



Från veterinären...

## Reproduktion och insemination

Av veterinär Ingunn Solberg Eriksson

### Inledning

Insemination innebär att sperma som samlats in från ett handjur, sedan deponeras i ett hondjur med befruktning som syfte. Det första dokumenterade fallet av artificiell insemination gjordes just på hund, av Spallanzani i Italien 1780 och resulterade i tre valpar. Den första kullen född efter insemination med frusen sperma hände dock först i 1969 (1).

1975 utvecklades en ny inseminationsteknik hos hund av veterinärer i Norge (2). Denna metod innebär att säden förs in i vagina helt fram till livmoderhalsen och genom denna, för att deponeras i själva livmodern. Metoden kallas transcervical intrauterin (trans=genom, cervix= livmoderhalsen, uterus=livmoder) och refereras i dag till som den norska eller skandinaviska metoden och används av veterinärer världen över.

### Brunstcykel

En tik anses köns mogen när hon har sitt första löp och äggstockarna börjat sin aktivitet. Detta händer med de flesta tikar i åldern 6 till 18 månader, men det är stor rasvariation (3). Efter puberteten löper en tik från en till tre gånger per år (4).

Endokrinologiskt (endokrinologi = läran om hormoner) delas hundens brunstcykel in i en follikelfas och en luteal fas. Follikelfasen dominerar av follikelväxt och består av proöstrus (förbrunst) och östrus (brunst). Luteal-fasen dominerar av hormonet progesteron. Varje cykel följs av en lång anöstrus där det finns liten eller ingen äggstocksaktivitet.

### Proöstrus

Denna fas dominerar av hormonet östrogen och räknas från dag 1 i löpet (första blödningsdag) till tiken låter sig paras. I genomsnitt varar denna fas i nio dagar, men här är det stor individuell variation (4). I den här perioden utsöndras hormonen LH (luteiniserande hormon) och FSH (follikel stimulerande hormon) från hjärnan och stimulerar till follikelväxt i äggstockarna. Follikel = en blåsa med ägg inuti. Folliklarna producerar östrogen och ger de typiska kliniska symtom på brunst, som svullen vulva och blodiga flytningar (4).

### Östrus

Östrus räknas som den period där tiken låter sig paras och varar i genomsnitt nio dagar (4), men också här är det stor individuell variation. I början ökas östrogenproduktionen, men sedan minskar den, medan produktionen av LH ökas. Denna förändring gör att follikelcellerna ändras från östrogenproducerande celler till progesteronproducerande celler. Något som är speciellt för hund är att produktionen av progesteron börjar redan innan ägglossningen och det kan användas till att bestämma tidspunkten för ägglossningen och därmed rätt parnings- eller inseminations tidspunkt. Se senare! Något annat som är speciellt för hund är att äggen inte är befruktningsbara vid ägglossning, utan de är omogna och behöver 48-60 timmar på att utvecklas till mogna, befruktningsbara äggceller (5). Av den anledning är det inte ägglossningsdagen som är den optimala parningstidpunkten hos hund, utan några dagar senare.

### Lutealfas

Lutealfasen dominerar av hormonet progesteron. Fasen startar när tiken inte längre låter sig paras och varar tills progesteronnivån i blodet har sjunkit till basalnivå, < 3 nmol/l (< 1 ng/ml) (3). Progesteronet stiger i hela första halvan av denna fas. Hos dräktiga tikar produceras det proges-

teron över basalnivå i ca 63 dagar efter ägglossning, medan det hos icke-dräktiga tikar produceras progesteron i ca 66 dagar efter ägglossning (5). Progesteron är ett helt nödvändig hormon för att upprätthålla en dräktighet, men produceras alltså också hos hund hos icke-dräktiga individer.

När progesteronnivån börjar sjunka i andra halvan av denna fas, ökar produktionen av prolaktin (3). Också prolaktin produceras hos icke-dräktiga tikar, om än inte i lika stor grad. Det medför att många tikar börjar producera mjölk och visar andra dräktighetsliknande symptom, även fast de inte är dräktiga. Det är ganska unikt att hormonproduktionen är så lik hos dräktiga och icke-dräktiga tikar.

### Anöstrus

Anöstrus är viloperioden mellan två löp, när äggstockarna är nästan helt inaktiva. Denna fas börjar när progesteronproduktionen är så låg att nivån i blodet är tillbaka på basalnivå och varar till nästa proöstrus (förbrunst) (4). Längden på denna fas varierar mycket, men i genomsnitt är den 5-12 månader lång (4). Mot slutet av denna period börjar det bli aktivitet av vissa hormoner i hjärnan och när denna aktivitet är stor nog medför det follikelväxt på äggstockarna och tiken börjar igen sin proöstrus (förbrunst).

