraktas som främmande och ska stötas bort. Denna reaktion tar en viss tid och därmed kommer vissa spermier att ta sig fram till äggladaren, där ingen sådan reaktion sker. Här kan spermier

mierna överleva till ägglossning sker.

– Spermier i livmodern äts upp av kroppens »soldater«, vita blodkroppar, som invaderar livmoderns slemhinna. Reaktionen – som förekommer hos alla däggdjur, inklusive människan – verkar under en viss tid (timmar). Efteråt blir det en flytning via vagina, som innehåller de uppåtna spermerna och de vita blodkropparna.

Efter några timmar, låt oss säga sex timmar, kan man seminera igen och då blir det samma reaktion. Det är ingen skillnad på om det är seminering eller naturlig parning.

– En del ston visar en utökad reaktion, som inte återgår till normala förhållanden i livmodern efter dessa timmar. De har i stället flytningar och vätskeansamlingar i livmodern i flera dagar. De kallas för endometritbenägna, eftersom reaktionen definieras som en livmoderinflammation. De har svårt att bli dräktiga och vi vet inte varför. Behandlingen går ut på att tvätta livmodern (sköljning med fysiologiskt koksalt) och andra behandlingar, som ska utföras av legitimerad veterinär.

Mindre reaktion

På vilket sätt kan då djupinseminering hjälpa dessa ston?

– En liten mängd spermier torde utlösa en mindre reaktion. Så verkar det i de få kontrollerade studier som har gjorts.

– Inflammationen uppstår dock ändå, och det är viktigt, eftersom den har en annan sida: man utlöser en immunreaktion som verkar mycket senare, då embryot bildas.

– Embryot består av såväl stoets som hingstens komponenter. Med-

an stoets betraktas som kroppsegna, blir den andra halvan, hingstens, icke-egna och torde stötas bort på samma sätt som spermerna.

– Det fiffiga är att stonas immunsystem påverkas av den första inflammationen och dämpar sitt svar senare när embryot bildas, så att mamman kan tolerera en halvfrämmande kropp som utvecklas i livmodern. Detta händer, så vitt vi vet, hos alla däggdjur med moderkaka – spännande!

Mycket färre spermier

Man forskar i dag mycket kring djupseminering – man försöker få 100 procents dräktighet på minimalt antal spermier.

Vid artificiell insemination av färsk eller kylt sperma används 500 miljoner motila (rörliga) spermier. Vid inseminering med fryst sperma används 800 miljoner till en miljard motila spermier. Men med djupseminering skulle man kunna komma ner i nivåer på endast fem miljoner spermier.

