

› Veterinair

KI, ET, OPU en ICSI wat is dat eigenlijk?

Moderne voortplantingstechnieken worden in de paardenfokkerij steeds belangrijker omdat deze technieken veel voordelen bieden in vergelijking met de traditionele voortplantingstechnieken. Nu KI (Kunstmatige Inseminatie) met vers of met diepvriessperma standaard is in de warmbloedfokkerij in Nederland en ET (Embryo Transplantatie) ook al veel wordt toegepast, wordt er de laatste vijf jaar meer en meer gebruik gemaakt van OPU (Ovum Pick Up) en ICSI (IntraCytoplasmatische Sperma Injectie).

Tekst: ANTHONY CLAES EN MARIANNE SLOET — Beeld: FACULTEIT DIERGENEESKUNDE, UTRECHT

Kunstmatige inseminatie heeft waarschijnlijk nauwelijks meer toelichting. De hengst dekt op een fantoom (kunstmerrie, doorgaans van ijzer en leer) en zo nodig wordt daar een bokmerrie voor of naast gezet om de libido van de hengst te vergroten. Een bokmerrie is een merrie zonder eierstokken die door middel van een hormooninjectie hengstig is gemaakt. Ook kan een fantoom hoger of lager gezet worden, zodat de hengst er makkelijker op wil springen. Tijdens het springen wordt de uitgeschachte penis van de hengst in een kunstschede (kunstvagina) geleid, die aan het eind een opvangflesje voor het sperma heeft. Het opgevangen sperma wordt vervolgens gefiltreerd en daarna kunnen het volume en de concentratie (aantal zaadcellen per milliliter) worden bepaald. Vervolgens wordt het sperma verdund met een spermaverdunner, zodat de beweeglijkheid van het sperma onder een microscoop beoordeeld kan worden. Daarna wordt het zaadplasma gescheiden van de zaadcellen door middel van centrifugeren. Uiteindelijk wordt het sperma opnieuw verdund en verdeeld over plastic buisjes voor vers sperma of over rietjes voor diepvriessperma. Sommige hengsten kunnen het dekken op het fantoom en het werk in de sport goed scheidend, terwijl andere hengsten dit moeilijker kunnen waardoor ze lastiger zijn om te gebruiken in de sport.

ET

Embryotransplantatie maakt het mogelijk om meerdere veulens van een merrie per jaar te krijgen en daarnaast kan de merrie ook nog actief deelnemen aan wedstrijden. Sommige merries kunnen beide 'taken' goed combineren, terwijl andere merries na het spoelen van de embryo's toch lastiger zijn om te rijden of gewoon minder fit zijn. De donormerrie (merrie die de embryo's levert) moet intensief worden begeleid en zij wordt vaak hengstig gespoten wat wel eens als nadelig wordt ervaren door de ruiter. Indien de donormerrie hengstig is, wordt ze geïnsemineerd met vers of met diepvriessperma en ongeveer 7 tot 8 dagen na de eisprong wordt de baarmoeder gespoeld om het embryo te verkrijgen.

Als er is geïnsemineerd met vers sperma zijn de resultaten duidelijk beter dan wanneer er wordt geïnsemineerd met diepvriessperma. Verder zijn de resultaten duidelijk minder bij oudere merries, aangezien de vruchtbaarheid van een merrie doorgaans afneemt na 15-16 jaar. Indien een embryo door middel van spoelen is verkregen, moet dit embryo getransplanteerd worden in een ontvangstermerrie (draagmerrie). Voor het succes van een embryotransplantatie is het heel belangrijk dat de cyclus van de donormerrie die het embryo levert min of meer gelijk loopt met de cyclus van de ontvangstermerrie. ET is het meest succesvol als de draagmerrie net iets 'achterloopt' qua moment in de cyclus ten opzichte van de donormerrie.