### Brunstkontroll

I samband med brunstkontroll är det vanligt att dela hundens brunst in i proöstrus (förbrunst), östrus (brunst) och metöstrus (efterbrunst). De kliniska och hormonella olikheterna i dessa faser, samt olikheter på cellnivå används till att bestämma rätt inseminationstidspunkt.

### Kliniska tecken

#### Proöstrus (förbrunst)

- Vulva är svullen och hård
- Flytningarna består av friskt blod
- Tiken är lekfull, men står inte för hanhunden

#### Östrus (brunst)

- Vulva är mjuk och mindre svullen
- Flytningarna är ljusa och mindre i mängd
- Tiken viker svansen och står för hanhunden

#### Metöstrus (efterbrunst)

- Svullnaden i vulva är betydligt reducerad
- Flytningarna är mörka och luktar starkt
- Tiken står inte för hanhunden längre

### Vaginalutstryk

Förhöjd östrogenproduktion i proöstrus och östrus förändrar cellbilden i slidan och genom att ta ett prov från slidans slemhinna, kan man vid att kolla på vilka celler man ser i mikroskopet säga om tiken är i proöstrus (förbrunst), östrus (brunst) eller metöstrus (efterbrunst) (8). Man stryker en tops eller plaströr mot väggen i slidan och sedan stryker man topsen mot ett objektglas. Då överförs celler från slidan till objektglaset och man kan kolla på cellerna i ett mikroskop efter att man har färgat cellerna.

I proöstrus (förbrunsten) är det små runda celler med stor kärna, samt många röda blodceller pga. allt blod. I östrus (brunsten) blir slemhinnans celler större och så småningom blir de kärnfria. Det är också mycket mindre röda blodceller. I metöstrus (efterbrunsten) blir cellerna mindre igen med kärnor och då ser man också en del inflammationsceller, som är där för att städa upp (5).

### Progesteron

Den första ökningen av progesteron inträffar strax före eller samtidigt med LH-toppen, som är ungefär 2 dagar före ägglossning och progesteronet fortsätter att stiga till 25 dagar efter LH-toppen (9). Vid ägglossning är koncentrationen på ca 15-20 nmol/L (5-7 ng/ml) (10). Genom att undersöka koncentrationen av progesteron i blodet kan man säga ganska exakt när ägglossningen sker.

De kliniska tecknen, vilka celler man ser i ett vaginalutstryk, samt nivån av progesteron ger oss information som gör att vi kan bestämma vilken tid som är optimal för parning eller insemination.

### Parningstidpunkt och tidspunkt för insemination

Eftersom äggcellerna inte är mogna förrän 48-60 timmar efter ägglossningen, kan inte befruktning ske innan detta. Färska spermier kan dock överleva i flera dagar i tikens livmoder i väntan på att äggen mognar (11). Det innebär att parning flera dagar innan äggen har mognat kan leda till befruktning.

Fryst sperma överlever dock inte lika länge som färsk sperma, utan har en levnadstid på 12-24 timmar. Tidsintervallen där man skulle förvänta sig befruktning när man inseminerar med fryst sperma är därför mycket smalare än vid naturlig parning och insemination med färsk sperma. Den optimala tidspunkten för insemination

med fryst sperma är 2-3 dagar efter ägglossning.

## Insemination

Vid insemination görs ett sädtag från hanhund och sedan placeras säden manuellt i tikens vagina eller livmoder. Detta kan vara användbart i hundaveln för att öka den genetiska variationen inom en ras, genom att importera sperma från länder där avstånd eller karantänsbestämmelser gör det svårt att genomföra en naturlig parning. Det kan också vara ett alternativ i fall av skada, där naturlig parning inte är möjligt och det förhindrar dessutom spridning av könssjukdomar från tiken till hanen. Vid insemination används antingen färsk, kyld eller frysta sperma.

## Vaginal deponering

Vid vaginal insemination deponeras sperma längst in i tikens vagina. Det görs genom att en plastkateter sätts in i vagina och följer vaginans anatomi, först snett uppåt mot ryggen och sedan parallellt med ryggen helt till livmoderhalsen. Säden pressas genom plastkateter med hjälp av en spruta. Metoden är relativt enkel och ger goda resultat vid användning av färsk sperma (12), men betydligt sämre resultat med hjälp av fryst sperma (13).

## Intrauterin deponering

Vid intrauterin (intra=i, uterus=livmoder) deponering görs det samma som vid vaginal deponering, men plaströret förs genom livmoderhalsen och helt in i tikens livmoder, där säden deponeras.