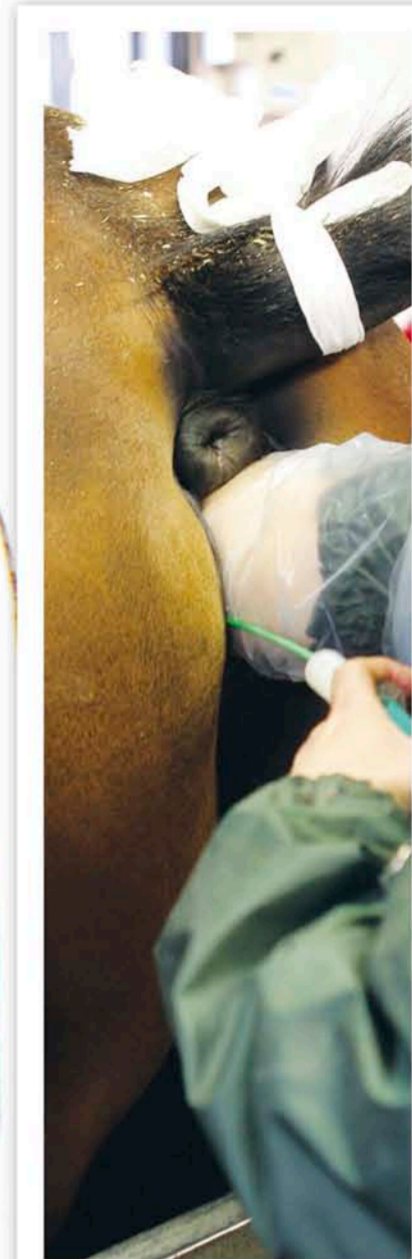
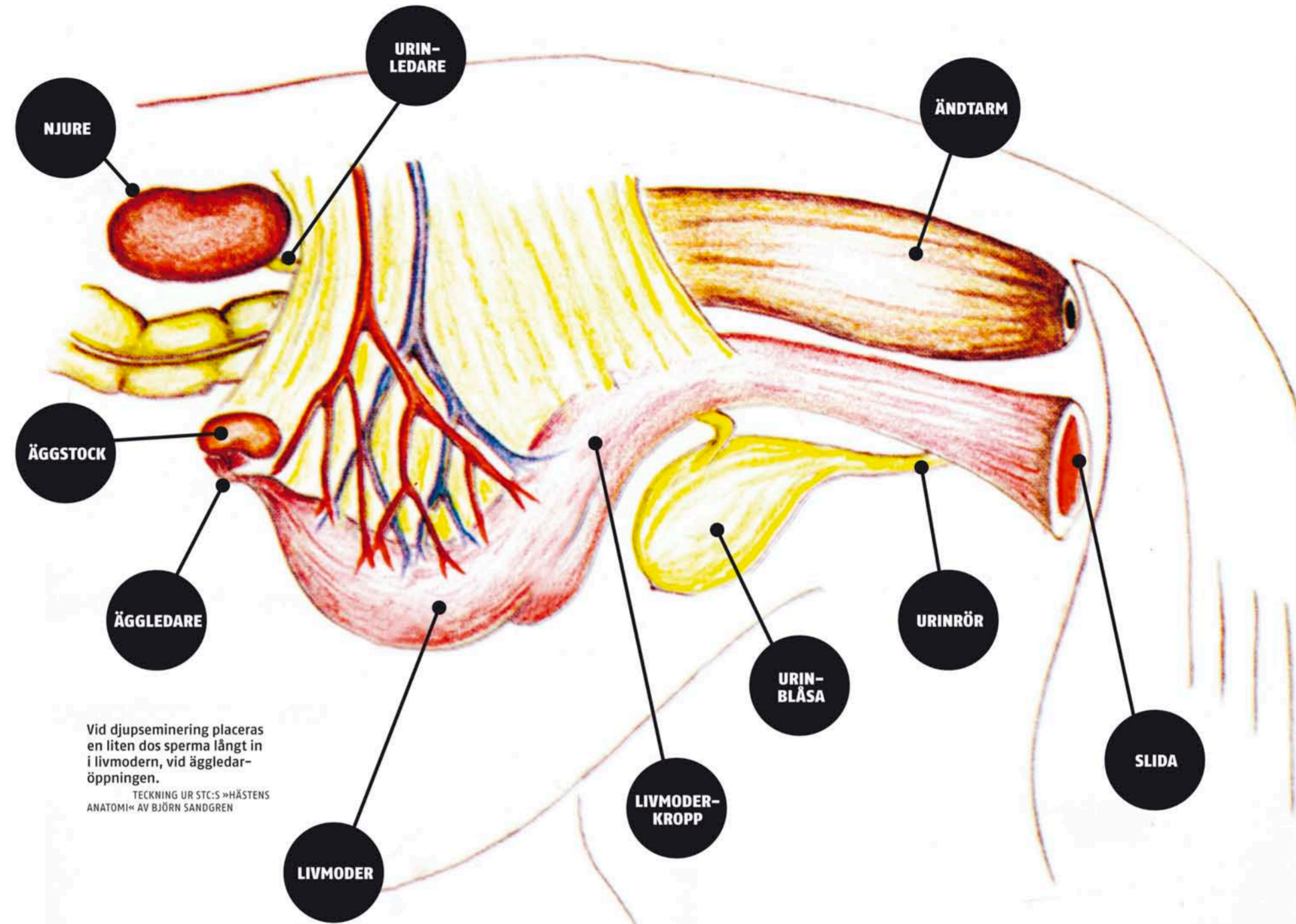
Som jämförelse kan nämnas att en hingst vid naturlig betäckning (beroende på ras, ålder och individ) släpper ut omkring åtta miljarder spermier.

