

## Rozród: wczesna zamieralność zarodków.

Dla dokładnego ustalenia co ma się na myśli mówiąc o wczesnej śmierci zarodka należałoby sprecyzować pojęcia: zarodek, płód, wczesna zamieralność zarodków, późna zamieralność zarodków. Komitet Nomenklatury Rozrodu Bydła ustalił, iż rozwój zarodkowy kończy się wraz z zakończeniem organogenezy i ukształtowaniem zarysów ciała. U bydła ma to miejsce około 42-45 dnia ciąży. Po tym okresie mamy do czynienia z płodem. Okres płodowy rozciąga się od zakończenia organogenezy, aż do porodu. Należy rozpatrzeć dwie możliwości w odniesieniu do śmierci zarodka. Pierwsza z nich, to ta kiedy najpierw zamiera zarodek, a w konsekwencji jego śmierci dochodzi do lizy ciała żółtego, oraz drugą możliwość kiedy to najpierw mamy do czynienia z lizą ciała żółtego, i w następstwie braku produkcji hormonu utrzymującego ciążę (progesteronu) syntetyzowanego w tkance ciała żółtego, dochodzi do śmierci zarodka. Kiedy zanik ciała żółtego poprzedza śmierć zarodka (jest prawdopodobnie jej przyczyną), termin wystąpienia następnej rui zależy od stopnia rozwoju pęcherzyków. Natomiast w pierwszej sytuacji po śmierci zarodka liza tkanki ciała żółtego następuje najwcześniej za trzy dni po zakończeniu ciąży. Badania prowadzone w tym temacie wskazują, iż luteoliza (liza ciała żółtego) i wystąpienie rui pomiędzy 21- 24 dniem od poprzedniej rui, jest spowodowana wczesną śmiercią zarodka. Jeśli jednak ciało żółte jest obecne, a następna ruja jest później niż 24 dni od poprzedniej może to być spowodowane śmiercią zarodka, ale występującą po 16 dniu ciąży. Dlatego też w literaturze traktującej o śmierci zarodków przyjmuje się, iż ze wczesną śmiercią embrionu mamy do czynienia do 24 dnia po kryciu, a z późną od 24 dnia do zakończenia ukształtowania zarysów ciała czyli około 42-45 dnia.

Dla zrozumienia procesów zachodzących w drogach rodnych krowy należy po krótko przypomnieć koleje losu zarodka zaczynając od momentu połączenia jaja z plemnikiem. Tak więc najpierw powstaje zygota czyli jednokomórkowy twór o diploidalnej liczbie chromosomów. Jest ona niczym innym jak komórką jajową do której przedostał się plemnik, a w której doszło do połączenia materiału genetycznego plemnika i komórki jajowej. Teraz właśnie zostaje ustalona płeć nowego organizmu. W między czasie doszło do zablokowania możliwości wniknięcia więcej niż jednego plemnika, co zapobiega wystąpienia patologii. Z jednej komórki zygoty poprzez podział powstają dwie, potem z tych dwu cztery itd. Na dobę zachodzi mniej więcej jeden podział. Proces ten to bruzdkowanie. Kiedy zarodek osiągnie stadium 16 komórek określa się go mianem moruli (100 godzin od krycia). W tym czasie zarodek rozwija się w jajowodzie, a do macicy przedostaje się po kilku dniach, u krowy ma to miejsce w 4-5 dniu po zapłodnieniu. Teraz będzie się on rozwijał w macicy, a czas ten można podzielić na dwa okresy: przedinplantacyjny, oraz poinplantacyjny. W pierwszym z nich zarodek odżywia się mleczkiem macicznym będącym wytworem gruczołów macicy. W drugim okresie zarodek pobiera substancje odżywcze z krwi matki po wytworzeniu łożyska. Z moruli powstaje blastocysta, wyróżniamy w niej embrioblast czyli zbiór komórek z których powstaje nowe życie, oraz trofoblast będący zaczątkiem błon płodowych. Trofoblast otacza embrioblast. Blastocysta nie jest już okrągła jak morula lecz przybiera kształt wydłużony, osiągając wielkość 4-6 cm.. Po odpowiednim umiejscowieniu się na błonie śluzowej macicy następuje przyczepienie się zarodka do śluzówki, zagnieżdżenie się embrionu w błonie