## Den norska metoden

I Norge och Sverige görs intrauterin insemination med ett speciellt rör, ett kateter, benämnd det norska kateter. Tiken står på ett undersökningsbord. Veterinären känner på tikens mage efter livmoderhalsen och när han eller hon hittar den, hålls den fast den mellan veterinärens fingrar, så han eller hon kan känna att katetern kommer rätt. Katetern sätts in vaginalt, genom livmoderhalsen och in i livmodern, där säden deponeras.

I Norge och Sverige görs insemination på vakna tikar. Bara i undantagsfall, om tiken spänner magmusklarna så mycket att veterinären inte kan känna livmoderhalsen, ges lite lugnande. Då slappnar tiken av i musklerna och livmoderhalsen blir möjlig att känna.

I Finland har jag upplevt att insemination görs på liggande tikar. De får först en lugnande spruta, så de somnar. Sedan inseminerar veterinären dem medan de ligger, innan de får en uppvakningsspruta och efter några minuter kan resa sig och gå igen.

Den norska metoden kräver utbildning och träning, men genomförs den av en erfaren veterinär tar insemination oftast bara några minuter.

## Endoskop-assisterad insemination

I svåra fall, där tiken är mycket stor eller fet så det blir svårt att känna livmoderhalsen, går det inte att använda den norska metoden. Det är helt nödvändigt att fixera livmoderhalsen med handen för att kunde föra katetern genom den och in i livmodern. I dessa fall kan det vara aktuellt att använda endoskop, som är en slang med kamera på. Denna förs in i tikens vagina och med kameran lokaliseras man livmoderhalsen. Katetern förs då genom livmoderhalsen och in i livmodern, där säden deponeras. Endoskop-assisterad insemination kräver dyr utrustning om man sammanliknar med den norska metoden, men kan ge en bra bild av hur tikens könsvägar ser ut, vilket man inte får vid den norska metoden.

## Kirurgisk insemination

En tredje metod för att göra insemination i livmodern är att göra ett kirurgiskt ingrepp på tiken. Hundens läggs i narkos, buken öppnas med ett litet snitt, livmodern lyfts ut och säden sprutas in med en kanyl som sticks genom livmoder väggen och in i livmodern. Nackdelarna med denna metod är uppenbara. Både narkos och öppning av buken medför en risk och belastning för tiken om man sammanliknar med den norska metoden, som är insemination på vaken tik. I Norge såväl som i Sverige är det förbjudet att göra kirurgisk insemination av hund.



## Referenser

1. Saeger SWJ. Successful Pregnancies Utilizing Frozen Dog Semen. *AI Digest*. 1969;17(12):6, 16.
2. Andersen K. Insemination with frozen dog semen based on a new insemination technique. *Zuchthygiene*. 1975 Mar;10(1):1-4.
3. Rijnberk A, Kooistra HS, editors. *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats*. Second ed. Germany: Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH; 2010.
4. Concannon PW. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim Reprod Sci*. 2011 Apr;124(3-4):200-10.
5. England GC, von Heimendahl A, editors. *BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology*. 2nd ed. British Small Animal Veterinary Association; 2010.
6. Tani H, Inaba T, Nonami M, Matsuyama S, Takamori Y, Torii R, et al. Increased LH pulse frequency and estrogen secretion associated with termination of anestrus followed by enhancement of uterine estrogen receptor gene expression in the beagle bitch. *Theriogenology*. 1999 Sep;52(4):593-607.
7. van Haften B, Bevers MM, van de Brom WE, Okkens AC, van Sluijs F.J., Willemse AH, et al. Increasing sensitivity of the pituitary to GnRH from early to late anoestrus in the beagle bitch.
8. Feldman EC, Nelson RW, editors. *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Third ed. USA: Saunders; 2004.
9. Concannon P, Hansel W, McEntee K. Changes in LH, progesterone and sexual behavior associated with preovulatory luteinization in the bitch. *Biol Reprod*. 1977 Nov;17(4):604-13.
10. Concannon PW, Hansel W, Visek WJ. The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. *Biol Reprod*. 1975 Aug;13(1):112-21.
11. Doak RL, Hall A, Dale HE. Longevity of spermatozoa in the reproductive tract of the bitch. *J Reprod Fertil*. 1967 Feb;13(1):51-8.
12. Nizanski W. Intravaginal insemination of bitches with fresh and frozen-thawed semen with addition of prostatic fluid: use of an infusion pipette and the Osiris catheter. *Theriogenology*. 2006 Jul 15;66(2):470-83.
13. Thomassen R, Sanson G, Krogenaes A, Fougner JA, Berg KA, Farstad W. Artificial insemination with frozen semen in dogs: a retrospective study of 10 years using a non-surgical approach. *Theriogenology*. 2006 Oct;66(6-7):1645-50.