Om man behöver 100 gånger fler spermier i andra metoder, hur kan då djupseminering fungera med så få spermier?

– Det gör det, svarar Heriberto Rodriguez, men notera att det blir skillnader, inte bara beroende på antalet spermier utan också på deras kvalitet; färsk, kylt eller frysta.

– Sist men inte minst, det är inte bara spermerna som avgör fertiliteten; det är stona som i sista änden bestämmer.

SARA LIND



Insemination med fryst sperma blir allt vanligare – med dräktighetsresultatet är inte lika bra som med färsk eller kylt sperma. Där kan djupsemineringen vara till hjälp. KRISTER LINDH

Sortera spermier efter kön

Djupseminering passar bra att använda vid könsorterad sperma. Men hur går det till att sortera spermerna efter kön?

– Det finns en del olika metoder, men den enda som fungerar på riktigt (och som kan separera spermerna med över 90 procents säkerhet) är flödescytometri.

– En flödescytometer är ett instrument, där vätskan rör sig i hög hastighet igenom ett rörsystem. Man tillsätter spermier i den vätskan, spermier som först laddats med ett fluorescerande ämne som gör att dnaet i kärnan (kromosomerna) lyser om man belyser spermerna med en laserstråle.

Spermerna kan bara ha en typ av könskromosom, antingen X eller Y, som parar sig med den som ägget har. XX ger en hona, blir det XY ger det en hane.

– X-kromosomen är större än Y-kromosomen och därmed kommer honliga spermier att vara något tyngre än de hanliga.

– Då man belyser den fluorescensladdade spermien som passerar där laserstrålen finns, blir det olika mängder fluorescens, som datorer mäter och definierar: detta är X och detta är Y.

Heriberto Rodriguez fortsätter:

– Samtidigt laddas dessa spermier i ett magnetfält och den ena blir plusladdad och den andra minusladdad. Man använder laddningen för att separera dem; med hjälp av en magnet går de laddade spermerna till motsvarande pol. Sedan kan man sätta dit uppsamlingsrör och få X i det ena och Y i det andra. Maskinen gör fel förstås, och massor av spermier kan inte separeras.

Kanske är det inte så konstigt att spermerna kan skadas av en sådan behandling.

– Nej, hastigheten i flödescytometern är cirka 100 kilometer i timmen och spermerna slås mot en vätska med den hastigheten. En stor del överlever inte. Å andra sidan har man förbättrat tekniken så mycket att överlevnaden blir bättre och bättre, förklarar Heriberto Rodriguez.

SARA LIND

Grönt gräs och sund hästhållning kan minska riskerna för köldchock

Hingstarnas spermier drabbas lättare av köldchock vid kylning och fryssning än många andra djurs. Detta kan bland annat bero på omega 3-brist i sperman.

En balanserad foderstat och fri tillgång till grönt gräs på bete är det bästa för en avelshingst, förklarar professor Heriberto Rodriguez.

Att kyla och frysa hingstarnas spermier förstör spermernas cellmembran. Det resulterar i minskad rörlighet och vad man kallar köldchock – en nedsättning av livsdugligheten.

– Köldchock inträffar då ejakulerade spermier kyls ned från antingen sin ursprungliga temperatur

i ejakulatet (cirka +35°C) eller från normal kroppstemperatur (cirka +38-39°C) till under +15°C, berättar Heriberto Rodriguez, professor i reproduktion vid Sveriges Lantbruksuniversitet (SLU).