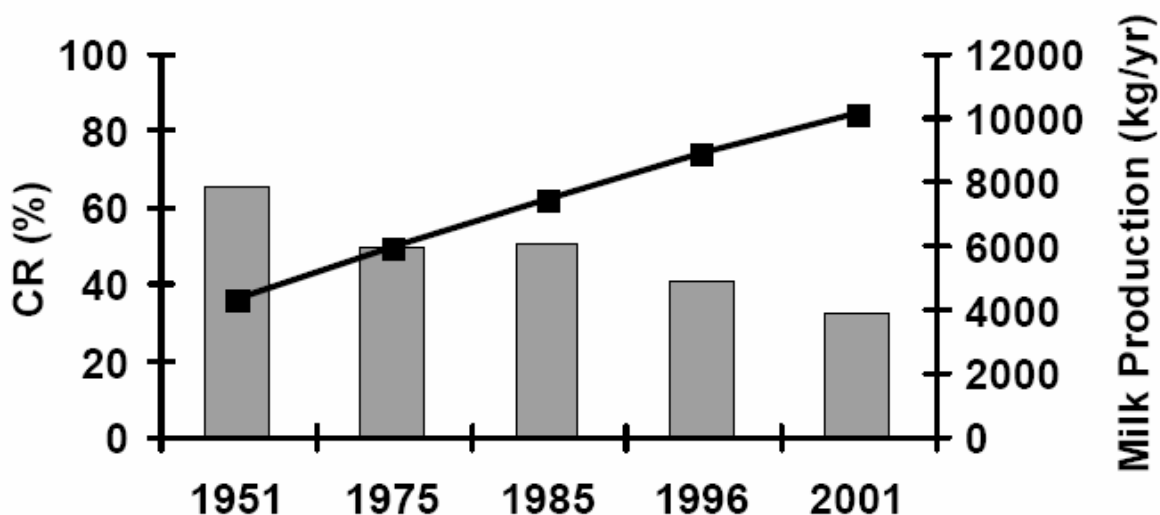
śluzowej macicy, i ostatecznie wytworzenie łożyska. Następnie dochodzi do wytworzenia listków zarodkowych (ektodermy, mezodermy, entodermy). To właśnie z tych listków powstaną poszczególne tkanki tak różne jak kości i krew. A wyodrębnienie listków jest pierwszym tego etapem. Teraz powstają i migrują na swoje miejsce odpowiednie komórki tworząc poszczególne tkanki. Dochodzi do powstania narządów pierwotnych, z nich po pewnych przemianach powstają narządy ostateczne. W taki sposób embriion przybiera odpowiedni kształt i zaczyna się rozwój płodowy. Ukształtowany płód w wieku 3 miesięcy przedstawiony jest na zdjęciu poniżej.



