
ALKIONSIIRROT TAMMOILLA

Tulokset Suomessa



Ammattikorkeakoulututkinnon opinnäytetyö

Maaseutuelinkeinojen koulutusohjelma

Mustiala, 27.4.2010

Henna Korpela



Maaseutuelinkeinojen koulutusohjelma
Mustiala

Työn nimi Alkionsiirrot tammoilla

Tekijä Henna Johanna Korpela

Ohjaava opettaja Terhi Thuneberg

Hyväksytty 27.4.2010

Hyväksyjä

MUSTIALA

Maaseutuelinkeinojen koulutusohjelma
Hevostalouden suuntautumisvaihtoehto

Tekijä	Henna Korpela	Vuosi 2010
Työn nimi	Alkionsiirrot tammoilla	

TIIVISTELMÄ

Hevosten alkionsiirrot ovat nykypäivää useassa maassa, mutta Suomessa menetelmä ei vielä ole yleistynyt. Avaintekijä tämän opinnäytetyön kehittymiselle oli kiinnostus alkionsiirtojen onnistumisesta Suomessa.

Työn tavoitteena on käydä läpi alkionhuuhteluiden ja –siirtojen käytännön suorittaminen pääpiirteittäin ja kertoa lyhyesti menetelmän taustoista ja toimintaperiaatteista. Työn tarkoituksena on kuitenkin keskittyä pääasiassa alkionsiirtojen onnistumiseen ja siihen vaikuttaviin tekijöihin ja tutkia syitä miksi hevosten alkionsiirto on niin epävarmaa ja niitä tekijöitä, jotka vaikuttavat niin alkioden löytymiseen kuin tiinehtymiseenkin. Kirjallisuuskatsaus koostuu pääasiassa englanninkielisistä lähteistä, näistä suurin osa on ajankohtaisia artikkeleita. Tutkimuksen lähdeaineisto on kerätty MTT hevostutkimukselta ja Kallelan oriasemalta, jolloin lähes kaikki Suomessa tehdyt alkionhuuhtelut ja –siirrot ovat mukana aineistossa. Tutkimuksessa keskitytään kuvailevaan statistiikkaan. Tavoitteena on saada käsitystä alkionsiirtojen onnistumisesta Suomessa ja vertailla tuloksia kansainvälisiin tutkimustuloksiin. Tutkimusosuudessa pohditaan myös onnistumiseen vaikuttavia tekijöitä, kuten tammakantaa, siirtoajankohtaa sekä alkion laatua.

Käytössäni oli kohtalaisesti aineistoa ja tutkimustyön tuloksista sain melko kattavia. Tutkimuksessa kävi selkeästi ilmi tammojen laadun ja astutus- ja tiineyshistorian vaikutus alkionsiirtoprosessin tuloksiin. Sekä luovuttajattä vastaanottajatamman hedelmällisyys ja lisääntymisterveys on todennäköisesti tärkeässä asemassa alkionsiirtojen tulosten kannalta.

Avainsanat Perinnöllisyystiede, kotieläinten lisääntyminen, hevonen, alkionsiirto, tiinehtyminen, varsominen

Sivut 29 s. + liitteet 1 s.

Mustiala
Degree Programme in Agricultural and Rural Industries
Equine Option

Author Henna Korpela **Year** 2010

Subject of Bachelor's thesis Embryo transfer in mares

ABSTRACT

The subject of this thesis was assigned by The Department of Production Animal Medicine at the faculty of veterinary medicine and my directional teacher is veterinarian Maria Kareskoski. Embryo transfer in mares is a common method in many countries, but in Finland it is not often used. The key factor for this thesis was the interest for the success and results of embryo transfers in Finland.

The goal is to go through the practical performance of embryo recovery and transfer and to briefly explain the backgrounds and reasons for using this method. The main purpose is to focus on the results of embryo transfer and its determinants and also to examine the reasons why horse embryo transfer is so uncertain. The literary overview mainly consists of sources in English and most of these are scientific articles. The research material has been collected from Kallela's stud unit and Equine College Ypäjä. The research part includes the majority of embryo transfers made in Finland and it focuses on descriptive statistics. The aim is to study the results of embryo transfers in Finland and to compare these results with international research results. In the research part, I also look at factors affecting the results of embryo transfer, such as the type of mare, the transfer date, and embryo quality.

I have had a moderate amount of source material and the results in the research part were comprehensive. My research confirms that the fertility and reproductive health of donor and recipient mares, and also the quality and gestation history of mares, have an impact on the results of embryo transfer.

Keywords Genetics, reproduction of domestic animal, horse, embryo transfer, gestation, foal

Pages 29 p. + appendices 1 p.

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	1
2	ALKIONSIIRRON TAUSTOJA.....	2
2.1	Alkionsiirrot ja jalostus	2
2.2	Alkionsiirron hyväksikäyttö ongelmatammoilla.....	3
3	YLEISTÄ ALKIONHUUHTELUSTA.....	4
3.1	Tammojen kiimojen synkronointi	4
3.2	Alkionhuuhtelu käytännössä	4
3.3	Superovulaatio.....	6
4	ALKIONSIIRTOMENETELMÄT	7
4.1.1	Ei-kirurginen menetelmä	7
4.1.2	Kirurginen menetelmä	7
5	ALKION SÄILYTYS	9
6	ALKIOSIIRTOTULOKSIIN VAIKUTTAVIA TEKIJÖITÄ.....	10
6.1	Luovuttajattaman valinta.....	10
6.2	Vastaanottajattaman valinta	10
6.3	Synkronisaatioaste.....	11
6.4	Sperman laatu ja käsittely	11
6.5	Siirtomenetelmä	11
6.6	Puhtaus	12
6.7	Alkion ikä, laatu ja koko	12
6.8	Alkion säilytys.....	13
7	ALKIOVARSAN REKISTERÖINTI JA KILPAILEMINEN.....	14
8	TUTKIMUS ALKIONSIIRTOJEN TULOKSISTA SUOMESSA	15
8.1	Lähdeaineisto	15
8.2	Aineiston käsitteleminen.....	15
9	TUTKIMUKSEN TULOKSET JA NIIDEN ANALYSOINTI	16
9.1	Tulokset tammatyypeittäin	17
9.1.1	Tulokset alkionhuuhteluissa	18
9.1.2	Tulokset alkionsiirroissa.....	19
9.2	Tulokset alkion laadun ja säilömisen vaikutuksesta tiinehtyvyyteen.....	22
9.3	Tulokset vuodenajan vaikutuksesta alkionsiirtoprosessiin	23
10	TUTKIMUKSEN YHTEENVETO.....	25
11	JOHTOPÄÄTÖKSET	27
	LÄHTEET	28

1 JOHDANTO

Opinnäytetyön aiheen hahmottaminen hevosten alkionsirroista lähti liikkeelle yhteistyökumppanin kautta. Yhteistyökumppanina toimii Helsingin Kliinisen tuotantoeläinlääketieteen laitos ja toimeksiantajan puolelta työn ohjaajana toimii eläinlääkäri Maria Kareskoski. Helsingin yliopiston tuotantoeläinsairaala on yksi harvoista paikoista, joilla on anottuna lupa maa- ja metsätalousministeriöltä suorittaa hevosten alkionsiirtoja. Suomessa alkionsiirto-oikeudet on myönnetty lisäksi Kallelan oriasemalle ja MTT (Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus) hevostutkimukselle. Alkionsiirtojen suorittaminen on Suomessa siis luvanvaraista toimintaa. Helsingin yliopiston tuotantoeläinsairaalassa on suoritettu alkionsiirtoja muutama vuoden ajan ja suunnitteilla on kehittää tätä toimintaa ja saada alkionsiirtomenetelmä yleistymään Suomessa. Tiedon halu siitä, kuinka Suomessa on alkionsiirtoprosesseissa onnistuttu, oli avain tämän opinnäytetyön aiheen kehittymiselle.

Hevosten alkionsiirto on yksi hevosen lisääntymismenetelmistä ja sitä on tutkittu paljon. Ensimmäinen onnistunut siirto saatiin aikaan jo 1970-luvulla. Hevosten alkionsiirtomenetelmä on kehittynyt paljon viimeisen 20 vuoden aikana, mutta menetelmää pidetään kuitenkin vielä hyvin epävarmana ja kalliina toimenpiteenä. Suomessa alkionsiirtoja on tutkittu 1980-luvulta lähtien, mutta menetelmällä syntyneitä varsoja vuoteen 2008 mennessä on onnistuttu saamaan vain 39.

Opinnäytetyöni keskittyy alkionsiirron tulosten tarkasteluun ja tuloksiin vaikuttaviin tekijöihin. Alkionhuuhtelua ja alkionsiirtoa käydään läpi yleisesti prosesseina. Pääpaino työlläni on tutkimusosuudella, joka käsittelee Suomessa tehtyjä alkionsiirtoprosesseja, niiden onnistumista ja onnistumiseen vaikuttavien tekijöiden etsimistä kyseisestä aineistosta. Tutkimuksessani kokoon yhteen Suomessa tehtyjen alkionhuuhtelujen ja -siirtojen määriä ja niiden tuloksia (alkion löytymisfrekvenssi, sekä tiineys- ja varsomisprosentti). Lisäksi tutkin sekä luovuttajatammojen että vastaanottajatammojen edellisen kauden astutus- ja tiineyshistoriaa, tarkoituksena selvittää onko edellisen kauden tapahtumilla vaikutusta alkionsiirtoprosessin tuloksiin.

2 ALKIONSIIRRON TAUSTOJA

Alkionsiirtoa pidetään hevosilla yhtenä käyttökelpoisimpana biotekniikan menetelmänä. Alkionsiirto on Suomessa vähän käytetty kalleutensa ja epävarmuutensa vuoksi. Suomessa on syntynyt vuoteen 2008 mennessä 39 alkiovarsaa (LIITTEET 1/1).

Ensimmäinen onnistunut alkionsiirto ei-kirurgista menetelmää käyttäen saatiin aikaan Japanissa vuonna 1974 (Anttila 1986, 1). Alkionsiirtotekniikka yleistyi kuitenkin vasta 1980-luvun loppupuolella (Blanchard, Varner, Schumacher, Love, Brinsko & Rigby 2002, 219). Suomessa alkionsiirtoa kokeiltiin ensimmäisen kerran vuonna 1986 Terttu Katilan johdolla (Väisänen 1987, 20). Kuten keinosiemennys, myös alkionsiirto on luvanvaraista toimintaa ja siihen tarvitsee anoa lupa maa- ja metsätalousministeriöstä. Luvanhaltioiden tulee myös raportoida alkionsiirtotoiminnastaan maa- ja metsätalousministeriöön. Luvanhaltioiden tulee myös ilmoittaa vuosittain Suomen Hippos ry:lle luovuttajattomat ennen ensimmäistä alkionkeruuta. Suomessa alkionsiirtolupa on Kallelan oriasemalla, MTT hevos tutkimuksella sekä Helsingin yliopiston tuotantoeläinsairaalalla. Alkioiden vienti muihin Euroopan Unionin maihin edellyttää lisäksi ministeriön vaatimukset täyttävän vientikeskuksen tai vientiryhmän. Vientikeskuksen tulee olla kriteerit täyttävä toimitila alkionsiirtotoiminnalle ja vientiryhmän ammattitaitoinen ryhmä, joka vastaa koko alkionsiirtoprosessista aina tammojen valinnasta alkion säilömiseen ja matkaan lähettämiseen asti.

Viimeisten 20 vuoden aikana alkionsiirtoja on tutkittu paljon. Kehityksen myötä alkionsiirrosta on tullut yksi osa hevosten kasvatus- ja jalostusohjelmaa lähinnä Yhdysvalloissa. Alkionsiirron avulla hyviä tammoja pystytään hyödyntämään jalostuksessa tehokkaammin, myös tammojen käyttöönottoaikaa jalostukseen pystytään madaltamaan. Alkionsiirron myötä myös ongelmatammoja pystytään paremmin käyttämään jalostuksessa (Knottenbelt, Le Blanc, Lopate & Pascoe 2003, 221.)