Gezien het feit dat een draagmerrie duidelijk bijdraagt aan de ontwikkeling en groei van het veulen, moet de draagmerrie een gezonde merrie zijn met voldoende stokmaat en het liefst een makkelijk karakter, zodat zij het veulen ook 'goed' opvoedt. De draagmerrie moet ook goed gevaccineerd zijn om het veulen na de geboorte voldoende antistoffen te kunnen meegeven. De kans op dracht na transplantatie hangt natuurlijk af van de kwaliteit van het embryo, maar ook van de ervaring van de dierenarts die het embryo overzet in de draagmerrie. Verder spelen natuurlijk de synchronisatie ('gelijk lopen in cyclus') en reproductieve gezondheid van de draagmerrie een belangrijke rol.

OPU en ICSI

In vitro (d.w.z. in het laboratorium) productie van embryo's door middel van OPU/ICSI is de meest nieuwe voortplantingstechniek. Deze verschilt duidelijk van alle andere technieken aangezien de bevruchting plaatsvindt in het laboratorium. Momenteel is deze techniek heel populair bij fokkers, omdat het een aantal voordelen heeft. Zo kunnen er nog veulens 'gemaakt worden' van merries die niet meer drachtig kunnen worden (ten gevolge van afwijkingen aan de eileider, baarmoeder of baarmoedermond) of geen embryo's meer leveren bij een embryospoeling. Zowel fokkers als dierenartsen weten hoe frustrerend het kan zijn om merries te begeleiden die voortdurend vocht in de baarmoeder hebben of die keer op keer niet drachtig worden. Tevens kan OPU/ICSI het hele jaar door worden uitgevoerd zolang er maar voldoende follikels (onrijpe eicellen) aanwezig zijn op de eierstokken. Embryo's die met OPU/ICSI worden geproduceerd verdragen het invriesproces veel beter dan gespoelde embryo's. Dit heeft dan weer als voordeel dat draagmerries efficiënter gebruikt kunnen worden. Vaak worden de draagmerries zelf door de eigenaar aangeschaft wat financieel voordeliger is, omdat de huur van een draagmerrie natuurlijk wel



Diverse maten kunstschedes.

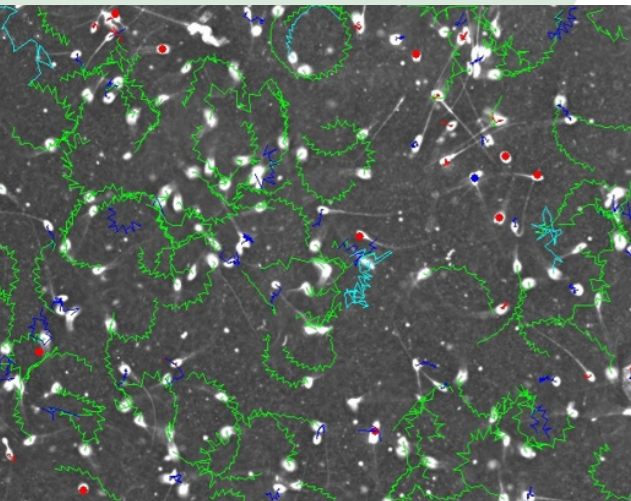
wat extra kosten met zich meebrengt. Tenslotte kan zeldzaam (hengst die niet meer leeft) of duur diepvriessperma zeer efficiënt worden gebruikt, omdat er maar een kleine hoeveelheid sperma nodig is voor de bevruchting van de eicellen. Tevens kan sperma van slechte kwaliteit of met slecht bevruchtend vermogen met succes worden gebruikt bij ICSI. Het hele proces van de productie van embryo's in het laboratorium (in vitro) omvat verschillende stappen, waaronder het verzamelen van eicellen uit de eierstokken van een donormerrie (OPU), het rijpen van de verkregen eicellen, het injecteren van één eicel met één spermacel (ICSI) en het kweken van embryo's tot een zeker ontwikkelingsstadium (blastocyste) waarin ze kunnen worden ingevroren of kunnen worden getransplanteerd in een draagmerrie. Hoewel dit allemaal vrij eenvoudig klinkt, is het algemeen bekend dat dit hele proces een grote hoeveelheid specialistische expertise vereist om succesvol te zijn.