Wczesne badania z końca lat 70-tych ubiegłego stulecia wskazywały, iż skuteczność inseminacji oscyluje w granicach 95%. W praktyce nie jest możliwe osiągnięcie takich rezultatów. To już mogło sugerować, że śmierć zarodków jest przyczyną gorszych wskaźników osiąganych w stadach na co dzień. Ostatnio przeprowadzano kolejne badania, podczas płukania zarodków w 5-7 dni po kryciu. Wykazały one, iż skuteczność inseminacji średnio wynosi 76-78% (od 55-98%). Przy czym należy zaznaczyć, iż te wyniki mówią nam o skuteczności samego krycia i nie pokrywają się w pełni z późniejszym badaniem w kierunku ciąży przeprowadzonym po 30 dniu od krycia. Natomiast mając do dyspozycji te dane wiemy, że sam zabieg unasienniania był skuteczny. Można powiedzieć, iż rezultaty te są bardzo dobre, a właśnie różnica pomiędzy nimi, a tym co na co dzień obserwujemy analizując dane po badaniu na cielność jest właśnie spowodowana śmiercią zarodków (należy uwzględnić czynniki zakaźne i stany patologiczne układu rodnegó samic). Badania te sugerowały, że niska skuteczność zacieleń bardzo często nie jest spowodowana złą inseminacją czy stanami zapalnymi narządu rodnegó. Aczkolwiek należy pamiętać, że niewłaściwa organizacja rozrodu oraz podkliniczne stany zapalne często są przyczyną problemów z rozrodem w stadzie.

Badania francuskie przeprowadzone w 44 stadach wskazują na znaczny odsetek ciąży straconych podczas rozwoju zarodkowego. Francuscy badacze podają, iż 31,6% oraz 14,7% ciąży zostało utraconych na wskutek odpowiednio wczesnej i późnej śmierci zarodków. Jakie są przyczyny tak dużych strat? Czy straty te zawsze były tak duże, a nie były tylko dostrzeżone? Czy można je ograniczyć? Na część tych pytań znamy już dziś odpowiedź, jednak pojawiają się następne pytania, bo zbadanie zachodzących procesów w zarodku oraz

jego wzajemne oddziaływanie z organizmem matki do łatwych nie należy. Przyczyny tak dużego odsetka zamaryłych zarodków należy szukać we wzroście produktywności bydła mlecznego oraz zmianie podawanej paszy. Wraz ze wzrostem produkcji mleka maleje ilość energii, substancji budulcowych, które mogą być wykorzystane przez zarodek/płód do prawidłowego wzrostu. Natura broni się przed wydatkowaniem energii ponad miarę a sposobem tej obrony jest zamarcie zarodka. Organizm matki produkuje olbrzymie ilości mleka, nie ma więc szans na wydatkowanie energii na układ rozrodczy czy utrzymanie ciąży gdyż nie jest to potrzebne na co dzień do życia.



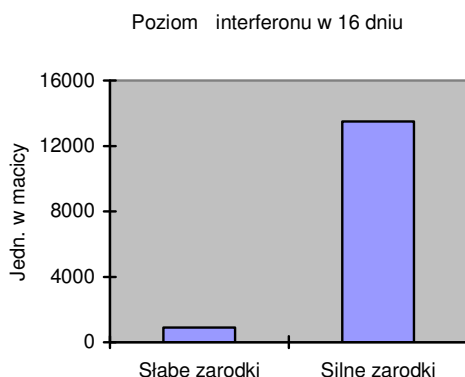
CR – ilość krów zacielenych w procentach. Milk production – produkcja mleka w kg/rok.

Dlatego wraz ze wzrostem produkcji spada skuteczność zacieleni jednego z najważniejszych parametrów rozrodu. Wykres powyższy przedstawia jak to zmieniło się w czasie w Europie Zachodniej. Drugą przyczyną zwiększenia zamieralności zarodków jest zmiana żywienia. Przejście z żywienia pastwiskowego gdzie krowy miały łatwy dostęp do średniołańcuchowego wielonienasyconego kwasu tłuszczowego omega-3 zawartego w trawie na żywienie kiszonką z kukurydzy przez cały rok niewątpliwie pomogło w osiągnięciu lepszych wydajności, ale nie pozostało bez wpływu na rozród.