Vaikka hevosten alkionsiirtoja on tutkittu paljon, on sen tekniikan kehittyminen ollut paljon hitaampaa kuin esimerkiksi naudoilla. Tähän on useita syitä: joidenkin rotujärjestöjen, maiden ja kantakirjojen rajoitukset alkiovarsojen rekisteröinnissä sekä kilpailuoikeuksissa, superovulaation aikaansaamisen hankaluus, toimenpiteen kalleus sekä toimenpiteen onnistumisen ja tiinehtymisen epävarmuus (Wilsher & Allen 2004, 39.)

2.1 Alkionsiirrot ja jalostus

Alkionsiirron avulla saadaan tammat tehokkaampaan käyttöön jalostuksessa, kun vuodessa on mahdollista saada useampi varsa samalta tammalta. Näin ollen alkionsiirto mahdollistaa hyvillä periyttäjätammoille suuremman varsatuotannon ja siten suuremman vaikutuksen jalostukselle ja sen kehittämiseksi. (Anttila 1986, 30.)

Tammojen käyttöönottoikää pystytään madaltamaan. Hyvät tammat voidaan ottaa jalostukseen jo hyvin varhain, vaikuttamatta kuitenkaan tammojen kehitykseen tai kilpailemiseen. Käyttöönottoian madaltaminen mahdollistaa pidempiaikaisen varsatuotannon (Knottenbelt ym. 2003, 221.)

Alkionsiirto mahdollistaa tammojen kilpailemisen astutuskaudella. Alkionsiirto on turvallinen toimenpide, eikä siitä ole havaittua haittaa luovuttajattammalle (Anttila 1986, 30.) On kuitenkin muistettava, että alkionsiirtoja koskevat säädökset vaihtelevat maittain, rotuyhdistyksittäin sekä myös kantakirjoittain. Alkionsiirtovarsojen kilpailemisoikeuksia sekä luovuttajattammojen kilpailemisoikeuksia tiineysaikana on mahdollista rajoittaa

Tammojen merkitystä jalostuksessa on opittu arvostamaan enemmän, minkä vuoksi jalostuksessa on keskitytty entistä enemmän myös tammakantaan. Perinteisesti jalostus on rakennettu pääosin hyvien oriiden varaan. Asetelma on tietysti hieman hankala, koska oriilla pystytään astuttamaan satakunta tammaa vuodessa, mutta tammalta pystytään huuhtelevaan maksimissaan 6 - 8 alkioita vuodessa. Tammojen superovulaation tehokkaampi aikaansaaminen muuttaisi tätä asetelmaa (Hilden & Nikula 1990, 1.)

2.2 Alkionsiirron hyväksikäyttö ongelmatammoilla

Tammoilla saattaa olla ongelmia tiinehtymisessä. Usein ongelmia tuottavat alkion varhaiskuolemat tai luomiset. Vanhemmat tammat ovat usein ongelmallisempia kuin nuoret (Knottenbelt ym. 2003, 221.) Ongelmatammaksi luetaan tamma, joka on jäänyt tiinehtymättä yhtenä tai useampana vuonna. Kolmena astutuskautena peräkkäin tyhjäksi jääneellä tammalla on jo aika huono ennuste tiinehtyvyyden suhteen. (Väisänen 1987, 2.)

Syitä tiinehtymisongelmiin voidaan etsiä terveydenhuollosta, ruokinnasta tai liiallisesta valmentautumisesta astutuskauden aikana. Liian aikainen astutus voi tuottaa myös ongelmia, kuten kehityshäiriöitä tai alkionvarhaiskuolemia (Väisänen 1987, 2.) Useimmissa tapauksissa ongelmanaiheuttaja on kuitenkin tamman fysiologisissa tai hormonaalisissa ominaisuuksissa. (Knottenbelt ym. 2003, 221.)

Alkionsiirron avulla pystytään hyödyntämään paremmin ongelmatammoja jalostuksessa, varsinkin tapauksissa, joissa tamma tiinehtyy, mutta ei jostain syystä pysty ylläpitämään tiineyttä. Alkionsiirto ei kuitenkaan ole vastaus kaikkien tammojen hedelmällisyysongelmiin. Alkionsiirron käyttö ongelmatammoilla herättää kuitenkin eettisiä kysymyksiä, koska hedelmällisyysominaisuuksia pidetään tärkeinä tamman ominaisuuksina jalostuksessa sekä kasvatuksessa (Mäenpää, Peltonen, Saastamoinen, Hyyppä & Välimäki 2005, 18 - 19.)

3 YLEISTÄ ALKIONHUUHTELUSTA

Tammoille tulisi tehdä yleistutkimus ja perusteellinen gynekologinen tarkastus ennen toimenpiteiden aloittamista. Alkionsiirtoprosessia edesauttaa tarkka tietämys tamman genitaalialueen rakenteesta, mahdollisista puutteista ja ongelmista. Alkionsiirtoprosessi alkaa tammojen kiimojen synkronoinnilla. Synkronoinnin avulla tammot saadaan ovuloimaan haluttuna ajankohtana. Tamma astutetaan tai siemennetään normaalisti. Ovulaation ajankohtaa tarkkaillaan tiiviisti, jotta voidaan ajoittaa alkionhuuhtelu oikealle päivälle. Alkio huuhdellaan 7 - 8 päivää ovulaatiosta. Tammojen kiimojen synkronoinnin onnistuminen ja huuhtelutoimenpiteessä huomioitu puhtaus ovat tärkeitä osatekijöitä koko alkionsiirtoprosessin onnistumiselle. Alkionhuuhtelussa tulokset ovat vaihtelevia. Tutkimuksissa alkionlöytymisfrekvenssien on esitetty vaihtelevan välillä 50 – 70 % (Blanchard ym. 2002, 219) ja 70 – 80 % (Knottenbelt ym. 2003, 223).

3.1 Tammojen kiimojen synkronointi

Tamman kiimankiertoon pystytään vaikuttamaan hormonaalisesti säätelemällä ovulaatioajankohtaa ja keltarauhasen toimintaa (Väisänen 1987, 20). Alkionsiirron onnistumisen maksimointiin täytyy luovuttajatamman sekä vastaanottajatamman kiimat synkronoida eli samanaikaistaa. Idealisessa tilanteessa vastaanottajattamma ovuloi 1 - 2 päivää luovuttajatamman jälkeen (Anttila 1986, 3). Synkronointi voidaan toteuttaa prostaglandiinin ja hCG:n avulla (Anttila 1986, 9). Kiiman keskivaiheilla, keltarauhasvaiheessa, tammoille annetaan prostaglandiini-injektio. Injektio voidaan antaa ovulaatiosta lähtien päivänä kuusi, aina päivään 16 asti. Luovuttajattammalle annetaan injektio päivää ennen vastaanottajattammaa. Kun luovuttajattamma on kiimassa ja sen follikkeli on läpimitaltaan yli 35 mm, tamma siemennetään tai astutetaan normaalisti ja sille annetaan hCG-injektio ovulaation induktioon. Vastaanottajattammalle pyritään antamaan hCG-injektio samana päivänä kun luovuttajattamma on ovuloinut. Kun on kulunut 4 - 5 päivää vastaanottajattamman ovulaatiosta, tammalle tehdään gynekologinen tutkimus. Tutkimuksessa tulee todeta kohdussa ja kohdunkaulassa riittävä tonus ja havaita keltarauhanen. Kohdussa ei saa olla ödeemiä eikä nestettä. Tutkimuksen läpäissyt tamma voi toimia alkion vastaanottajana seuraavat viisi päivää (Squire, McCue & Vanderwall 1999, 95.)

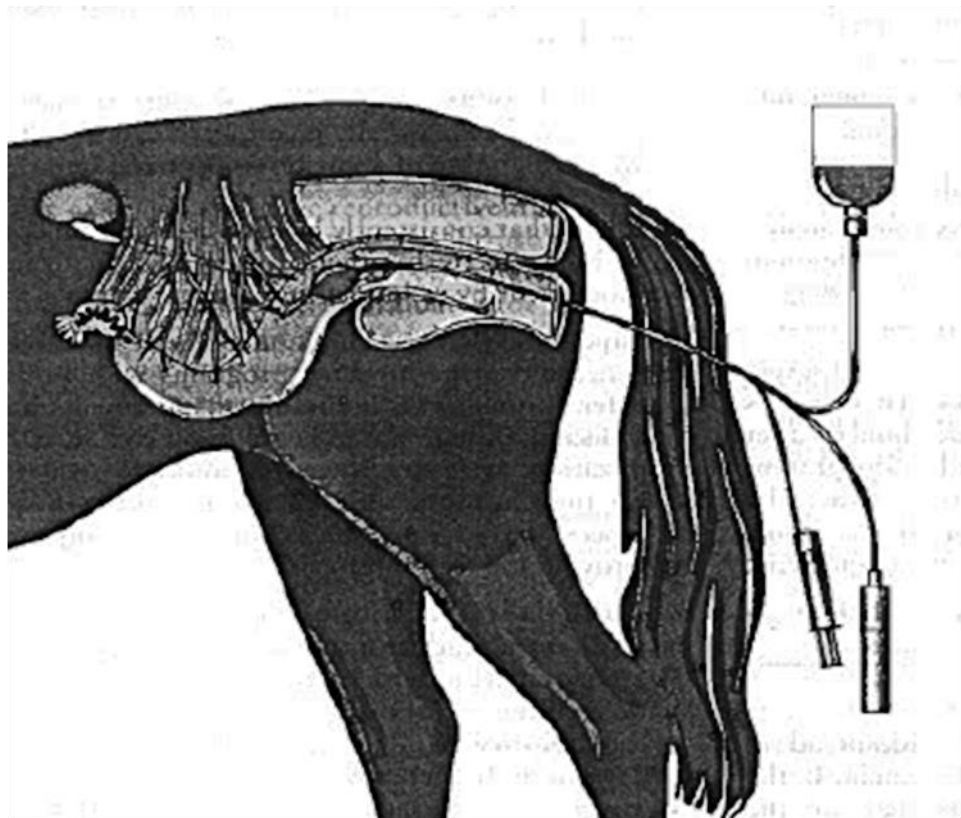
3.2 Alkionhuuhtelu käytännössä

Luovuttajattamma tutkitaan kerran päivässä kiiman aikana, jotta ovulaation ajankohta tiedettäisiin tarkasti. Luovuttajattammalle suoritetaan alkionhuuhtelu 7 - 8 päivää ovulaatiosta. Tätä aikaisemmin suoritetuilla huuhteluilla alkion löytyminen on epätodennäköisempää ja myöhemmin suoritetuilla huuhteluilla vaarana on alkion vaurioittaminen. Tutkimusten mukaan

parhaita tuloksia on saatu huuhteluista, jotka on suoritettu kahdeksan päivää ovuloinnin jälkeen (Blanchard ym. 2002, 222.)

Yksi tärkeimmistä asioista koko alkionsiirtoprosessissa on puhtaus. Ennen huuhtelua luovuttajattaman emättimeen asetetaan side suojaamaan lialta. Tamman peräsuoli tyhjenetään ja perineaalialue pestään huolellisesti. Tämän jälkeen side poistetaan ja perineaalialue kuivataan ja suihkutetaan alkoholilla. Hygienia on tärkeää, jotta bakteereja ei kulkeutuisi siirron aikaan tamman kohtuun aiheuttamaan tulehduksia (Wilsher & Allen 2004, 40 - 41.)

Alkionhuuhtelussa katetri vietään tamman kohdunkaulan läpi noin 5 cm kohtuun. Katetrin päässä oleva mansetti täytetään 50 - 75 millilitralla steriiliä vettä tai ilmaa. Katetria vedetään kevyesti taaksepäin, jolloin mansetti peittää kohdun sisäsuun. Tämän jälkeen lämmin huuhteluneste valutetaan hitaasti kohtuun. Huuhtelunestettä valutetaan kerralla noin 1 - 2 litraa. (KUVA 1.) Huuhtelunesteenä käytetään yleensä alkionhuuhteluliuosta, joka on fysiologinen suolaliuos, joka sisältää myös albumiinia. Huuhteluneste valutetaan ulos kohdusta suodattimen läpi, jolloin mahdolliset alkiot jäävät suodattimeen. Huuhtelu toistetaan yleensä ainakin kolme kertaa (Knottenbelt ym. 2003, 222).