OPU bij de levende merrie

Ovum pick up is een techniek waarbij de follikels op de eierstokken van een donormerrie worden aangeprikt en gespoeld om eicellen te verkrijgen. Het is belangrijk dat de eierstokken van een donormerrie tevoren worden gescand (met de echo worden bekeken) om te bepalen of er wel voldoende follikels aanwezig zijn, omdat het eindresultaat (het al dan niet verkrijgen van embryo's) wordt beïnvloed door

Hengst dekt op het fantoom in de kunstschede.





Controleren van de spermabewegelijkheid met gebruik van een computer geassisteerde spermacel beweging analyzer. Normaal bewegende zaadcellen zijn weergegeven door een groene bewegingscurve.



Rietjes met sperma staan klaar om te worden ingevroren.

het aantal gewonnen eicellen bij de OPU. Het wordt aangeraden de procedure alleen uit te voeren als er in totaal tenminste 15 follikels aanwezig zijn groter dan 1 centimeter. Bij oudere merries komt het wel eens voor dat de OPU procedure uitgevoerd wordt bij een kleiner aantal follikels, omdat het aantal follikels bij oudere merries vaak wel wat lager is. Bij het begin van de procedure wordt een echosonde met een biopsiekanaal in de vagina gebracht en vervolgens wordt de eierstok vanuit de endeldarm met de hand vastgepakt en naar de echosonde toe gebracht. Wanneer de follikel zichtbaar is op het echoapparaat, wordt een lange naald via het biopsiekanaal van de echosonde ingebracht. Vervolgens gaat de naald door de vaginawand via de buikholtte in de follikel. Zodra de follikel wordt aangeprikt, zal het vocht in de follikel met de eicel worden opgezogen en wordt de follikel ongeveer 8 keer gespoeld. Dit hele proces zal bij elke follikel die aanwezig is op de eierstokken worden herhaald. Het vocht uit de follikel en de spoelvloeistof wordt vervolgens onderzocht op de aanwezigheid van eicellen met behulp van een microscoop. Nadat de eicellen zijn gevonden, worden deze zorgvuldig 'schoongespoeld' onder de microscoop. Vervolgens worden deze 'schone' eicellen in een speciale vloeistof naar een gespecialiseerd laboratorium gebracht. Incidenteel kan er tijdens of na een OPU sessie bij de donormerrie een complicatie optreden: koliek, een bloeding, een buikvliesontsteking en/of een scheur van het rectum wat in het slechtste geval kan gepaard gaan met het verlies van de merrie. Om complicaties te voorkomen moet de donormerrie voor een OPU sessie in een opvoelbox staan, goed gesedeerd worden (sloom maken), een pijnstiller en een darmverlapper krijgen en zo nodig antibiotica.

OPU bij de overleden merrie

Als een merrie in het verleden plotseling overleed had een fokker geen mogelijkheden om nog nakomelingen van deze merrie te krijgen. De productie van paardenembryo's in het laboratorium heeft hier verandering in gebracht. Eicellen kunnen worden verzameld uit de eierstokken van een merrie die plotseling is gestorven of die plotseling geëuthanaseerd moet worden als gevolg van een botbreuk, koliek en dergelijke. De eierstokken moeten door een dierenarts zo snel mogelijk uit de overleden merrie worden gehaald en langzaam afkoelen tot kamertemperatuur tijdens het transport naar een kliniek. De dierenarts kan de follikels schrapen en spoelen om de eicellen te verkrijgen en vervolgens kunnen deze eicellen naar een gespecialiseerd centrum worden gebracht, waar de vervolgstappen kunnen worden uitgevoerd.

