
GRAVIDITA KLISNY 1. MĚSÍC

01

ČASOVÉ ROZMEZÍ

0.-30. den

VELIKOST

do 2 cm

PODOBA A TVAR

kulička hrášku

VÁHA

zanedbatelná

ÚVOD

Po oplození vajíčka dochází k postupnému dělení a diferenciaci buněk konceptu s následnou organogenezí. Z důvodu relativně častého výskytu dvojčat je u klisen důležité provádět transrektální ultrasonografickou diagnostiku gravidity okolo 16. dne.

DŮLEŽITÉ MILNÍKY TOHOTO MĚSÍCE

0. den

- ovulace a fertilizace

5.–6. den

- sestup moruly/blastocysty do dělohy

16.–17. den

- fixace embrya při bázi jednoho z děložních rohů
- USG diagnostika gravidity a vyloučení přítomnosti dvojčat

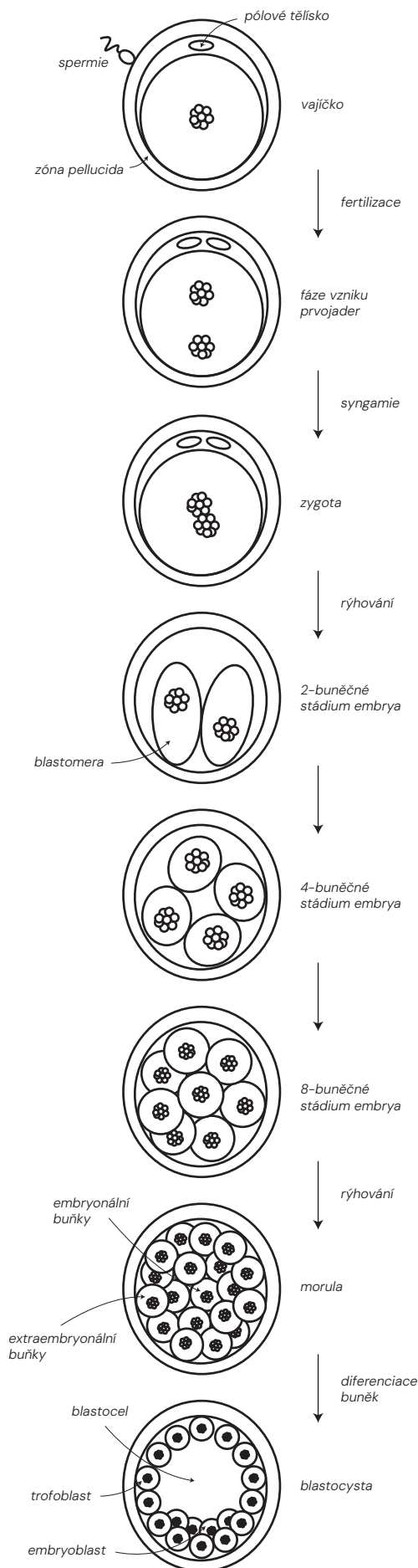
24.–25. den

- rozpoznání srdeční činnosti embrya

EMBRYO

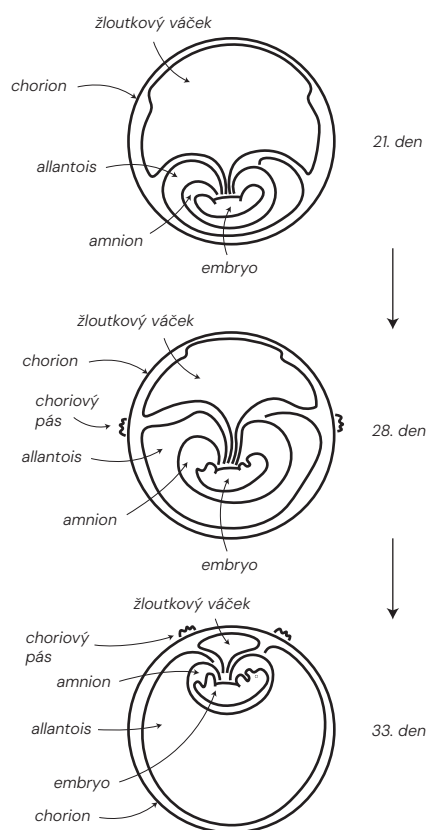
- Značná část rané fáze vývoje embrya probíhá již ve vejcovodu. Po oplození vajíčka spermií se vytváří syngamií prvojader jednobuněčná **zygota** s diploidním počtem chromozomů. Ta je dále posouvána chemotaxí, pohybem řasinkového epitelu a kontrakcemi hladké svaloviny vejcovodu z ampuly směrem k děloze. Rýhováním zygoty během sestupu vznikají jednotlivé buňky neboli blastomery, jež se symetricky dělí za tvorby mnohobuněčného kompaktního celku zvaného **morula**. V tomto stádiu vývoje se buňky pomalu začínají diferencovat na extraembryonální (periferní) a embryonální (centrální). Dalším expanzivním dělením buněk moruly vzniká sférická **blastocysta** s dutinou, kterou lze histologicky rozdělit na embryoblast, trofoblast a blastocoel.