KUVA 1 Alkionhuuhtelu (Knottenbelt ym. 2003, 222.)

Huuhtelujen jälkeen suodattimeen jäänyt neste tutkitaan mikroskoopilla ja mahdolliset alkiot tunnistetaan ja arvostellaan. Alkio pestään useita kertoja yhdellä millilitralla holding-nestettä. Pesun jälkeen alkio asetetaan petri-maljalle holding-nesteeseen, jossa alkion suurennos tutkitaan ja alkio pisteytetään (Knottenbelt ym. 203, 222). Alkiot ryhmitellään luokkiin 1 - 4

laadullisten ominaisuuksien perusteella. Luokka 1 tarkoittaa laadullisesti parasta alkioita ja luokka 4 huonointa.

Alkionhuuhteluissa on kokeiltu tutkimuksellisesti myös kirurgista menetelmää, jossa huuhtelu tapahtuu linea albaan tehdyn viillon kautta. Toisin kuin yleisessä menetelmässä, kirurgisessa menetelmässä tamma huuhteluaan jo kaksi päivää ovuloinnin jälkeen (Anttila 1986, 24.)

3.3 Superovulaatio

Normaalisti tammoilta pystytään huuhtelemaan 1 - 2 alkioita yhdellä huuhtelulla. Suurin osa tammoista tuottaa kuitenkin vain yhden alkion. Tammojen superovulaation aikaansaaminen mahdollistaisi useiden alkioiden löytämisen yhdellä huuhtelukerralla. Saavutuksena olisi korkeammat tiheyttyvyytulokset yhtä huuhtelua kohden sekä pakastukseen saatavien alkioiden määrän kasvaminen (Samper, Pycock & Mckinnon 2006, 324.)

Superovulaation aikaansaamiseksi käytetään hormonaalista hoitoa. Tutkimuksissa on käytetty ja kokeiltu useita hoitomuotoja kuten gonadotropiineja, follikkeleja stimuloivaa hormonia (FSH), gonadotropiineja vapauttavaa hormonia (GnRH) sekä aivolisäkettä stimuloivaa hormonia (EPE). Näistä osalla ei ole ollut oletettua vaikutusta superovulaatioon. Tutkimukset ovat osoittaneet, että EPE:tä hormonaalisena hoitona käytettäessä on saatu hyviä tuloksia ja tammot ovat ovuloineet useita alkioita. Tutkimusten mukaan EPE:n avulla on saatu jopa 75 % tutkimuksessa mukana olleista tammoista ovuloimaan useampia alkioita kerralla (Squires ym. 1999, 94.) EPE:n käyttö hevosilla ei kuitenkaan ole sallittua eikä aineella ole myyntilupaa. Ratkaisevaa superovulaation aikaansaamisessa näyttäisi tutkimusten mukaan olevan FSH:n ja lutenisoivan hormonin (LH) suhde toisiinsa (Squires & McCue 2007, 2 - 3.)

Naudoilla, lampailla ja useilla muilla lajeilla hormonaalinen hoito superovulaation aikaansaamiseksi on tuottanut hyviä tuloksia ja edistänyt alkionsiirtoa. Superovulaation aikaansaaminen hormonaalisesti on tammoilla ongelmallista, koska tammot vastaavat hormonikäsittelyihin huonosti eikä kaupallisia valmisteita ole juurikaan saatavilla (Samper ym. 2006, 324.)

4 ALKIONSIIRTOMENETELMÄT

Hevosien alkionsiirrossa voidaan käyttää kahta eri menetelmää: kirurgista ja ei-kirurgista menetelmää. Ei-kirurginen menetelmä on yleisemmin käytetty kuin kirurginen menetelmä. Kirurgisella menetelmällä on kuitenkin saatu parempia tiinehtymistuloksia kuin ei-kirurgisella menetelmällä. Kirurginen toimenpide on haastavampi, kalliimpi ja siinä vaaditaan tamman rauhoittamista tai jopa narkoosia. Alkionsiirrossa merkittävää on hygienia ja osaava henkilökunta.

4.1.1 Ei-kirurginen menetelmä

Vastaanottajattaman valmisteleminen siirtoon ja puhtaudesta huolehtiminen tapahtuvat samalla tavalla kuin alkionhuuhtelussa luovuttajattaman kohdalla. Puhtaudesta ei tule tinkiä, sillä se on yksi alkionsiirron tärkeimmistä asioista.

Siirtäjä suojaa kätensä rektaalikäsinellä ja steriilillä leikkaushanskalla ja työntää siirtolaitteen sormensa suojassa kohdunkaulan läpi kohtuun (Hilden ja Nikula 1990, 44.) Siirtolaitteena voidaan käyttää esimerkiksi keinosiemennyspipettiä tai Cassoun'in laitetta (Väisänen 1987, 26). Kohdussa siirtolaite tyhjennetään ja tällöin alkion tulisi siirtyä kohdun runko-osaan. (Hilden ja Nikula 1990, 44). Siirron jälkeen vastaanottajattamvoja hoidetaan joissakin tapauksissa antibiootti- ja tulehduskipulääkkeillä mahdollisten tulehdusten ehkäisemiseksi. Progestageenilääkityksen (Regumate) käyttö on myös yleistynyt vastaanottajattamojen jatkohoidossa, sillä Regumaten uskotaan auttavan tiinehtymisessä ja tiineyden ylläpitämisessä vaikuttamalla keltarauhashormonin tasoon.

Alkionsiirrossa voidaan käyttää apuna myös steriilejä työvälineitä, jotta välttyttäisiin käden mukana kohtuun meneviltä bakteereilta. Vaginaan voidaan asettaa speculum aukaisemaan sitä, jolloin saadaan suora yhteys kohdunkaulaan. Pihtien avulla kohdunkaulaa voidaan pidentää ja suoristaa, jolloin pipetillä on helpompi siirtää alkio kohdun runko-osaan. Tällä menetelmällä on saatu parempia tiinehtymistuloksia kuin kädellä kohtuun mentäessä. Joissain tutkimuksissa tiinehtymisprosentiksi on saatu jopa 85 % (Wilsher & Allen 2004, 41 - 42.)

4.1.2 Kirurginen menetelmä

Kirurgisessa menetelmässä alkionsiirto tapahtuu joko kylkiviillon tai linea alban kautta. Alkionsiirtoa kylkiviillon kautta tehdessä tamma rauhoitetaan ja nälkäkuopasta noin 35 cm korkea ja 45 cm pitkä alue ajellaan ja pestään huolellisesti. Syvät ja pinnalliset lihakset puudutetaan tulevan viillon kohdalta lonkkakäyhmyä ja viimeisten kylkiluiden puolivälistä. Kohdunsarvea vedetään leikkaushaavan suulle ja lävistetään mahdollisimman vähän leikkaavakärkisellä neulalla. Alkio viedään kohdunsarveen pipetin avulla ja asetetaan paikoilleen. Kohtuviilto ommellaan ja kohtu palautetaan.

taan paikalleen. Lihaskerros ja iho ommellaan kiinni. Linea alban kautta tehdyssä siirrossa kohdunsarven kärkeä vedetään taaksepäin leikkaushaavan suulle. Kohdunsarveen tehdään pieni viilto, jonka kautta alkio viedään kohdunsarveen pipetin avulla. Alkion asettamisen jälkeen serosa suljetaan, kohtu palautetaan normaaliin asentoon ja tehty viilto ommellaan umpeen. Tämä tekniikka on kallis ja aikaavievä ja se vaatii vastaanottajattaman narkoosin. Kylkiviillon kautta tehdyissä siirroissa on saatu parempia tiineystuloksia kuin linea alban kautta tehdyissä siirroissa (Hilden & Nikula 1990, 43 - 44).

5 ALKION SÄILYTYS

Japanilaiset olivat ensimmäisiä, jotka onnistuivat pakastetulla alkiolla tehdyssä alkionsiirrossa. Alkioiden säilytyksen kehittäminen on ollut yksi eteenpäin vievä askel alkionsiirtoprosessissa. Kehityksen myötä alkioita pystytään jäähdyttämään, kuljettamaan ja pakastamaan. Tämä helpottaa alkionsiirtoprosessia, eikä vaadi välttämättä suuria määriä tammoja eikä kiimojen synkronointia. Luovuttaja- ja vastaanottajatammojen ei tarvitse konkreettisesti olla samassa paikassa, vaan alkiota pystytään kuljettamaan hevosen sijaan (Samper ym. 2006, 322 - 323.) Yksi käytetyimpiä säilytysnesteitä on Ham's F10. Säilyäkseen alkiot tulee jäähdyttää 5 °C tai jäähdyttää tyypellä -196 °C (Elaine & Carnevale 2006, 831.) Alkion pakastaminen edistää myös kansainvälistymistä ja hevoskauppaa. Pakastettuna alkioita pystytään kuljettamaan maiden välillä, näin saadaan myös huipputammankantaa jalostukseen tuontisperman ohella. Useat rotuyhdistykset ovat kielittäytyneet pakaste-alkiosta kasvaneen varsan rekisteröinnistä.

Pienemmät alkiot toimivat pakastamisessa paremmin kuin isot. 300 µm pienemmät alkiot selviävät pakastamisprosessista paremmin kuin sitä isommat.

Tutkimusten mukaan tuoreeltaan ja jäähdytettyinä siirrettyjen alkioiden tiinehtymistuloksissa on eroja, mutta myös pakastetuilla alkiolla tehdyissä siirroissa on onnistuttu saamaan järkeviä tiineystuloksia ja on saavutettu noin 50 % tiinehtyvyyksiä (Squires ym. 1999, 96.)

6 ALKIOSIIRTOTULOKSIIN VAIKUTTAVIA TEKIJÖITÄ

Tammojen valinta on yksi koko alkionsiirtoprosessin tärkeimmistä vaiheista. Tammojen valinnalla pystytään vaikuttamaan prosessin lopputulokseen. Asia on kuitenkin ristiriitainen, koska alkionsiirrolla pyritään saamaan varsoja myös sellaisista tammoista, joilla on ongelmia tiinehtymisessä tai tiineyden ylläpitämisessä. Tammojen kiimojen tarkka synkronointi antaa paremmat edellytykset alkionsiirron onnistumiselle. Vastaanottajattamman tulee olla genitaalisesti täysin valmis siirrettävälle alkionle. Koko prosessin aikana puhtaudesta on huolehdittava, puhtaus on yksi suuri osatekijä koko alkionsiirtoprosessissa. Tamman tiinehtymiseen vaikuttavat lisäksi oriin sperman laatu, alkion koko, ikä ja laatu sekä siirtomenetelmä. Alkionsiirto on monitahoinen prosessi, jossa on huolehdittava monista osatekijöistä. Parempiin tiinehtymistuloksiin päästään, jos osataan ottaa huomioon nämä kaikki tärkeät tekijät.

6.1 Luovuttajattamman valinta

Luovuttajattammojen tulisi olla hyviä periyttäjiä, geneettisesti arvokkaita. Luovuttajattamman tulisi olla hyvässä fyysisessä kunnossa ja sillä tulisi olla normaali kiimankierto. Alkioiden löytyminen on vaikeampaa vanhoilta kuin nuorilta tammoilta. Luovuttajattamman ikää on alettu pitää yhtenä tärkeänä seikkana alkionsiirtoprosessin onnistumisessa. Varsinkin vanhat tammat, joilla ei ole varsomishistoriaa, tuottavat vähemmän alkioita. Tiineys- ja varsomishistorialla on merkitystä alkioiden kehittymiseen (Squires, Carnevale, McCue & Bruemmer, 2003, 152.)