Dla opisanego przyczyn wczesnej śmierci zarodków istotne jest aby uzmysłowić w jaki sposób zachodzi proces utrzymania ciąży, i jak omijana jest luteoliza około 16 dnia cyklu jajnikowego. Oczywisty wydaje się być fakt, że cykl jajnikowy musi być przerwany przez zarodek. I tak w istocie jest chociaż zdarzają się przypadki cyklicznej aktywności jajników i owulacji podczas ciąży (właśnie wtedy dochodzi do nadpłodnienia). Normalnie jednak ciąża ma przerwać cykliczną aktywność jajników, a w przypadku braku ciąży ciało żółte ma ulec lizie i cykl płciowy ma się toczyć w równych interwałach co około 21 dni. O tym że doszło do połączenia gamet organizm matki dowiaduje się poprzez odebranie sygnału od zarodka. Sygnałem tym jest produkowany przez zarodek, już od 10 dnia rozwoju interferon  $\tau$ . Substancja ta zatrzymuje kaskadową syntezę prowadzącą do wytworzenia prostaglandyny  $PGF_{2\alpha}$ . Jeśli nie ma zarodka, nie ma interferonu  $\tau$  i dochodzi do powstania w komórkach endometrium  $PGF_{2\alpha}$  hormonu odpowiedzialnego za lizę ciała żółtego. Za przyczyną  $PGF_{2\alpha}$  dochodzi do uwolnienia oksytocyny z ciała żółtego, co dodatkowo wpływa dodatnio na dalszą produkcję  $PGF_{2\alpha}$ . Synteza prostaglandyny jest dość skomplikowanym procesem i może zachodzić różnymi ścieżkami. W syntezie  $PGF_{2\alpha}$  biorą udział kwasy tłuszczowe takie jak AA (kwas arachidonowy), EPA (eikozapentaenowy), a DHA (kwas dokozaheksaenowy) jest silnym konkurencyjnym inhibitorem enzymów potrzebnych do syntezy  $PGF_{2\alpha}$ . W przypadku

cięży produkowany przez zarodek w coraz to większych ilościach interferon  $\tau$  redukuje syntezę receptorów oksytocyny w macicy (poprzez wpływ na transkrypcję ich genu), oraz indukuje transkrypcję inhibitorów  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . To skomplikowane działanie przełamuje produkcję prostaglandyny i utrzymuje ciało żółte które cały czas produkuje hormon ciążyowy progesteron. Dzięki temu w macicy jest właściwe środowisko dla utrzymania ciąży. Gdy jednak za sprawą  $\text{PGF}_{2\alpha}$  dochodzi do luteolizy w macicy zachodzą zmiany przygotowujące ją do następnej rui, kopulacji i prawdopodobnego zajścia w ciążę.

Czasami jednak ilość interferonu  $\tau$  produkowanego przez zarodek jest za mała aby zahamować kaskadę syntezy prostaglandyny. Wszystko rozgrywa się w przeciągu kilkudziesięciu godzin i po prostu czasami zarodek jest za słaby aby wyprodukować wystarczającą ilość interferonu  $\tau$ . Zarodki nie rozwijają się w tym samym tempie, a te słabsze zostają zniszczone.



Za Mann i wszyscy 1999

Wiadomo dziś, że 30% śmierci zarodków ma miejsce w 7 dniu a 40% w dniach 8-17 od krycia. Pokrywa się to z dwoma krytycznymi okresami w życiu embrionu. Pierwszy z nich to zagnieżdżenie się zarodka a drugi pokonanie luteolizy poprzez interferon  $\tau$ .

Wykonano szereg badań mających na celu poznanie zachodzących procesów i znalezienie sposobu na ominięcie, przezwyciężenie krytycznego okresu związanego z interakcją pomiędzy interferonem  $\tau$  i prostaglandyną.

Próby polepszenia przeżywalności zarodków polegały głównie na utrzymaniu wysokiego stężenia progesteronu. Można to osiągnąć poprzez zastosowanie egzogennej progesteronu na 6-12 dni od 5-7 dnia ciąży. Próby z egzogennym progesteronem dały dobre wyniki, osiągnięto 79% ciąż przy 66% ciąż w grupie kontrolnej. Jednak należy pamiętać, iż w dniu podania nie wiemy czy doszło do zapłodnienia, a jeśli nie doszło, to część krów miałaby przez nas przedłużony okres lutealny cyklu. Odwleka to czas kolejnej rui w której można kryć co najmniej do czasu uzyskania pewności że krowa nie jest cielna.

