

OPU en ICSI

The sky is the limit

Middels ICSI is het mogelijk om één zaadcel in een eicel te brengen, waaruit een embryo kan ontstaan.

Als er de laatste maanden door paardenfokkers in de wandelgangen wordt gepraat over de fokkerij, komen steevast de termen OPU en ICSI ter sprake. Iedereen heeft er wel een mening over. Maar wat is het nou precies en wat zijn de voor- en nadelen naar de toekomst toe bekeken?

TEKST: GEMMA JANSEN • BEELD: GEMMA JANSEN & DIRK CAREMANS

Tom Stout is de uitgelezen persoon om het een en ander uit te leggen. Deze van origine Engelsman is hoogleraar voortplanting aan de faculteit Diergeneeskunde in Utrecht: “De term OPU betekent ovum pick-up, ofwel het oogsten van eicellen. ICSI staat voor intracytoplasmatische spermatische injectie. Middels deze techniek is het mogelijk om één zaadcel in een eicel te brengen, waaruit een embryo kan ontstaan. Deze techniek is een uitkomst in het geval van bijzondere merries, die bijvoorbeeld wel goede eierstokken maar geen goede baarmoeder hebben. Of voor merries die in de sport lopen, maar waarvan de eigenaar of ruiter geen embryo’s wil spoelen, omdat de merrie gedurende de periode van insemineren en spoelen minder presteert. Met de procedures van OPU en ICSI blijven sport en fokkerij prima te combineren. In de regel krijgt de merrie na de ingreep twee dagen rust, daarna kan de training worden hervat.”

Stout legt uit dat voor de fokker ICSI ook een uitkomst kan zijn als een speciale merrie komt te overlijden of moet worden ingeslapen. “Als er nog tijd voor is, maar ook meteen na de euthanasie, kunnen eicellen worden geoogst en vervolgens voor ICSI worden gebruikt. ICSI kan ook hulp bieden bij het gebruik van bijzonder of

kostbaar sperma van een beroemde dressuur- of springhengst. Bij normale inseminatie kan dit dan slagen, maar het kan ook mislukken. In dat laatste geval ben je het rietje sperma en meestal ook je geld kwijt. Door ICSI kun je uit één rietje meerdere pogingen doen. Je kunt namelijk kleine stukjes van het rietje afknippen en hieruit voldoende zaadcellen halen om meerdere geoogste eicellen te injecteren en bevruchten.”

ICSI kan het hele jaar

De normale en natuurlijke vruchtbaarheidscyclus van een merrie valt meestal stil in november en start zo ongeveer in maart weer op. ICSI kan gedurende het hele jaar worden toegepast worden, maar de vier stille maanden in de wintertijd zijn volgens Tom vaak de mooiste maanden om eitjes te oogsten. “Vooraf omdat in deze tijd de follikels niet al te groot worden en er meer gemaakt worden. Van de heel grote follikels is het lastiger om een eicel te winnen. Van beide eierstokken kunnen meerdere eicellen worden geoogst. Dat aantal varieert van twee tot dertig. Deze worden vervolgens, met een rietje sperma, door een koerier naar Italië gebracht. De bevruchte en dus geslaagde embryo’s worden ingevroren en kunnen later in een draagmoeder worden gezet. Binnenkort hopen we ook op de faculteit het gehele OPU/



Tom Stout:
“ICSI biedt op commercieel gebied ongekende kansen om genetisch topmateriaal te vermarkten.”

ICSI-pakket, met daarin ook de bevruchte en bevroren embryo's, commercieel aan te kunnen bieden. We zijn er volop mee bezig en dit loopt redelijk, maar nog niet op het niveau van Italië. Al gaan de ontwikkelingen snel.”

Vooruitgang

“In de beginfase van ICSI, dat is zo'n vijftien jaar geleden, prikten we hier in Utrecht gemiddeld zo'n tien follikels in de merrie aan. Dit leverde slechts twee tot drie eicellen op. Met een beetje geluk bleef er daarvan één embryo over. De slagingskans is inmiddels al enorm verbeterd. Momenteel levert 50% tot 60% van de OPU/ICSI-pogingen één of meerdere embryo's op. Het gemiddelde aantal embryo's per geslaagde poging ligt dan op 1,8. Vorig jaar hebben wij ongeveer vijftien ICSI-embryo's getransplanteerd. Van de hiervan verwachte veertig veulens zijn er inmiddels al tien geboren, deze lijken niet te verschillen van de via KI verwekte veulens. Fokkers blijken oprecht geïnteresseerd in de ontwikkelingen en momenteel verrichten we wekelijks al tien tot zeventien OPU's. Dit jaar hebben al zeventig transplantaties plaatsgevonden, met veertig drachtigheden als resultaat. Er liggen nog ruim 300 embryo's in de stikstof opgeslagen. Een groot voordeel van deze techniek is dat er een beduidend kleiner aantal draagmoe-

ders nodig is dan bijvoorbeeld bij ET het geval was. Dat is vooral omdat de cyclus niet gesynchroniseerd hoeft te worden. Het embryo wordt getransplanteerd op het moment dat de draagmoeder op de juiste dag van de cyclus zit.”