Yleistä on käyttää alkionsiirrossa tammoja, jotka tiinehtyvät, mutta eivät jostain syystä pysty jatkamaan tiineyttä, kohtutulehdustammoja sekä tammoja, joilla on kohdunkaulan sairauksia. Tällaisilta tammoilta alkioiden löytäminen on haasteellisempaa ja alkioiden laatu heikompaa kuin terveillä tammoilla (Blanchard ym. 2002, 220.)

Texasissa tehdyn tutkimuksen mukaan tammojen kova fyysinen rasitus näyttäisi vaikuttavan alkioiden löytymiseen, laatuun ja kokoon. Tutkimuksessa todettiin kovan harjoittelun varsinkin kuumassa ja kosteassa ilmastossa vähentävän alkioiden löytymistä. Harjoittelu nostaa hevosen ruumiinlämpöä, mikä haittaa alkion kehittymistä ja aiheuttaa alkioiden varhaiskuolemia. Harjoittelussa olevilla tammoilla alkioiden löytyminen oli haasteellisempaa, alkioit olivat pienempiä ja laadultaan heikompia kuin harjoittelemattomilla tammoilla (Mortensen, Choi, Hinrichs, Ing, Kraemer, Vogelsang S.G & Vogelsang M.M. 2008, 238 – 240.)

6.2 Vastaanottajattamman valinta

Vastaanottajattamman valinta on yksi tärkeimmistä seikoista koko alkionsiirtoprosessissa. Nuoria tammoja kannattaa suosia. Tamman olisi hyvä olla noin 3 - 10-vuotias ja yksi tai kaksi kertaa varsonut (Samper ym. 2006,

321.) Tamman tulee olla terve ja sillä tulee olla normaali kiimankierto. Tammalla ei saa olla lisääntymisongelmia. Tammalle tehdään gynekologinen tutkimus, jonka tarkoituksena on selvittää tamman kiimankierron vaihe ja arvioida sen sopivuutta alkion vastaanottajaksi. Vastaanottajatamman tulisi olla yhtä suuri tai hieman suurempi kuin luovuttajatamman. Merkitystä on myös vastaanottajatamman luonteella, on helpompaa jos tamma on rauhallinen ja helposti käsiteltävä (Blanchard ym. 2002, 220.)

Argentiinalaiset ovat niittäneet mainetta tiinehtymistuloksillaan alkionsiirroissa ei-kirurgista menetelmää käyttäen. He ovat saavuttaneet lähes 80 % tiinehtymistuloksia. Suoritustehon lisäksi tammojen valinta on näiden onnistumisien takana. He eivät käytä alkionsiirrossa vastaanottajina tammoja, jotka vähääkään osoittavat hedelmättömyyttä, tiinehtymisongelmia tai joiden kohdunkaulan rakenne hankaloittaa alkionsiirtoprosessia (Wilsher & Allen 2004, 39 - 40.)

6.3 Synkronisaatioaste

Idealisessa tilanteessa vastaanottajatamma ovuloi 1 - 2 päivää luovuttajatamman jälkeen. Maksimaaliseen tulokseen ylletään, mikäli vastaanottaja ovuloi 24 tunnin sisällä luovuttajasta. Vastaanottajatammalla on pelivaraa kuitenkin ovuloida myös 1 - 3 päivää luovuttajatamman jälkeen (Knottenbelt ym. 2003, 223.)

6.4 Sperman laatu ja käsittely

Sperman laatu vaikuttaa myös alkioiden löytymisfrekvenssiin. Tuoreella spermalla siemennettäessä ovat alkioiden löytymisfrekvenssit olleet korkeammat kuin pakaste- tai siirtospermalla siemennettäessä (Squires ym. 2003, 152.) Sperman laatu vaikuttaa tamman tiinehtymiseen ja alkioiden tuottamiseen. Sperman laatua voidaan tarkastella useiden eri tekijöiden kautta. Sperman tulisi olla tasaisen valkeaa, läpinäkymätöntä. Spermassa ei saisi olla virtsaa, verta eikä kokkareita. Sperman laadun tutkimiseen kuuluu ejakulaatin tilavuuden, siittiökonsentraation sekä progressiivisesti liikkuvien siittiöiden osuuden määrittäminen (Hagman 2008, 51.) Myös sperman käsittelyllä on vaikutusta, yleensä tammät tiinehtyvät paremmin tuoreella spermalla kuin pakaste- tai siirtospermalla. Suomessa tehdyssä tutkimuksessa (1085 tammaa ja 1908 kiimankierron) tiinehtyvyys kiimaa kohden oli pakastespermalla 33,1 %, siirtospermalla 51,7 % ja tuorespermalla 56,2 % (Katila 2003). Luovuttajatamma tulisi siementää mahdollisimman laadukkaalla spermalla, jotta alkioiden löytymisfrekvenssi olisi mahdollisimman korkealla.

6.5 Siirtomenetelmä

Tutkimusten mukaan kirurgisen menetelmän katsotaan saavuttavan korkeammat tiinehtymisprosentit kuin ei-kirurginen menetelmä. Tutkimusten mukaan kirurgisella menetelmällä on saatu jopa 30 % parempia tiinehtymistuloksia kuin ei-kirurgisella menetelmällä. Ei-kirurgisessa menetel-

mässä tiinehtymisprosentteja alentavina tekijöinä pidetään mm. kohtulehduksia ja alkion takaisinvirtauksia kohdunkaulaan (Wilsher & Allen 2004, 39.) Ei-kirurgisella alkionsiirtomenetelmällä saadaan vaihtelevampia tuloksia kuin kirurgista menetelmää käyttäen. Tätä pidetäänkin ei-kirurgisen alkionsiirron yhtenä epäkohtana. Eräissä tutkimuksissa on saatu seuraavia tiineystuloksia verrattaessa kirurgista ja ei-kirurgista alkionsiirtomenetelmää: 72 % vs. 45 % ja 55 % vs. 22 % (Wilsher & Allen 2004, 39 - 40.)

6.6 Puhtaus

Puhtaus on tärkeimpiä asioita niin alkionhuuhtelussa kuin alkionsiirrossakin. Ennen huuhtelua ja siirtoa tamman perineaalialue tulee pestä erittäin huolellisesti. Pesussa voidaan käyttää esimerkiksi Betadinea, alue tulee pestä ainakin kolme kertaa. Pesu aloitetaan melko laajalta alueelta, aluetta pienennetään jokaisella pesukerralla. Pesun jälkeen alue kuivataan ja suihkutetaan vielä alkoholilla. Välineiden ja hanskojen tulee olla steriilejä. Usein käytetään ns. tuplahanskatekniikkaa. Siirtäjä pukee rektaalikäsiineen ja tämän päälle steriilin leikkaushanskan. Toisesta rektaalikäsiineestä leikataan steriilisti sormiosat pois, siirtopilli viedään käsiineen suojassa kohdunkaulaan ja käsiine vedetään pois ennen kohtuun siirtymistä. Toimenpiteet yritetään suorittaa mahdollisimman steriilisti ja vältetään viemästä kohtuun bakteereja. Bakteerien päästessä kohtuun on vaarana tulehdus ja alkion kuoleminen. Speculumin avulla tehdyt alkionsiirrot ovat tuottaneet tutkimusten mukaan parhaita tiinehtymistuloksia. Speculumia käytettäessä toimenpide pystytään pitämään steriilimpänä, kun kohtuun ei tarvitse mennä käden kanssa emättimen läpi.

6.7 Alkion ikä, laatu ja koko

Alkion ikä vaikuttaa huuhteluissa alkion löytymiseen. Alkio pyritään siirtämään mahdollisimman nuorena, koska tällöin sen vaurioittamisriski on pienimmillään. 7 - 8 päivää ovulaatiosta on optimaalinen aika tehdä huuhtelu, 6 päivää ovuloinnista tehdyissä huuhteluissa löytymisfrekvenssi on jo pienempi (Anttila 1986, 16.) Mitä vanhempi alkio on, sitä helpommin sitä voi vaurioittaa ja mitä heikompi alkion laatu on, sitä pienemmällä todennäköisyydellä tamma tiinehtyy.

Alkioiden laadulla on vaikutusta tiinehtymistuloksiin. Laadultaan ryhmään 3 tai 4 kuuluvat alkiot tuottavat huonompia tiinehtymistuloksia kuin luokkien 1 ja 2 (TAULUKKO 1.) Myös kooltaan normaalia pienemmät tai huomattavasti normaalia suuremmat alkiot johtavat heikompiin tiinehtymistuloksiin.

TAULUKKO 1 Alkioiden laadun vaikutus tiinehtymisprosenttiin
(Squires ym. 1999, 95)

Alkio	Laatuluokka	Alkioiden määrä	Tiineystulokset		
			Päivä 12	35	50
Tuore	1	54	89	79	78
	2	68	69	63	60
	3	13	54	46	46
	4	3	33	33	33
Jäähdytetty	1	71	86	80	77
	2	74	82	69	66
	3	43	70	63	60
	4	5	60	40	40
Yhdistetty	1	125	87	80	77
	2	142	76	66	63
	3	56	66	59	57
	4	8	50	38	38

6.8 Alkion säilytys

Siirron onnistumiseen vaikuttaa se, onko alkio siirretty tuoreeltaan vai onko se jäähdytetty tai pakastettu. Tutkimusten mukaan tuoreiden ja jäähdytettyjen alkioiden tiinehtymistulokset ovat samaa luokkaa, mutta pakastettujen alkioiden tiinehtymistulokset ovat huomattavasti heikompia ja epävarmempia. Pakastaminen ja sulattaminen voi vaurioittaa alkioita ja näin ollen vaikuttaa myös tiinehtymiseen.

7 ALKIOVARSAN REKISTERÖINTI JA KILPAILEMINEN

Monet maat, rotuyhdistykset sekä kantakirjat rajoittavat alkiovarsojen rekisteröintiä. Usein rekisteriin ei hyväksytä astutuskaudelta kuin yksi varsa yhdeltä emältä. Alkionsiirtoa ei näin ollen pystytä hyväksikäyttämään jalostuksen nopeuttamisessa ja tehostamisessa. Esimerkiksi vuonna 2002 Amerikan Quarterhevosityhdistys hyväksyi varsojen rajoittamattoman rekisteröinnin. Quarterhevosityhdistys on Amerikan suurin hevosjärjestö (Squires ym. 2003, 152.)

Suomessa on olemassa alkionsiirtosääntö. Sääntö on tullut voimaan 22.8.2007. Säännön mukaan ravikilpailuoikeudella voidaan rekisteröidä kaikki alkionsiirtomenetelmällä syntyneet suomenhevosvarsat. Lämminveristen kohdalla ravikilpailuoikeus myönnetään ainoastaan vuoden ensimmäiselle alkionsiirtomenetelmällä syntyneelle varsalle. Tämä noudattaa samaa linjaa Euroopan raviliiton (UET) kanssa. Suomessa lämminverisille ratsuhevosille ei ole alkionsiirtosääntöä. Alkionsiirtomenetelmällä syntyneen varsan kasvattaja on vastaanottajattaman omistaja tai haltija varsan syntymähetkellä (Suomen Hippos 2010a.)

8 TUTKIMUS ALKIONSIIRTOJEN TULOKSISTA SUOMESSA

Tutkimuksen tavoitteena oli kartoittaa Suomessa tehtyjen alkionhuuhtelujen ja –siirtojen määrää ja tuloksia. Tarkoituksena oli myös tutkia sekä luovuttajatammojen että vastaanottajatammojen astutus- ja varsomishistoriaa. Tammojen taustoja tutkimalla pyrin selvittämään onko edellisen astutuskauden tapahtumilla osuutta alkionsiirtotuloksiin. Tutkimus perustui kuvailevaan statistiikkaan, jossa keskityttiin onnistumisprosentteihin.