Obrázek č. 1: Preimplentační vývoj embrya



- Koňské embryo, na rozdíl od neoplozeného oocyty, produkuje prostaglandiny, které způsobují relaxaci uterutubárního spojení. Tímto dějem je umožněn průchod zárodku ve formě moruly nebo rané blastocysty do lumen dělohy okolo 5.–6. dne po oplození. Téměř ihned se kolem zárodku vytvoří acelulární vrstva nazývaná **blastocystická kapsule**, jež pomáhá konceptu udržet sférický tvar, zároveň jej chrání při intrauterinní migraci a podílí se na maternálním rozpoznání gravidity. Dutina blastocysty se nadále zvětšuje a současně s tím dochází k **vyklubání blastocysty ze zona pellucida**, která zárodek do až do této doby obklopovala.
- V dalším stádiu vývoje, označovaném jako **gastrulace**, se buňky nadále dělí a začínají organizovat do tří zárodečných listů – **endoderm, mezoderm a ektoderm**. **Žlutkový váček** je dokončen 8. den gravidity.
- Blastocysta se volně pohybuje po celém děložním lumen až do 16.–17. dne, kdy se tonizací myometria zachytí při bázi jednoho z děložních rohů. Na fixaci embrya má podíl i jeho zvětšující se velikost. Při správné **nidaci** by mělo být embryo uloženo na ventrální straně zárodečného váčku, což je důležité při hodnocení fyziologické gravidity. V tuto dobu se růst konceptu zpomaluje, vyvíjí se první plodový obal neboli **amnion** a mizí blastocystická kapsule. Po fixaci a navázání kontaktu zárodku s endometriem neboli **implacentaci** dojde zanedlouho procesem **placentace** ke tvorbě samotné placenty.
- Zhruba od 18.–19. dne začíná zárodek ztrácet svůj sférický tvar. Dochází k výraznému rozvoji oběhového systému, organogenezi a začíná být patrná i struktura budoucího těla embrya. Paralelně s výše zmíněnými ději probíhá i tvorba zbývajících dvou plodových obalů. **Chorion** se zatím jen volně přikládá svým epitelem ke sliznici endometria a vychlípěním prvostřeva se vyvíjí **allantois**. Právě v důsledku postupného zvětšování allantoidového vaku se začíná nadzvedávat embryo ode dna zárodečného váčku směrem dorzálně, což lze velmi dobře pozorovat při transrektálním ultrasonografickém vyšetření.
- V průběhu krátké iniciální fáze gravidity je zárodek vyživován z **deutoplasmatických rezerv** vajíčka a **žlutkového váčku**. Po sestupu do lumen dělohy přebírá hlavní zodpovědnost za vyživování embrya produkt děložních žláz neboli **děložní mléko**. Tato fáze se nazývá **histiotrofé** a trvá do období implacentace, kdy už se začíná pomalu utvářet placenta.

Obrázek č. 2: Vývoj plodových obalů a lokalizace embrya v zárodečném váčku



KLISNA

- Mimo to, že nepřichází říje v očekávaném termínu, se na klisně neprojevují žádné zjevné zevní příznaky gravidity.
- Po ovulaci dominantního folikulu vzniká na ovariu žluté tělísko. V případě březosti nedochází k jeho luteolýze a návratu do estrální fáze cyklu, protože signály migrujícího zárodku brání endometriu v produkci PGF2 α . I když přesný mechanismus maternálního rozpoznání gravidity u klisny není zcela objasněn, předpokládá se, že intrauterinní migrace konceptu v něm pravděpodobně hraje jednu z klíčových rolí.