– Köldchock inträder med andra ord under den temperaturen och kan ses vid transportsperma från häst, som körs i +5°C. Man kan inte se detta hos frysta spermier, eftersom köldchocken redan inträffade under kylningen och effekten övergår i mer permanenta skador och till och med celldöd.

Tar skada

– Köldchock karakteriseras av att spermerna tar skada i sin svans. Det är primärt proteiner, som placeras som kolumner längs svansen, som tappar i elasticitet. Det gör att



svansen böjer sig. Motiliteten (rörligheten) blir sämre och spermerna rör sig bland annat i cirklar. Där efter inträffar skador i cellmembranet, som kan vara små eller

stora, exempelvis hål i membranet, vilket leder till celldöd.

Galtar och hingstar sämst

De flesta tamdjur har höga koncen-

trationer av fleromättade fettsyror i sin sperma. Men mängden av dessa fettsyror, framför allt DHA (dokosaheaxensa), en omega 3-fettsyra, och DPA (dokosapentaen-

syra), en omega 6-fettsyra, varierar mellan arterna. Dess variationer påverkar spermas känslighet.

Grisar och hästars sperma har en låg halt av DHA/DPA, vilket sammankopplas med ökad känslighet. Spermerna drabbas lättare av köldchock och fertiliteten minskar.

– Vissa djurslag påverkas mer av köldchock än andra och det finns ett samband mellan mängden av kolesterol i cellmembranet och motstånd mot köldchock. Hingst och galt är de som har mest problem, just på grund av de låga halterna av bland annat DHA, berättar Heriberto Rodriguez.

Via fodret får hingstarna i sig förstaderna till de fleromättade

fettsyrorna. Problemet är att kommersiella foder kan ha höga halter av förstadiet till DPA, men inte lika mycket av förstadiet till DHA.

Detta faktum ledde till vidare studier i ämnet i USA: skulle man kunna tillskottsodra hingstar med DHA och därigenom öka andelen DHA i sperman? – Det finns dessvärre bara en sådan studie angående tillskott av DHA. Studien gjordes i Texas 2004-2005. Resultaten var en aning variabla och klara signifikanta fynd gjordes inte, berättar Heriberto Rodriguez.

– Man tittade framför allt på spermieortilitet och där hittades knappast några effekter på hings-

tar som ansågs normala, det vill säga som klarade kylning/frysning. Däremot fanns en antydning till en förbättring, speciellt efter fryssning, hos hingstar som hade vissa problem att klara kylning av sina spermier.

Kolla sperman regelbundet

Heriberto Rodriguez jämför med galten:

– Liknande studier har också gjorts hos gris. Man kunde till och med ändra membransammansättningen efter tillskottsutfodring, men man kunde inte påvisa en förbättring av spermernas överlevnad efter fryssning.

– En hingst ska, för bästa spermakvalitet, äta en väl balanserad diet och få fri tillgång till bete. Det är hos grönt gräs som dessa kompo-

nenter finns, rekommenderar Heriberto Rodriguez.

– En bra hästhållning är det viktigaste. Regelbundna spermaundersökningar, minst två gånger per år, före och efter säsongen, ger en bra bild av hingstens spermakvalitet. Är den bra, ska man fortsätta hantera hingsten bra så att detta behålls.

– Är den dålig, ska man undersöka varför och framför allt om det är ett tillfälligt problem eller ej. Några mirakelkurer finns inte.

Går i arv

– Vissa hingstar har sperma som lämpar sig för alla tänkbara hanteringar inför seminering, inklusive fryssning/upptining eller kylning för transport. Andra klarar kylning men inte fryssning (och ofta behö-

ver man modifiera frystekniken), medan andra inte tål något annat än naturlig parning.

Heriberto Rodriguez avslutar med en frågeställning:

– Varför ska man avla på hingstar vars sperma inte tål kylning eller fryssning? Ofta har deras söner samma problem.

SARA LIND