8.1 Lähdeaineisto

Suurin osa tutkimuksen lähdeaineistosta oli saatu MTT Hevostutkimukselta Ypäjältä. Pieni osa lähdeaineistosta oli saatu Kallelan oriasemalta. Lähdeaineisto sisälsi Ypäjällä sekä Kallelassa tehtyjä ja kirjattuja alkionhuuhteluita ja –siirtoja. Aineistossa oli mukana kaupallisten alkionsiirtoprosessien lisäksi myös Ypäjän tutkimukselliset prosessit. Ypäjältä saatu aineisto oli vuosilta 1992 - 2005, Kallelasta saatu vuosilta 2006 - 2009. Lähdeaineisto sisälsi yhteensä 649 alkionhuuhtelua ja 274 alkionsiirtoa. Alkionsiirroissa käytettiin ei-kirurgista menetelmää.

8.2 Aineiston käsitteleminen

Aineisto käsitti seuraavat tiedot ja niiden tulokset: luovuttajattamma ja tammatyyppi, siemennyspäivämäärä, siemennyksessä käytetty ori, alkionhuuhtelun päivämäärä, alkion löytyminen ja koko, alkiolle tehty toimenpide, vastaanottajattamma ja tammatyyppi, siirtopäivämäärä sekä mahdollinen tiinehtyminen ja varsominen. Tammat jaettiin kuuteen eri luokkaan eli tammatyyppeihin niiden edellisen astutuskauden tapahtumien mukaan: varsomaton (1), tyhjäksi jäänyt (2), levännyt (3), varsallinen (4), tuntematon (5), luonut (6). Alkiolle tehty toimenpide tarkoittaa pakastamista (1), siirtämistä (2), muita tutkimuksia (3). Aineisto oli osittain puutteellista, mikä alensi aineiston eksaktisuutta.

Luovuttaja- ja vastaanottajatammojen astutus- ja varsomishistoriaa tutkin käyttäen apuna Hippoksen verkkopalvelujen Heppa-tietokantaa (Suomen Hippos 2010b). Kaikkia tammoja ei nimen perusteella löytynyt tietokannasta tai niiden astutus- ja varsomishistoriasta ei ollut mitään merkintöjä. Kerätyn aineiston pohjalta pyrin vastaamaan siihen, miten alkionhuuhtelut ja –siirrot onnistuivat sekä oliko tammojen astutus- ja varsomishistorialla merkitystä alkionsiirtoprosessin tuloksiin.

9 TUTKIMUKSEN TULOKSET JA NIIDEN ANALYSOINTI

Alkionsiirtoprosessin onnistumista kuvasivat parhaiten alkioiden löytymisfrekvenssi, tiineysprosentti sekä varsomisprosentti. Kuvailevia tunnuslukuja kokosin taulukkoon (TAULUKKO 2).

TAULUKKO 2 *Alkionsiirtoprosessin tunnuslukuja*

Alkionhuuhtelut	649
Alkioita löytynyt	382
Alkioiden löytymisprosentti	59 %
Alkionsiirtoja tehty	274
Tammoista tiinehtyi	99
Tammoista varsoi	39
Tiinehtymisprosentti	36 %
Varsomisprosentti	14 %

Aineisto sisälsi yhteensä 649 alkionhuuhtelua, joissa löytyi 382 alkioita. Alkion löytymisfrekvenssiksi sain 59 %. Alkionsiirtoja oli tehty 274, näistä 99 johti tiineyteen ja 39 varsomiseen. Siirtojen määrän mukaan lasketuna tiinehtymisprosentiksi sain 36 % ja varsomisprosentiksi 14 %. Laskettaessa onnistumista huuteluiden mukaan tiinehtymisprosentiksi sain 19 % ja varsomisprosentiksi 7 %. Tähän laskin vain huuhtelut, joissa löydetty alkio oli siirretty. Kaikkia löydettyjä alkioita ei siirretty, osa pakastettiin tai niille tehtiin muita toimenpiteitä. Nämä edellä mainitut tunnusluvut olin laskenut huomioon ottaen aineiston kaikki alkionsiirrot, sisältäen siis tuoreella sekä pakastetulla alkiolla suoritettut siirrot. Pakastetuilla alkiolla siirtoja suoritettiin 101, näistä 23 johti tiineyteen ja kaksi varsomiseen. Pakastetulla alkiolla tehtyjen siirtojen tiinehtymisprosentiksi sain noin 23 % ja varsomisprosentiksi vain 2 %. Tuoreilla alkiolla oli tehty alkionsiirtoja 173, näistä 76 tiinehtyi ja 37 varsoi. Pelkästään näiden tuoreilla alkiolla tehtyjen siirtojen mukaan tiinehtymisprosentin sain jo nousemaan noin 44 %:iin ja varsomisprosentin noin 22 %:iin.

Alkioiden löytymisfrekvenssit ja tiineysprosentit vaihtelivat paljon eri tutkimusten välillä. Useissa lähteissä alkioiden löytymisfrekvenssiksi oli merkitty 50 - 70 % (Blanchard ym. 2002, 219). Tiineysprosenttien esitettiin vaihtelevan välillä 12,5 - 71 % (Samper ym. 2006, 321). Joissakin tutkimuksissa yllettiin jopa 85 % tiineystuloksiin. Tiineysprosenttien kohdalla tutkimusten tulokset olivat erittäin vaihtelevia ja se vahvisti tietoa eikirurgisen alkionsiirtoprosessin onnistumisen epävarmuudesta. Aineistoni alkioiden löytymisfrekvenssi ja tiineysprosentti pysyivät aikaisemmissa tutkimuksissa esiintyvissä raja-arvoissa. Tiineysprosentti 36 % oli matala verrattuna normaalin astutuksen tai siemennyksen saavuttamiin prosentteihin. Normaalin astutuksen tai siemennyksen tiineysprosentit vaihtelevat 70 - 85 % ja varsomisprosentit 55 - 70 % välillä.

9.1 Tulokset tammatyypeittäin

Luovuttajatammat ja vastaanottajatammat luokittelin ryhmiin edellisen kauden astutus- ja tiineyshistorian perusteella (TAULUKKO 3 ja 4.) Tammojen ryhmiin luokittelun avulla, pyrin selvittämään oliko tammojen astutus- ja tiineyshistorialla merkitystä tammojen valinnassa, alkioden löytymisessä ja siirron tuloksissa. Alkionsiirtoprosessi onnistuu suuremmalla todennäköisyydellä, jos kaikki prosessin osatekijät ovat kohdallaan. Tammojen valinta on yksi tärkeä osatekijä koko prosessin onnistumisen kannalta.

TAULUKKO 3 Luovuttajatammojen jakaantuminen ryhmiin

<i>Luovuttajatammat</i>	<i>Määrä</i>	<i>%</i>
<i>tyypeittäin:</i>		
1 varsomaton	306	47 %
2 tyhjä	110	17 %
3 levännyt	139	21 %
4 varsallinen	49	8 %
5 tuntematon	36	6 %
6 luonut	9	1 %
Yhteensä:	649	100 %

Luovuttajatammoista suurin osa, lähes puolet, oli varsomattomia. Useat aineistoni varsomattomat tammot olivat iältään nuoria. Nuorilta tammoilta löytyy helpommin ja suuremmalla todennäköisyydellä alkioita kuin vanhoilta tammoilta. Nuoria tammoja kannattaa suosia alkion luovuttajina. Edellisenä kautena tyhjäksi jääneet tammot eivät ole parhaita mahdollisia luovuttajaehdokkaita, mutta useasti alkionsiirtoa hyödynnetään ongelmattomilla. Onnistumista ajatellen, tammojen, niin luovuttajien kuin vastaanottajienkin, tulisi olla mahdollisimman terveitä ja hedelmällisiä.

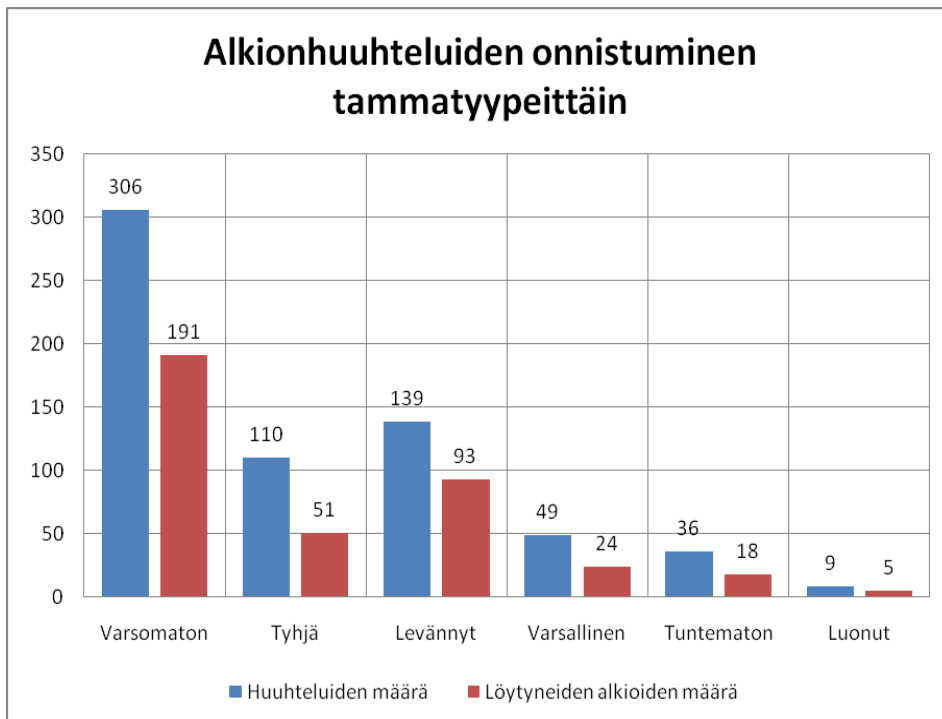
TAULUKKO 4 Vastaanottajatammojen jakaantuminen ryhmiin

<i>Vastaanottajatammat</i>	<i>Määrä</i>	<i>%</i>
<i>tyypeittäin:</i>		
1 varsomaton	168	61 %
2 tyhjä	11	4 %
3 levännyt	51	19 %
4 varsallinen	8	3 %
5 tuntematon	35	13 %
6 luonut	1	0 %
Yhteensä:	274	100 %

Myös vastaanottajatammojen kohdalla aineistossani esiintyi eniten, yli puolet, varsomattomia tammoja. Edellisenä kautena tyhjäksi jääneiden sekä varsallisten tammojen ryhmät olivat hyvin marginaaliset. Vastaanottajatamman valinta on yksi oleellinen asia alkionsiirron onnistumisen kannalta. Siirron katsotaan onnistuneen kun tamma tiinehtyy ja varsoo. Aineistoni sisälsi paljon tutkimuksellisia prosesseja, joissa tammavalintoja ei välttämättä ole niinkään mietitty jalostuksellisin perustein.

9.1.1 Tulokset alkionhuuhteluissa

Aineisto käsitti 649 alkionhuuhtelua, näistä huuhteluista löytyi 382 alkioita. Alkionlöytymisprosentiksi saatiin 59 % koko aineistoa hyödyntäen. Aineistosta tutkin lisäksi tammatyypin välisiä eroja alkoiden löytymisessä (KUVA 2) ja vertailin alkoiden löytymisfrekvenssejä (KUVA 3). Koko alkionsiirto prosessi onnistuu sujuvammin, mikäli luovuttajatammat tiinehtyvät helposti ja tuottavat alkioita. Luovuttajattamman tulisi olla hedelmällinen ja kiimojen tulisi olla säännölliset, jotta päästäisiin mahdollisimman hyviin tuloksiin.



