

## **Zelluläre und molekulare Abweichungen in in vitro produzierten bovinen Embryonen:**

### **Besteht ein Zusammenhang zum "Large Offspring Syndrome (LOS)" ?**

**C. Wrenzycki<sup>1</sup>, G. Lazzari<sup>2</sup>, D. Herrmann<sup>1</sup>, R. Duchi<sup>2</sup>, T. Kruij<sup>3</sup>, C. Galli<sup>2</sup>, und H. Niemann<sup>1</sup>**

- 1. Forschungsbereich Biotechnologie, Institut für Tierzucht und Tierverhalten (FAL), Mariensee, Neustadt, Germany*
- 2. Laboratorio di Tecnologia della Riproduzione, Cremona, Italy*
- 3. Dept. Reproduction, Institute for Animal Science and Health, Lelystad, The Netherlands*

Das "Large Offspring Syndrome (LOS)", das nach Transfer in vitro produzierter oder geklonter Embryonen bei den Nachkommen auftritt, ist durch eine Vielzahl pathologischer Veränderungen, wie z.B. ein erhöhtes Geburtsgewicht und eine verlängerte Trächtigkeitsdauer, gekennzeichnet.

Ziel dieser Untersuchung war es, zelluläre und molekulare Abweichungen in in vitro produzierten Embryonen im Vergleich zu in vivo gewonnenen zu ermitteln. Auf zellulärer Ebene erfolgte die Bestimmung der Zellzahl der Embryonen an Tag 7 sowie deren Größe an Tag 12. Als molekulare Parameter wurden die relative Häufigkeiten verschiedener entwicklungsrelevanter Gentranskripte in einzelnen Blastozysten untersucht (Wrenzycki et al., 1999; *Mol. Reprod. Dev.* 53:8-18), die während der frühen Embryonalentwicklung eine wichtige Rolle spielen.

Die In vitro-Produktion der untersuchten Blastozysten erfolgte nach einem Standardprotokoll (Galli et al., 2001; *Theriogenology* 55:1341-1357); wobei das Kulturmedium (Synthetic Oviduct Fluid, SOF) entweder mit bovinem Serumalbumin (BSA) oder humanem Serum (HS) supplementiert war. Als Untersuchungsmaterial dienten weiterhin in vitro gereifte und befruchtete Eizellen, die für 7 Tage im ligierten Schafeileiter bis zur Blastozyste kultiviert wurden (In vivo-Kultur) sowie in vivo erzeugte Blastozysten, die von superovulierten Spendertieren gewonnen worden waren (Superovulation; Wrenzycki et al., 1996; *J Reprod. Fert.* 108:17-24). Die Ergebnisse, die mit den Embryonen erzielt wurden, wurden in Relation zu einer repräsentativen Anzahl an Kälbern aus dem jeweiligen Produktionssystem und zu Kälbern aus künstlicher Besamung gesetzt.

**Die In vitro-Kultur der Embryonen in HS- oder BSA-haltigem Medium**

**erhöhte die Zellzahl der Embryonen an Tag 7, deren Größe an Tag 12 sowie die relative Häufigkeit der Hsp-, SOD-, Glut-3-, Glut-4-, bFGF- und IGF1-R-Transkripte signifikant im Vergleich zu Embryonen, die in vivo kultiviert (ligierter Schafeileiter) oder in vivo erzeugt (Superovulation) wurden. Die Geburtsgewichte der Kälber, die aus in vitro produzierten Embryonen entstammten, waren im Vergleich zu denen aus In vivo-Kultur, nach Superovulation oder nach künstlicher Besamung signifikant erhöht.**

**Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese, daß persistierende Abweichungen auf zellulärer und molekularer Ebene, die bereits während der frühen embryonalen Entwicklung nachzuweisen sind, ursächlich am Auftreten des LOS, insbesondere am erhöhten Geburtsgewicht, beteiligt sein können. Die untersuchten zellulären und molekularen Parameter dieser Studie können somit als frühe Marker für das LOS beim Rind in Betracht gezogen werden.**

**\* Gefördert durch die Europäische Union (EU FAIR-CT98-4339 – Embryonic origin of health and welfare)**