HORMONÁLNÍ PROFIL

Po ovulaci Gráfova folikulu se na ovariu vytváří žluté tělísko, které zajišťuje sekreci **progesteronu** a udržení gravidity až do vzniku přídatných žlutých tělísek, respektive zhruba do 35.dne.

Embryonální estrogény jsou ve vyšší míře produkovány zárodkem již od 10.–12. dne, v současnosti jsou však jejich funkce a vliv na udržení gravidity stále diskutovány. Pravděpodobně mohou za tonizaci dělohy při fixaci migrujícího zárodku, dále se předpokládá i jejich stěžejní význam v placentární angiogenezi a dalších procesech v průběhu celé březosti klisny.

DIAGNOSTICKÉ METODY

CHOVATELSKÁ METODA

Jednoduchou, avšak málo spolehlivou, metodou diagnostiky gravidity je detekce následující říje po připuštění klisny. Pokud se příznaky estru neobjeví do 17–21 dní po ovulaci, je pravděpodobné, že bude klisna březí. Tento stav však může imitovat tichá říje, raná embryonální mortalita, perzistentní žluté tělísko či ukončení předchozí říje bez ovulace.

VAGINÁLNÍ VYŠETŘENÍ

Vaginoskopie a vaginální palpace nepatří ke zcela spolehlivým metodám určování gravidity u klisny. Nálezem je bledá sliznice s pevně uzavřenými stydkými pysky a protaženým krčkem, což ale nemusí být vždy zcela jednoznačné.

REKTÁLNÍ PALPACE

V průběhu tohoto vyšetření je zejména v rané fázi gravidity zapotřebí zkušeného examinatora, avšak ani prostřednictvím této metody nelze odhalit přítomnost dvojčat nebo forem patologické gravidity.

16.–19. den

- palpace zvýšeného tonu dělohy, bez možnosti lokalizace nidovaného zárodku

20.–21. den

- po důkladné palpaci lze nahmatat mírné ventrální zvětšení v oblasti uložení zárodečného váčku, tedy na oběžném děložním rohu v blízkosti bifurkace

30. den

- palpovatelné zvětšení velikosti pomeranče nebo grepu

STANOVENÍ PROGESTERONU

Hladinu progesteronu lze stanovit v krvi nebo mléce okolo 20. dne po ovulaci, tedy v dobu, kdy by u nebřezích klisnů měla proběhnout další říje. Při

pretrvávajícím funkčním žlutém tělísku jsou hodnoty větší než 2 ng/ml, většinou 4–10 ng/ml. Nevýhodou této laboratorní metody diagnostiky gravidity je, že zvýšená koncentrace progesteronu může být zachycena i při opožděné ovulaci, perzistentním žlutém tělísku či embryonální mortalitě. Průkaz vyšších hodnot tedy vůbec nemusí souviset s březostí a z tohoto důvodu není stanovení progesteronu rutinně v reprodukci koní využíváno. Navíc koncentrace progesteronu kolísá i během dne, což diagnostiku ještě více ztěžuje.

TRANSREKTÁLNÍ ULTRASONOGRAFIE

Použití transrektální lineární ultrazukové sondy je v současnosti celosvětově nejvíce využívaný způsob pro diagnostiku rané gravidity u klisnů.

8.–9. den

- embryonální váček má podobu anechogenního oválného útvaru o velikosti kolem 0,2 cm v průměru, běžně se toto zobrazení nevyužívá

14.–15. den

- nejčasnější diagnostika gravidity zachycuje přibližně 15 mm kulovitý embryonální váček, který má dorzálně a ventrálně hyperechogenní zrcadlová echa

16.–17. den

- zárodek má sférický tvar, zrcadlová echa ventrálně a dorzálně, vyšetření v tomto termínu je důležité pro vyloučení přítomnosti dvojčat