KUVA 2 Alkionhuuhteluiden onnistuminen



KUVA 3 Alkion löytymisfrekvenssit tammatyypeittäin

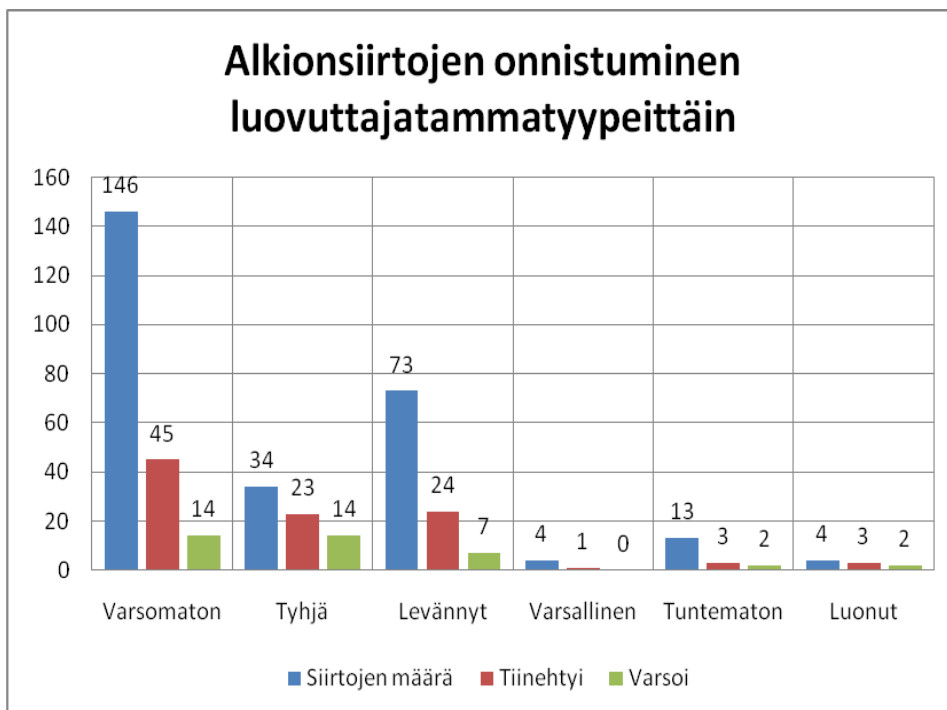
Luovuttajatammojen edellisen kauden tapahtumilla ei näyttänyt olevan kovin suurta merkitystä alkioiden löytymisfrekvensseihin. Levänneillä ja varsomattomilla tammoilla alkioiden löytymisfrekvenssit olivat keskimääräistä korkeammalla (67 % ja 62 %). Varsomattomat tammot olivat suurimmaksi osaksi nuoria. Nuorilta tammoilta alkioita löytyy suuremmalla todennäköisyydellä kuin vanhoilta tammoilta. Levänneellä tammalla tarkoitetaan tammaa, jolla on astutus- ja tiineyshistoriaa, mutta edellisenä kautena tammaa ei ole yritetty siementää tai astuttaa. Usein sanotaan, että lepovuosi ei välttämättä ole eduksi tamman hedelmällisyyttä ajatellen, mutta alkioiden löytymiseen tässä tapauksessa sillä ei ainakaan ollut merkitystä. Toisaalta levänneet tammot ovat varsoneet ainakin kerran, joten tuskin ainakaan ongelmatammoista puhutaan ja tällöin alkiontuotannon pitäisikin olla normaalia. Alkioiden löytymisfrekvenssit olivat samaa luokkaa kuin aikaisemmatkin tutkimukset osoittavat, kaikkien ryhmien alkioiden löytymisfrekvenssit pysyivät suurin piirtein raja-arvoissa 50 - 70%. Edellisenä kautena tyhjäksi jääneiltä tammoilta alkioita löytyi hieman vähemmän kuin muilta ryhmiltä (46 %). Tyhjäksi jääneet tammot voidaan lukea ongelmatammiin ja näin ollen keskimääräistä alhaisempi alkioiden löytyminen oli odotettavissakin. Varsallisten tammojen kohdalla alkioiden löytyminen oli myös hieman heikompaa. Varsalliset tammot vaipuvat muita useammin syvempään talvilepoon. Suurin osa huuhteluista oli suoritettu keväällä, joten varsallisten heikompaa alkioiden löytymistä voisi selittää sillä.

9.1.2 Tulokset alkionsiirroissa

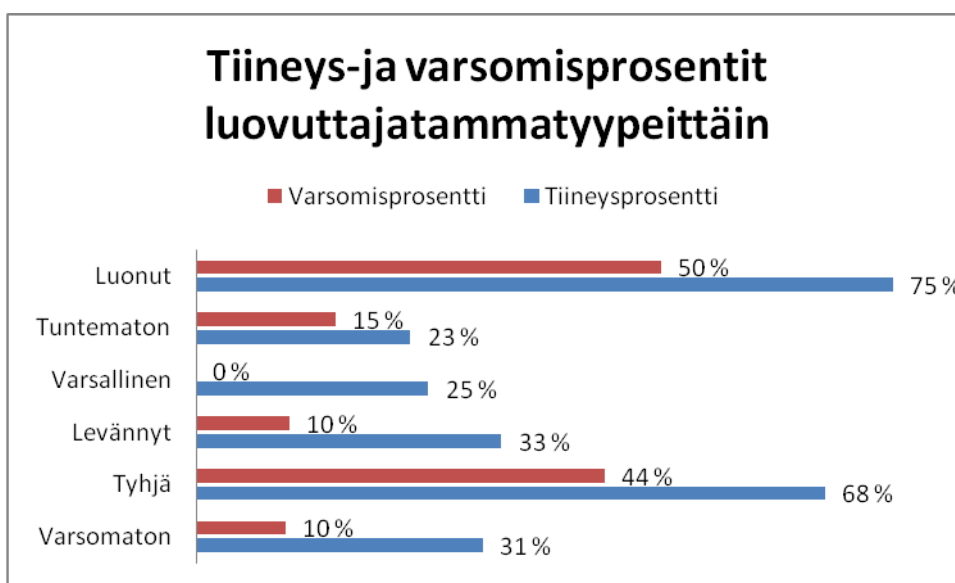
Tammaryhmien kohdalla alkionsiirroissa otin huomioon sekä tuoreilla että pakastetuilla alkioilla tehdyt siirrot. Näitä ei ole eritelty, koska pakastetuilla alkioilla tehtyjen siirtojen määrä ja onnistuminen oli niin vähäistä.

Alkionsiirron onnistumista kuvaavat parhaiten tiinehtymis- ja varsomisprosentti. Siirtojen onnistumisen tärkeänä tekijänä on vastaanottajattamma, mutta myös luovuttajatammalla on merkitystä. Tutkimalla alkionsiirtojen onnistumista luovuttajatammatyypin mukaan, pyrin selvittämään alkion syntipaikan laadun vaikuttamista alkion kehittymiseen (KUVA 4.) Jokaisen tammatyypin kohdalla laskin myös tiineys- ja varsomisprosentit (KUVA 5.) Alkion olosuhteet tamman kohdussa myös alkion elinkaaren alkupäivinä vaikuttavat alkion kokoon ja laatuun ja nämä seikat taas vaikuttavat vastaanottajattamman tiinehtymiseen. Varsinkin alkion laatu näyttäisi olevan yhteisissä tiinehtymiseen.

Alkion tulisi olla sopivan kokoinen ja laadultaan mahdollisimman hyvä, jotta siirto onnistuisi mahdollisimman hyvin. Luovuttajatamman ominaisuudet vaikuttavat suurimmalta määrin tamman tiinehtymiseen ja sitä kautta alkion löytymiseen, mutta myös alkion laadullisiin ominaisuuksiin. Alkion laadulliset ominaisuudet kehittyvät jo luovuttajatamman kohdussa. Mitä laadukkaampi alkio, sen todennäköisemmin vastaanottajattamma tiinehtyy.



KUVA 4 Alkionsiirtojen onnistuminen luovuttajatammatyypeittäin



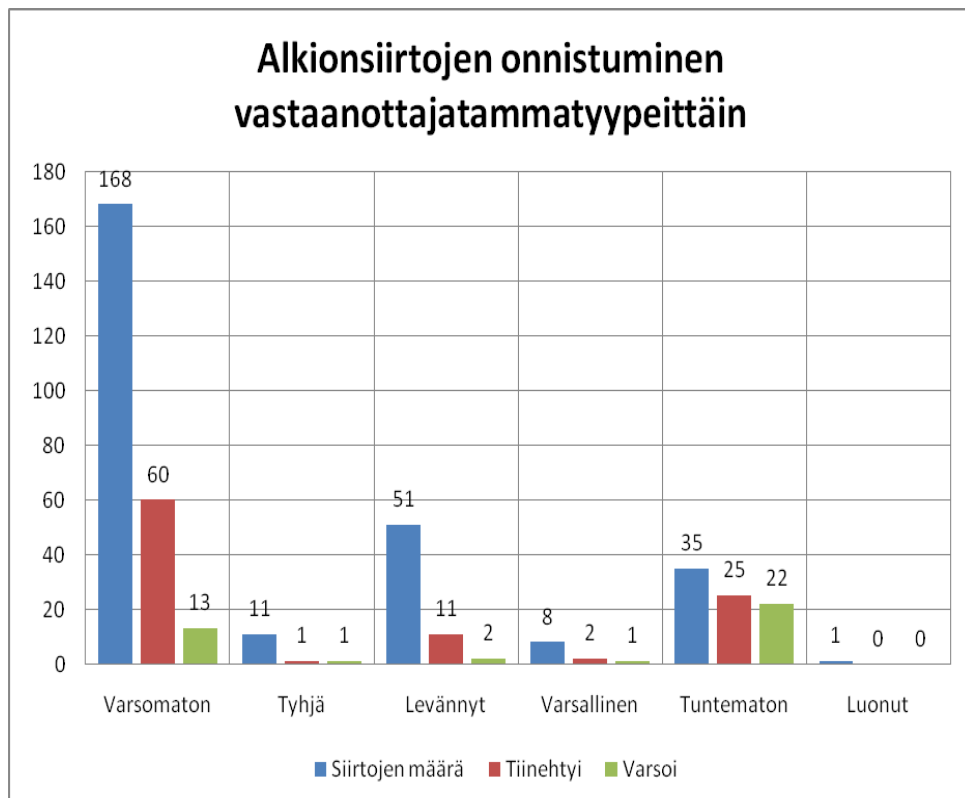
KUVA 5 Tiineys- ja varsomisprosentit luovuttajatammatyypeittäin

Alkiot, jotka oli huuhdeltu edellisenä kautena tyhjäksi jääneiltä tammoilta, näyttivät jatkavan parhaiten kasvamistaan ja kehittymistään. Tämä puhuisi sen puolesta, että tyhjäksi jääneillä tammoilla on ollut ongelmia ennemmin alkion kasvun ylläpitämisessä kuin tiinehtymisessä ja juuri näille tammoille alkionsiirto on yksi hyvä ja varteenotettava vaihtoehto. Edellisenä kautena tyhjäksi jääneiltä tammoilta alkioita oli huuhteluissa löytynyt hieman vähemmän kuin muilta ryhmiltä, mutta tiineys- ja varsomistulokset (69 % ja 44 %) olivat kuitenkin muita ryhmiä huomattavasti korkeammat. Yleisimpiä syitä tyhjäksi jäämiselle ovat kohtutulehdukset, vauriot kohdunkaulassa sekä kohdun limakalvon rappeutuminen. Jotkut herkät tammat voivat saada lievän tulehduksen myös oriin spermasta. Tiinehtyvyyteen vaikuttavat lisäksi monet muut seikat, kuten oriin sperman laatu ja tam-

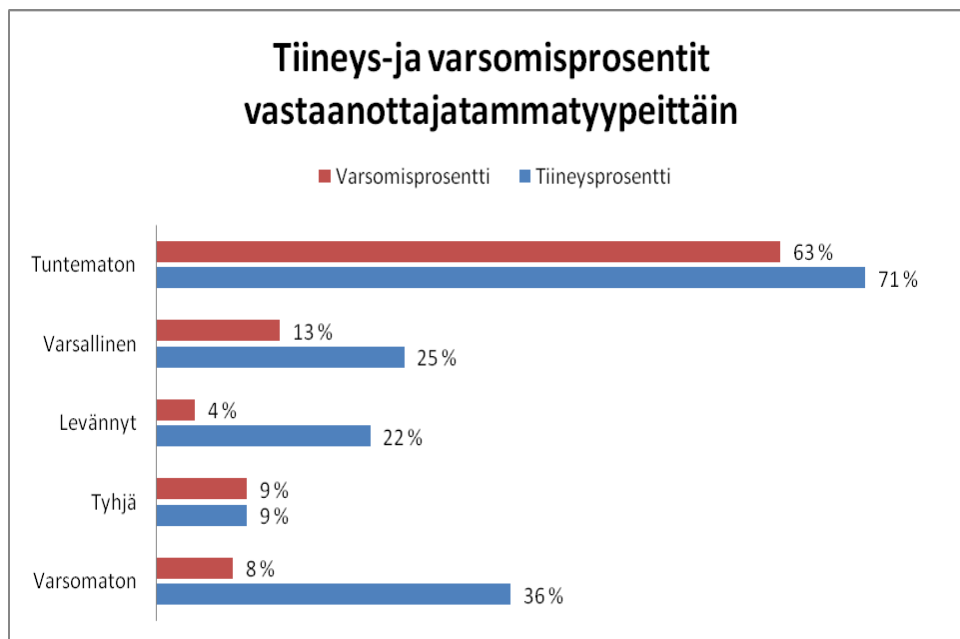
man lihavuusaste (Hautala 2006.) Nämä ongelmat saattavat estää tammaa tiinehtymästä ja vaikuttavat siten myös alkioden löytymiseen. Yleisimmin tyhjäksi jääneet tammot saattavat kuitenkin tiinehtyä, mutta alkio kuolee jo varhaisessa vaiheessa. Tämä ei taas ole este sille, että alkio ei voisi siirretynä jatkaa kasvua ja vastaanottajattamma tiinehtyä ja varsoa.