Wysokie stężenie progesteronu można utrzymać także poprzez wspomaganie produkcji endogennej progesteronu. Można to uzyskać podając hCG (gonadotropinę z moczu ciężarnych kobiet) albo GnRH (hormon podwzgórzowy). Udało się polepszyć w niektórych stadach przeżywalność zarodków stosując hCG, natomiast stosując GnRH podczas krycia uzyskiwano pozytywne rezultaty u krów poddawanych reinseminacji. Pamiętać należy o tym, iż stosowanie hormonów nie jest łatwe i, że koszt progesteronowych implantów czy

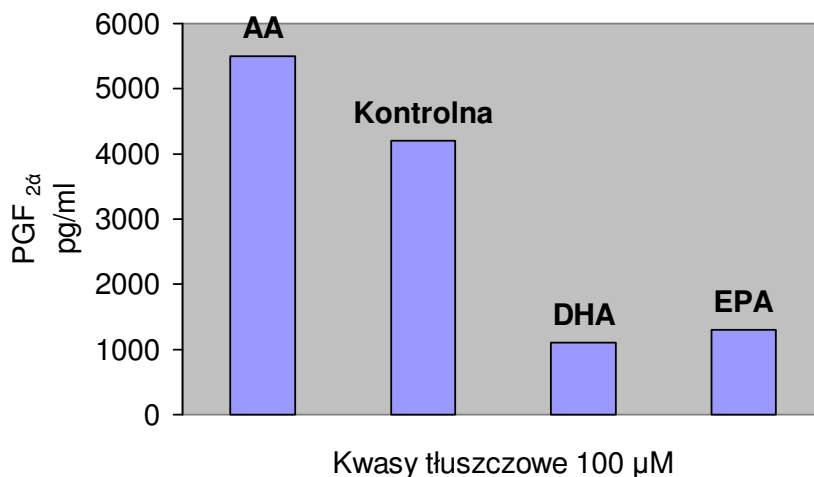
hCG nie jest mały. Oczywiście tego typu kuracja może być wykonywane tylko przez doświadczonych lekarzy weterynarii.

W literaturze spotyka się także doniesienia o stosowaniu somatotropiny bydlęcej jako substancji pomagającej polepszyć płodność poprzez wzrost przeżywalności zarodków. Badania są interesujące, ale pamiętać należy, iż somatotropiny u nas nie można stosować.

Dobrym pomysłem wydaje się być podanie interferonu  $\tau$ . Przeprowadzono już nawet nad tym problemem badania. Podawano rekombinowany owczy i bydlęcy interferon dwa razy w dziennie od dnia 14 do 24. Wyniki uznano za obiecujące ale za wcześnie aby mówić o gotowych rozwiązaniach. Nie bez znaczenia jest fakt, że podawano interferon do macicznie, co może być kłopotliwe.