ICSI

Bij aankomst van de eicellen in een gespecialiseerd laboratorium zullen de eicellen eerst in rijpingsmedium worden gebracht. Ongeveer 1 tot 1,5 dag later zal onderzocht worden of de eicellen inderdaad gerijpt zijn, want alleen gerijpte eicellen kunnen worden bevrucht. De bevruchting van een gerijpte eicel vindt plaats door middel van intracytoplasmatische sperma injectie (ICSI). ICSI is een techniek waarbij één gerijpte eicel met behulp van een naald geïnjecteerd wordt met één zaadcel. Vervolgens moeten de bevruchte eicellen uitgroeien in een speciaal kweekmedium in een speciale klimaatkast tot een 'blastocyste' (een ontwikkelingsstadium van een embryo). Deze stap is vaak de meest beperkende stap van het hele proces. Als deze stap lukt, kan de blastocyste óf direct in een ontvangstermerrie worden gezet of worden ingevroren.

Succes

Het succespercentage van ET en van OPU/ICSI varieert enorm omdat er allerlei factoren mee spelen. Aangezien er aan beide technieken wel een zeker prijskaartje hangt, zijn het vaak genetisch waardevolle donormerries die worden aangeboden voor deze technieken. De kosten voor OPU/ICSI zijn duidelijk nog wat hoger dan voor ET. Het verzamelen van de eicellen, het transport van eicellen naar het laboratorium en het bevruchten van de via ICSI kosten al gauw 1.650 euro en dan kan er soms toch geen geschikt embryo uitkomen. Als er een geschikt embryo (of meerdere embryo's) uitkomt, betaalt de eigenaar ook nog een bedrag voor ieder ingevroren embryo. Tenslotte komen hier de kosten van het sperma (deel van een rietje), de transplantatie van het embryo en de draagmerrie nog bij. De kans dat een embryo gespoeld wordt uit een donormerrie is ongeveer 50 tot 60%. Dit slagspercentage neemt toe als er een vruchtbare hengst wordt gebruikt bij jonge merries, maar kan afnemen in geval van oudere merries of als er sperma wordt gebruikt van minder vruchtbare hengsten. Het aantal embryo's dat per keer gespoeld kan worden is meestal 1 of 2 aangezien dit aantal afhangt van het aantal ovulaties (eisprongen). De kans op het verkrijgen van een geschikt embryo is met OPU/ICSI vaak hoger dan met een embryospoeling. Ongeveer 70% van de OPU/ICSI sessies resulteert in de productie van één of meerdere embryo's en indien succesvol dan worden gemiddeld 2 embryo's per sessie geproduceerd. OPU/ICSI heeft ook als voordeel dat soms meerdere (3 tot 11) embryo's kunnen worden verkregen in één OPU/ICSI sessie. De kans op dracht na het overzetten van een vers gespoeld embryo in een draagmerrie is nog wel iets hoger (80-85%) dan bij het plaatsen van een ingevroren OPU/ICSI embryo in een draagmerrie (70-75%). Uiteindelijk zal bij ongeveer 10% van de draagmerries de vrucht nog verloren gaan tussen de eerste drachtcontrole en het veulenen.

Conclusie

De moderne voortplantingstechnieken bieden de eigenaar van een bijzonder goede fokmerrie extra opties. De OPU/ICSI techniek biedt veel voordelen en resulteert vaak in de productie van 1 of zelfs meerdere embryo's. Aan de andere kant is deze techniek wel meer invasief (belastend voor de merrie) en er hangt natuurlijk ook een forse kostprijs aan vast. Daarom moet er van tevoren goed worden overwogen of de kosten zullen opwegen tegen de baten. •

ICSI: de spermacel is in de eicel gebracht en nog net te zien (rode pijl) in het midden van de eicel.



Voor OPU, het oppikken van de eicellen moet een team intensief samenwerken (foto van voor COVID19).



ICSI: de eicel wordt onder een microscoop aangeprikt met een holle naald waarin de spermacel (rode pijl) net te zien is.