Luovuttajattammatyyppien mukaan alkionsiirtoja tutkittaessa korostui edellisenä kautena tyhjäksi jääneiltä tammoilta huuhdottujen alkioden huomattavasti korkeammat tiinehtymistulokset siirrettyinä. Ongelmatammojen käyttö alkionsiirrossa olisi siis näiden tutkimustulosten perusteella järkevää. Tammoja, jotka tiinehtyvät, mutta eivät jostain syystä pysty ylläpitämään alkion kasvua, pystyttäisiin ottamaan tehokkaampaan käyttöön alkionsiirron avulla. On kuitenkin erotettava tiinehtymisongelmaiset tammot tästä ryhmästä. Tamman tulisi helposti tiinehtyä, jotta alkionsiirtoprosessi olisi kannattavaa. Alkionsiirto ei ole vastaus kaikkien tammojen ongelmiin.

Vastaanottajattamman ominaisuudet ovat yksi ratkaisevimpia tekijöitä koko alkionsiirtoprosessissa. Vastaanottajina kannattaa suosia nuoria tammoja, mutta yksi tai kaksi kertaa varsooneet tammot ovat parempi vaihtoehto. Vastaanottajattamman tulisi olla hedelmällinen eikä sillä saisi olla mitään tiinehtymisongelmia sen paremmin rakenteellisella kuin hormonaalisellakaan tasolla. Tutkin alkionsiirtojen onnistumista myös vastaanottajattammojen mukaan (KUVA 6.) Myös vastaanottajattammojen kohdalla laskin tiinehtymis- ja varsomisprosentit kaikkien tammatyyppien mukaan (KUVA 7.)



KUVA 6 Alkionsiirtojen onnistuminen vastaanottajattamma tyypeittäin



KUVA 7 Tiineys- ja varsomisprosentit vastaanottajatammatyypeittäin

Vastaanottajatammoista 61 % oli varsomattomia, muut ryhmät jäivät melko pieniksi. Tuntemattomia vastaanottajatammoja oli paljon, varsinkin syntyneiden varsojen kohdalla, mikä nosti varsomisprosentin suureksi tämän ryhmän kohdalla. Hippoksen Heppa-tietokannasta ei pystynyt selvittämään alkiovarsan tietojen kautta vastaanottajatammaa, ainoastaan alkion luovuttajan. Levänneillä varsomisprosentti jäi muiden ryhmien alapuolelle, 51 siirrosta vain kaksi johti varsomiseen. Lepokauden ei uskota ainakaan parantavan tamma hedelmällisyyttä. Lepokauden jälkeen tamma ei ehkä ole ainakaan niin valmis vastaanottamaan alkioita kuin varsoneet tai varsomattomat tammot. Edellisenä kautena tyhjäksi jääneillä vastaanottajatammoilla tiinehtymistulokset olivat alhaisempia kuin muilla ryhmillä. On suuri todennäköisyys, että osalla tyhjäksi jääneillä tammoilla oli ongelmia alkion kasvun jatkamisessa.

9.2 Tulokset alkion laadun ja säilömisestä vaikutuksesta tiinehtyvyyteen

Tutkin myös alkion laadun vaikutusta tiinehtymiseen. Laadun tarkkailuun valitsin aineistostani vuodet 1994, 1996 ja 1998. Nämä vuodet valitsin, koska merkinnät näiltä vuosilta olivat tarkimmat (TAULUKKO 4.) Alkiot yleensä tutkitaan huuhtelun jälkeen ja luokitellaan laatunsa mukaan luokkiin 1-4. Luokka 1 on laadullisesti paras luokka ja luokka 4 huonoin.

TAULUKKO 4 Alkion laadun vaikuttaminen tiinehtymiseen

Laatu	Alkioita	Tiinehtyi	Tiineys%
1	102	24	24 %
2	40	13	33 %
3	7	1	14 %
4	1	0	0 %

Suurin osa otoksen alkioista olivat luokkaan 1 ja 2 kuuluvia. Laadullisesti luokkiin 1 ja 2 kuuluvien alkioiden tiinehtymistulokset olivat korkeammat

kuin luokkiin 3 ja 4 kuuluvien. Taulukossa 1 esiteltiin Squiresin tutkimuksen tuloksia alkion laadun vaikuttamisesta tiinehtymiseen. Näissä tuloksissa tiinehtymisprosentit laskivat tasaisesti luokasta 1 luokkaan 4.

Aineistosta tutkin lisäksi alkion säilytyksen vaikutusta tamman tiinehtyvyyteen. Pakastetuilla alkioilla tiinehtymisprosentiksi sain tutkimuksen mukaan 23 % ja tuoreilla alkioilla 44 %. Pakastetut alkiot olivat yhtä lukuunottamatta siirretty varsomomattomille tammoille. Aikaisemmissa tutkimuksissa on todettu, että pakastetuilla alkioilla ei saavuteta niin korkeita tiinehtymistuloksia kuin tuoreilla alkioilla. Alkion pakastaminen ja sulattaminen voi vaikuttaa alkion laatuun vaurioittamalla sitä ja näin vaikuttaa negatiivisesti myös tamman tiinehtymiseen.

9.3 Tulokset vuodenajan vaikutuksesta alkionsiirtoprosessiin

Vertailin myös huuhteluajankohdan vaikutusta alkioden löytymiseen (TAULUKKO 5) sekä siirtoajankohdan vaikutusta tiinehtymiseen (TAULUKKO 6.) Tuottaako tamma alkioita aktiivisemmin eri kuukausina ja onko vastaanottajattaman kohtu valmiimpi ja vastaanottavaisempi siirrettävälle alkioille eri kuukausina.

TAULUKKO 5 Alkioden huuhteluajankohdan vaikutus alkioden löytymiseen

	<i>Huuhtelut</i>	<i>Löytyneet alkiot</i>	<i>Löytymis%</i>
Maaliskuu	138	79	57 %
Huhtikuu	232	143	62 %
Toukokuu	139	82	59 %
Kesäkuu	90	46	51 %
Heinäkuu	34	12	35 %
Elokuu	53	19	36 %

Alkioden löytymisfrekvenssit olivat korkeimpia huhti- ja toukokuussa. Yleisen käsityksen mukaan nämä kuukaudet ovat potentiaalisimpia kuukausia astuttaa tai siementää tamma. Huhti- ja toukokuussa tehtiinkin eniten alkionhuuhteluja. Maaliskuussa alkioden löytyminen oli hieman vähäisempää kuin huhti- ja toukokuussa, mutta maaliskuussa tiinehtymistulokset ovat kuitenkin keskiarvoa huomattavasti korkeammat. Samoin heinäkuussa alkioden löytyminen on ollut keskimääräistä heikompi, mutta tiinehtymistulokset taas keskimääräistä paljon korkeammalla.

TAULUKKO 6 Siirtokuukauden vaikutus tiinehtymiseen

<i>Siirtokuukausi</i>	<i>Sirtojen määrä</i>	<i>Tiinehtyi</i>	<i>Tiineys%</i>
Maaliskuu	15	11	73 %
Huhtikuu	110	31	28 %
Toukokuu	67	22	33 %
Kesäkuu	34	13	38 %
Heinäkuu	16	14	88 %
Syyskuu	29	7	24 %

Maalis- ja heinäkuussa saavutettiin tutkimuksen mukaan parhaimmat tiinehtymistulokset. Luonnollisesti tamman lisääntymiskausi pohjoisella pallonpuoliskolla alkaa vasta huhtikuussa tai toukokuun alussa. Kun valon määrä keväällä kasvaa, alkaa tamma virittäytyä ensimmäisiin kiimoihin. Oletuksena kuitenkin pidetään, ettei tammaa kannata astuttaa kevään ensimmäisiin kiimoihin. Yksi syy siihen on tietysti liian aikainen ajankohta syntyvälle varsalle, mutta myös ensimmäisen kiiman heikompi tiinehtyvyys. Tamma kyllä tuottaa tällöin enemmän follikkeleja, mutta kiimat ovat usein pitkiä ja ovulatorisia, jolloin tamma ei tiinehdy niihin. Tammoilla on kuitenkin hyvin erilainen hormonitoiminta ja talvianestruksen kesto ja voimakkuus vaihtelevat hyvin paljon kuten myös kevään ensimmäisen kiiman ajankohta ja sen voimakkuus. En aineistoni pohjalta pysty kuitenkaan sanomaan, onko tammoilla käytetty hormonaalista hoitoa kiimojen aikaansaamiseksi. Useissa tutkimuksissa on todettu tiinehtymistulosten laskevan kauden loppua kohden mentäessä. Luovuttajatammojen kohdalla tämä tuntuisikin pitävän paikkansa, kun tarkastellaan löytyneitä alkioita. Heinäkuussa alkioita löytyi huomattavasti keskimäärästä vähemmän, mutta tiineystylokset taas olivat keskimääräistä korkeammat. Maalis- ja heinäkuun siirtojen määrä on kuitenkin muita kuukausia paljon alhaisempi, mikä vaikuttaa tulosten tarkkuuteen. Alkioiden löytymisfrekvenssin kohdalla luovuttajatammojen tiinehtymistä voidaan verrata suoraan normaaliin siemennykseen tai astutukseen, mutta siirron onnistumisessa on kyse nimenomaan vastaanottajattamman kyvystä hyväksyä alkio ja jatkaa sen kasvua.

10 TUTKIMUKSEN YHTEENVETO

Hevosten alkionsiirtotoiminta on Suomessa vähäistä. Alkionsiirtoa on tutkittu paljon ja ensimmäisiä siirtoja on tehty Suomessa jo 1980-luvulla. Silti alkionsiirto ei ole yleistynyt Suomessa, kuten esimerkiksi Yhdysvalloissa, missä alkionsiirto on yksi osa jalostusohjelmaa. Syitä siihen miksi alkionsiirtomenetelmä ei ole Suomessa yleistynyt, on menetelmän kalleus ja epävarmuus. Lisäksi alkionsiirtoja suoritetaan Suomessa ainoastaan kolmessa paikassa, tarjontakin on siis heikkoa. Suomessa on myös alkionsiirtosääntö. Säännön mukaan lämminveristen alkionsiirtomenetelmällä syntyneistä varsoista vain vuoden ensimmäinen varsa saa ravikilpailuoikeuden. Tämä voi olla myös yksi alkionsiirron suosiota vähentävä tekijä.