W ostatnich latach pojawiło się wiele badań, rezultatów doświadczeń, a nawet doniesień o co dziennym stosowaniu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 jako modulatorów syntezy prostaglandyn. Mają one obniżyć poziom prostaglandyny około 16 dnia, co daje znacznie większe szanse przetrwania zarodkom produkującym małe ilości interferonu  $\tau$ , a zdolnym do prawidłowego rozwoju. Powszechnie wiadomo, iż kwasy te pełnią rolę w syntezie złożonej grupy biologicznie aktywnej substancji regulujących, takich jak prostaglandyny, tromboksany, leukotrieny i prostacykliny. Wiadomo także o tym, że kwasy te stanowią składnik błon biologicznych wszystkich komórek, a w szczególności w układzie nerwowym, mózgu i siatkówce oka. Przeanalizowano dokładnie wpływ kwasów AA (arachidonowego), EPA (eikozapentaenowego), DHA (dokozaheksaenowego), na stężenie prostaglandyny  $PGF_{2\alpha}$  i uzyskano potwierdzenie wpływu tych kwasów na stężenie tej prostaglandyny. O roli jaką one pełnią wspomniano powyżej. Analizując dane zawarte w wykresie należy potwierdzić rolę AA jako substratu dla produkcji  $PGF_{2\alpha}$ , stąd wysokie stężenie  $PGF_{2\alpha}$  wyższe nawet od grupy kontrolnej przy stosowaniu AA. Natomiast EPA jako substrat dał znacznie niższe stężenie  $PGF_{2\alpha}$ . Dzieje się tak ponieważ ścieżka syntezy z wykorzystaniem EPA zamiast AA jest mniej wydajna (powyżej napisano o możliwości syntezy  $PGF_{2\alpha}$  więcej niż jedną drogą). Słupek dla DHA jest najniższy wskazuje to na wysoką skuteczność działania DHA jako inhibitora enzymów potrzebnych do syntezy  $PGF_{2\alpha}$ .

Wpływ W N K T omega-3 na poziom  $PGF_{2\alpha}$



Wiemy zatem, że wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 znacznie obniżają poziom prostaglandyny. I co z tego? Wiedzę tą można wykorzystać podając te tłuszcze w paszy najlepiej w TMR aby modulować syntezę  $PGF_{2\alpha}$ . Jest wiele publikacji, doświadczeń ze stosowania codziennie dodatków paszowych bogatych w kwasy omega-3 mówiących o ich pozytywnym wpływie na rozród. Osiągnięte rezultaty są zdumiewające. W wielu stadach osiągano poprawę skuteczności zacielen o 20% i skracano okres między wycielniowy o kilkanaście dni. Dane z tabeli są dość podobne we wszystkich krajach.

Kraj w którym stosowano omega-3	Rezultaty grupy kontrolnej	Rezultaty u zwierząt karmionych omega-3	Liczba zwierząt na której przeprowadzona próba
Izrael	52%	72%	240
Irlandia	44%	64%	80
USA (Floryda)	31,9%	41,3%	600

Przewagę WNKT nad powyżej prezentowanymi rozwiązaniami upatruje w prostocie zadawania. Nie trzeba podawać iniekcji, czy wszczepiać implantu. Podawanie ich wszystkim krowom nie wpływa niekorzystnie na te które nie zostały zacielenone.

Kwasy te pochodzą z olei rybich, głównie łososia i dorsza. Przy czym stosunek DHA do EPA jest korzystniejszy w oleju z łososia. Zawiera on więcej bardziej skutecznego DHA. Ze zgromadzonych na całym świecie doświadczeń wynika, iż stosowanie WNKT omega-3 z łososia nie zmienia zapachu czy smaku mleka.

Sz szczególnie atrakcyjna wydaje się być możliwość połączenia kwasów bogatych w omega-3 z tłuszczem chronionym jako dodatku energetycznego (np.olej palmowy) dla krów w pierwszej części laktacji. Oba tłuszcze są chronione i przechodzą przez przedząłki i trawieniec w zasadzie nie naruszone, zostają za to w bardzo wysokim stopniu wchłonięte w jelitach. Olej palmowy pomoże uzupełnić niedobór energii, a kwasy omega-3 przedostaną się do komórek syntetyzujących  $PGF_{2\alpha}$  i wpłyną na tę syntezę korzystnie. Dobrą jest zatem wiadomość, że taki dodatek jest dostępny na naszym rynku. Jednak użycie go jest zasadne w stadach gdzie wydajność wynosi około 7000 litrów mleka na krowę na rok i więcej. Stado takie musi także mieć dobrze zbilansowaną dawkę pokarmową. Takich właśnie stad w naszym kraju jest coraz więcej.

Piśmiennictwo u autorów.