18.–19. den

- ztráta sférického tvaru, nepravidelný trojúhelníkovitý tvar zárodku

20.–22. den

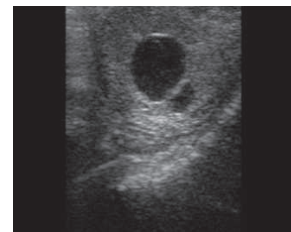
- na ventrální straně zárodečného váčku se objevuje hyperechogenní embryo, které je postupně nadzvedáváno ode dna zvětšujícím se alantoidním vakem

24.–25. den

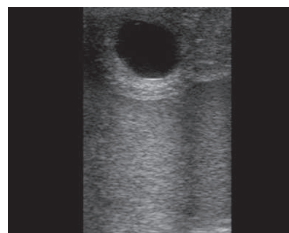
- rozpoznání srdeční činnosti embrya



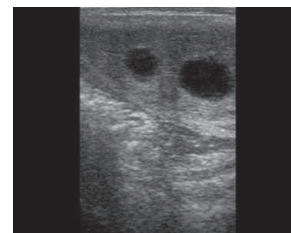
Raná diagnostika gravidity 13. den gestace



Raná diagnostika gravidity vedle endometriální cisty 15. den gestace



Raná diagnostika gravidity 17. den gestace



Raná diagnostika gravidity dvojčat 16. den gestace

RIZIKA A MOŽNÉ PATOLOGIE

V období před 40. dnem gravidity může dojít k časné embryonální mortalitě. Tento problém je pravděpodobně multifaktoriální a podílí se na něm faktory vnějšího i vnitřního prostředí. Ovlivnit březost může například stres matky, změny v krmném managementu, nedostatečná výživa či nešetrná rektální palpace při diagnostice gravidity. Mezi vnitřní faktory zániku embrya lze zařadit hormonální deficienci a nedostatečnou sekreci progesteronu, pokročilý věk klisny, akutní endometritidu, periglandulární fibrózu, přítomnost laktace nebo nedostatečnou involuci dělohy po porodu při připouštění na první poporodní říji. Ke zvýšené mortalitě mohou přispívat také genetické a embryonální abnormality ze strany zárodka. Odumřelé embryo je většinou resorbováno a majitel klisny ani nemusí přerušeni gravidity zaznamenat.

Výskyt dvojčat je u koní relativně častý, stejně tak jako vysoká pravděpodobnost jejich časné embryonální mortality, nebo následného abortu či dystokie v pozdějších fázích vývoje. Z tohoto důvodu je raná ultrasonografická diagnostika gravidity klisen velmi důležitým vyšetřením v managementu chovu a umožňuje dostatek času na eliminaci jednoho ze zárodků nebo na zrušení celé gravidity.

ZDROJE

- A. Trundell, D. (2023). Equine Pregnancy Endocrinology. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.1001467
- Doležel, R., Lopatářová, M., Sedlinská, M., Mráčková, M., Čech, S., Vitásek, R., & Bartošková, A. (2018). *Veterinární porodnictví* (2. přepracované vydání). Veterinární a farmaceutická univerzita Brno.
- Haneda, S., Dini, P., Esteller-Vico, A., Scoggin, K. E., Squires, E. L., Troedsson, M. H., Daels, P., Nambo, Y., & Ball, B. A. (2021). Estrogens Regulate Placental Angiogenesis in Horses. *International journal of molecular sciences*, 22(22), 12116. <https://doi.org/10.3390/ijms222212116>
- Kelleman, A. A., & Act, D. (2013, December). Equine pregnancy and clinical applied physiology. In *Proceedings of the 59th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)* (pp. 7-11).

- McCue, P. M., & Squires, E. L. (2015). *Equine embryo transfer*. CRC Press.
- McKinnon, A. O., Squires, E. L., Vaala, W. E., & Varner, D. D. (Eds.). (2011). *Equine reproduction*. John Wiley & Sons.
- Pycock, J. F. (©2023). *Early Embryonic Death*. Equine-Reproduction. Retrieved October 15, 2023, from <https://equine-reproduction.com/articles/mares/eed>
- Shen, Y., Ren, H., Davshilt, T., Tian, S., Wang, X., Yi, M., ... & Bou, G. (2022). The transcriptome landscapes of allantochorion and vitelline-chorion in equine day 30 conceptus. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 958205.
- *The Pregnancy Wheel*. (© 2023). University of Guelph. Retrieved October 11, 2023, from <https://www.equineguelph.ca/pregnancywheel/>