Aineistoni sisälsi 649 alkionhuuhtelua, joissa löytyi 382 alkioita. Löytyneistä alkioista siirrettiin 274 ei-kirurgista menetelmää käyttäen, näistä 99 johti tiinehtymiseen ja 39 varsomiseen. Tähän 39 varsaan lukeutuvat kaikki Suomessa vuoteen 2008 syntyneet alkiovarsat. Aineistoni oli Suomen mittapuun mukaan kuitenkin melko laaja ja sisälsi suurimman osan Suomessa suoritetuista alkionhuuhteluista ja –siirroista.

Alkionsiirtoprosessin onnistumista kuvaavat parhaiten tiinehtymis- ja varsomisprosentit, näihin vaikuttavat niin luovuttajattaman kuin vastaanottajattamankin hedelmällisyysominaisuudet. Aineistoni mukaan alkioiden löytymisfrekvenssiksi sain lukemia noin 50 % tienoilta, ja keskimääräiseksi tiinehtymisprosentiksi 36 %. Tämän luokkaiset tiinehtymistulokset eivät pysty kilpailemaan tavallisella astutuksella tai siemennyksellä saatavien tulosten kanssa. Jotta alkionsiirtotoiminta saataisiin yleistymään, tulisi tiinehtymistuloksien yltää korkeammalle. Alkionsiirtoprosessi koostuu useista osatekijöistä, niin välittömistä kuin välillisistäkin. Kaikki osatekijät tulisi ottaa huomioon, jotta voitaisiin päästä maksimaalisiin tuloksiin. Tutkimuksessa keskityin lähinnä tammakannan vaikutusten tutkimiseen, mutta tutkin pinnallisesti myös siirtoajankohdan, alkion laadun ja säilömistä vaikutusta tiinehtymiseen.

Aineistossani on selvästi suosittu varsomattomia tammoja niin luovuttajina kuin vastaanottajinakin. Nuoria tammoja tulisikin suosia sekä luovuttajina että vastaanottajina. Nuoremmilta tammoilta löytyy alkioita vanhempi tammoja helpommin. Vastaanottajiksi kannattaa valita nuoria tammoja, mutta mielellään yksi tai kaksi kertaa varsoneita.

Aluksi suhtauduin skeptisesti siihen, että alkionsiirrosta voisi olla apua ongelmatammoille. Mutta tutkimukseni mukaan edellisenä kautena tyhjäksi jääneiltä tammoilta löytyi kyllä vähemmän alkioita kuin muilta tammatyypiryhmiltä, mutta tiinehtymis- ja varsomisprosentit taas olivat muita ryhmiä korkeammalla. Tämä puhuisi sen puolesta, että suuremmalla osasta näistä tammoista on ollut ennemminkin ongelmia alkion kasvun ylläpitämisessä kuin tiinehtymisessä. Alkionsiirto voisi siis olla hyvinkin varteenotettava vaihtoehto tammoille, jotka tiinehtyvät, mutta eivät jostain syystä pysty ylläpitämään alkion kasvua. Ongelmatammat kannattaa kuitenkin aina tutkituttaa ja yrittää löytää syytä siihen miksi tamma jäi tyh-

jäksi. Edellisenä kautena tyhjäksi jääneitä tammoja ei tule kuitenkaan käyttää vastaanottajatammoina. Vastaanottajatamman tulee olla ehdottoman terve ja hedelmällinen, sillä ei tule olla mitään siirtoa hankaloittavaa rakenteellista virhettä, kohtutulehdusta tai kohdun rappeutumaa, eikä ongelmia hormonaalisella tasolla. Edellisenä kautena levänneet tammot eivät myöskään ole tutkimukseni perusteella potentiaalisin vaihtoehto vastaanottajiksi.

Aineistoni pohjalta näyttäisi siltä, että tamma tiinehtyy paremmin, jos siirrossa käytetään tuoretta alkioita, eikä pakastettua. Tämä on aikaisemmissakin tutkimuksissa todettu. Huomioitaessa pelkät tuoreilla alkioidella suoritetut alkionsiirrot tiinehtymisprosentiksi saadaan 44 %. Vastaavasti pakasteilla alkioidella lukemaksi saadaan 22 %.

Alkion laadulla ryhmien 1 ja 2 välillä ei näyttäisi olevan suurta eroa, tiinehtyvyytulokset ovat jopa paremmat ryhmässä 2. Erot tiinehtyvyyksissä tulevat esiin vasta ryhmien 3 ja 4 kohdalla. Aikaisemmissa tutkimuksissa on kuitenkin ollut tuloksia, joissa tulokset ovat tasaisesti madaltuneet ryhmästä 1 ryhmään 4 mentäessä. Todennäköisenä voidaan pitää ryhmien 1 ja 2 alkioidella tiinehtymisominaisuuksien olevan yhtä hyviä.

Tutkiessani alkioiden huuhteluajankohdan ja siirtoajankohdan vaikutusta tiinehtyvyyteen huomasin niiden välillä huomattavia eroja. Kyseessä on periaatteessa luovuttajatammojen kohdalla on tiinehtyminen ja vastaanottajatammojen kohdalla taas alkion kasvun jatkaminen ja sen ylläpitäminen. Alkioita löytyi eniten huhti- ja toukokuussa, kuitenkin tiinehtymistulokset ylsivät korkeimpiin tuloksiin maalisi- ja heinäkuussa. Tammot vaivuvat usein talvilepoon, eikä tammaa suositellakaan astutettavan tai siemennettävän heti kevään ensimmäiseen kiimaan, koska tällöin tiinehtyminen on usein heikompaa. Tämän aineiston mukaan kuitenkin maaliskuu näyttäisi olevan alkionsiirtoprosessille otollisinta aikaa. Tamman talvilepo on kuitenkin erittäin yksilöllistä, eivätkä kaikki tammot edes vaivu talvilepoon.

11 JOHTOPÄÄTÖKSET

Alkionsiirtoprosessi on monivaiheinen prosessi, joka sisältää monitahoisia osatekijöitä. Jotta alkionsiirrossa päästäisiin maksimaalisiin tuloksiin, tulee kaikki osatekijät ottaa huomioon. Tärkeimpiin osatekijöihin kuuluu tammojen valinta. Luovuttajattamman tulisi tiinehtyä helposti. Alkionsiirtoa voidaan kuitenkin hyödyntää ongelmatammoilla, jotka tiinehtyvät, mutta eivät jostain syystä pysty ylläpitämään alkion kasvua. Vastaanottajattamman tulee olla ehdottoman terve, hedelmällinen ja sen hormonaalisen toiminnan tulee olla normaalia. Muita tärkeitä osatekijöitä alkionsiirtoprosessissa on kiimojen synkronointiaste, sperman laatu ja käsittely, siirtomenetelmä, puhtaus sekä alkion ikä, koko, laatu ja säilöntä. Kaikki nämä osatekijät huomioon ottaen ja osaavaa henkilökuntaa käyttäen tulisi alkionsiirtoprosessissa ylittää korkeampiin tiinehtymistuloksiin. Lisäksi jos hevosten alkionsiirrossa keksittäisiin keino superovulaation tehokkaaseen aikaansaamiseen, kasvattaisi se huuhdeltujen alkioiden määrä ja näin myös nostaisi tiinehtymistuloksia. Superovulaation aikaansaaminen lisäisi varmasti myös alkionsiirron käyttöä yhtenä lisääntymismenetelmänä.

Tutkimukseni perusteella voin siis todeta, että luovuttajattammojen edellisen kauden tapahtumat vaikuttavat jonkinasteisesti alkioiden löytymiseen. Voin myös todeta tammojen edellisen kauden tapahtumilla olevan merkitystä tiinehtymiseen varsinkin vastaanottajattammojen kohdalla. Ajankohdalla, jolloin alkionhuuhtelu ja –siirto tehdään tuntuu myös olevan merkitystä. Tärkeimpänä asiana pidän sitä, että tutkimukseni ennen kaikkea vahvistaa sen, että vastaanottajattammojen tulee olla hedelmällisiä ja terveitä, jotta alkionsiirrossa ylletäisiin korkeampiin ja kannattavampiin tuloksiin.

Alkionsiirtoprosessia pidetään epävarmana ja kalliina lisääntymismenetelmänä. Prosessi vaatii tammojen hormonaalista hoitoa ja alkioiden löytymisen vaikuttaa heikolta. Kuitenkin jos kaikista edellä mainituista osatekijöistä pidetään huolta ja prosessin suorittaa osaava henkilökunta, olisi mahdollista ylittää maksimaalisiin tuloksiin. Ennen kaikkea tammojen valinnalla ja puhtaudella on merkitystä.

Skeptisyydestäni huolimatta, tutkimukseni vahvisti, että alkionsiirto voisi hyvinkin olla ratkaisu monen tamman ongelmiin. Alkionsiirron avulla hyviä tammoja saataisiin tehokkaampaan käyttöön jalostuksessa. Alkioita on mahdollista nykytekniikalla myös pakastettuna kuljettaa maasta toiseen, jolloin jalostusta saataisiin entisestäänkin tehostettua. Alkionsiirron avulla tammoja saataisiin jalostuksessa enemmän esille. Mielestäni perinteisesti on keskitytty liaksi oriin periyttäviin tekijöihin ja pidetty tammaa vähemmän tärkeänä periyttäjänä.

LÄHTEET

- Anttila, M. 1986. Tammojen alkionsiirto ei-kirurgista menetelmää käyttäen. Helsingin yliopisto.
- Blanchard, T, Vamer, D.D., Schumacher, J, Love, C.C., Brinsko, S.P., Rigby, S.L. 2002. Manual of Equine Reproduction. Mosby.
- Bowling, A.T. & Ruvinsky, A. 2000. The Genetics of the Horse. Cabi UK.
- Carnevale, E.M. 2006. Vitrification of Equine Embryos. Elsevier.
- Hagman, H. 2008 Hevosten lisääntymiseen vaikuttavat tekijät. Helsingin yliopisto.
- Hautala, K. 2006. Siitoskauden päätteeksi. Hippos Magazine nro 9.
- Hilden, R & Nikula, L. 1990. Hevosten alkionsiirto ja alkion kylmäsäilytys. Helsingin yliopisto.
- Knottenbelt, D.C., Le Blanc, M, Lopate, C, Pascoe, R.R. 2003. Equine Stud Farm Medicine and Surgery. Elsevier.
- Mortensen, C.J., Choi, Y.H., Hinrichs, K, Ing, N.H., Kraemer, D.C., Vogelsang, S.G., Vogelsang, M.M. 2008. Embryo Recovery from Exercised Mares. Elsevier.
- Mäenpää, M, Peltonen, T, Saastamoinen, M, Hyyppä, S & Välimäki, T. 2005. Hevoaines-tietopaketti. Pro-Paino Oy Hyvinkää.
- Samper, J.C., Pycoc, J.F., Mckinnon, A.O. 2006. Current Therapy in Equine Reproduction. Saunders.
- Squires, E.L., Carnevale, E.M., McCue, P.M., Bruemmer, J.E. 2003. Embryo Technologies in the Horse. Elsevier.
- Squires, E.L. & McCue, P.M. 2007. Superovulation in Mares. Elsevier.
- Squires, E.L., McCue, P.M., Vanderwall, D. 1999. The Current Status of Equine Embryo Transfer. Elsevier.
- Suomen Hippos. 2010a. Alkionsiirtosääntö.
http://www.hippos.fi/hippos/jalostus_ja_kasvatus/jalostusoriit/alkionsiirto_saanto.php Viitattu 1.1.2010
- Suomen Hippos. 2010b. Heppa-järjestelmä.
<http://heppa.hippos.fi/heppa/horse/HorseBasic.html> Viitattu 1.1.2010
- Wilsher, S & Allen, W.R. 2004. An Improved Method for Nonsurgical Embryo Transfer in the Mares. Equine Veterinary Education.

Väisänen, K. 1987. Alkionsiirto ongelmatammoilla. Helsingin yliopisto.