Nadelen

De kosten voor ICSI zijn aan de hoge kant. “Dat is omdat het winnen van de eicellen behoorlijk arbeidsintensief is. Er zijn drie personen nodig om de eicellen te oogsten en in het laboratorium zoekt een ander persoon de eicellen op in de gewonnen vloeistof. Een eikel zit bij een paard vaster dan bij andere diersoorten en het is een kunst, die zeker enige ervaring vereist, om deze onbeschadigd uit een merrie te halen. Tegenover de hoge kosten voor de eicelwinning staat dat dat de kosten bij het te gebruiken sperma weer veel lager liggen. Als fokker en bedenker zou je deze embryo's, na het slagen van het proces, over de hele wereld kunnen verkopen en versturen, mits de merrie en het sperma aan bepaalde gezondheidseisen voldoen. Dit biedt dan ook op commercieel gebied ongekende kansen om genetisch topmateriaal te kunnen vermarkten. Voor Nederland als paardenland is het heel belangrijk dat deze techniek verder wordt uitgebouwd!”

Alleen je beste merrie gebruiken

Niet alleen in Nederland houdt ICSI de gemoederen bezig. In april kwam een aantal geïnteresseerden bij elkaar in het huis van KWPN-fokker Eva Rutten in het Belgische Brecht. Op deze door Rik van Gils georganiseerde bijeenkomst waren naast verschillende Belgische KWPN-fokkers ook een aantal gerenommeerde deskundigen aanwezig. Uit Nederland waren dat onder meer Rijk-Jan Pleijter van paardenpraktijk Dier-N-artsen te Oosteind en gespecialiseerd in vruchtbaarheid, alsmede Karin Hendriks, Europees specialist voortplanting paard. Zij is werkzaam op haar eigen praktijk Hendriks EQ Repro Consultancy in samenwerking met paardenkliniek De Graafschap Dierenartsen in Vorden. De Belgische afvaardiging bestond uit Isolde Tuypens van KI-station Bloemenhof en dierenarts Katrien Smits. De laatste is als postdoctoraal onderzoeker voortplanting paard verbonden aan de Universiteit Gent. Hier houdt zij zich voornamelijk bezig met onderzoek naar en verbeteren van de procedures rond ICSI bij het paard. “In 2009 heb ik het eerste veulen gefokt middels deze techniek. Toen stond ICSI helemaal

SELDSUM EQUINE FERTILITY

In het noorden van het land ligt in het plaatsje Jelsum het veelzijdig paardenbedrijf Seldsum Stables MH. Seldsum Equine Fertility is al ruim vijf jaar een belangrijk onderdeel van dit bedrijf. MH staat voor Minne Hovenga, hij is de oprichter en tevens een bevlogen fokker. Esther de Melker, levenspartner van Hovenga, staat aan de basis van het bedrijf Seldsum Equine Fertility. Zij is al sinds 2004 als dierenarts actief in Jelsum en gespecialiseerd in vruchtbaarheid. Naast vruchtbaarheidsbegeleiding is zij voornamelijk bezig met embryotransplantatie. Minne: “Vanuit betrokkenheid met het bedrijf, maar natuurlijk ook als fokker zijnde, houd je de vervolgtechnieken in de gaten. Een jaar of drie geleden zijn we ons verder gaan verdiepen in OPU en ICSI. Esther heeft in de afgelopen twee jaar diverse congressen gevolgd, onder meer in Duitsland, Frankrijk en België. Vanuit de melkveehouderij, waar deze technieken al langer gemeengoed zijn, was ik er al enigszins bekend mee. We wilden de mogelijkheden die er waren onderzoeken om eventueel toe te gaan passen in de praktijk. We hebben eerst wel een beginnersfoutje gemaakt door een lastig drachtig te krijgen Contendermerrie bij professor Tom Stout van de Faculteit te Utrecht te brengen. Eigenlijk moet je beginnen met een jonge, gezonde merrie. Dit eerste experiment met die probleemmerrie leverde dan ook niets op. Om nog meer kennis op te doen zijn Esther en haar collega Karin Hendriks samen op bezoek geweest bij Avantea, waar de Italiaanse professor Cesare Galli een voorloper op dit terrein is. Vervolgens zijn Esther en Karin dit winterseizoen in Jelsum aan de gang gegaan met OPU/ICSI. Deze eerste pogingen leverden uiteindelijk zes embryo's uit drie eigen merries op. Een relatief hoge score dus. Avantea loopt vooral nog voorop op het gebied van het bevruchten van de eicel met de zaadcel, een moeilijk onderdeel in het proces. Vooralsnog kiezen we voor dat traject voor de expertise van Galli. Hoewel daaraan natuurlijk op de Faculteit Diergeneeskunde in Utrecht ook keihard wordt gewerkt.”

nog in de kinderschoenen. Ik gebruikte voor het experiment geen bijzondere merrie en evenmin sperma van een bekende hengst. Het ging mij louter om de procedure. Genetisch gezien werd er dus geen bijzonder veulen geboren, maar inmiddels is zij zeven jaar en nog topgezond. Ik heb haar aan mijn buurman gegeven. Hij heeft er plezier van als rijpaard en zo kan ik haar van dichtbij blijven volgen.”

Proces

“Ik ben gestart met het onderzoek naar ICSI, omdat er zoveel stappen nodig zijn. Per fase kan er van alles misgaan. Eerst moet er onder echobegeleiding bij de merrie de onrijpe eicellen verzameld worden. Vervolgens moeten de gewonnen eicellen een rijpingsproces ondergaan, waarna ze bevrucht kunnen worden. In de humane geneeskunde wordt een soortgelijke procedure toegepast, maar dan worden na hormonale stimulatie meteen rijpe eicellen gewonnen die dan bevrucht worden door reageerbuisbevruchting. Het verschil is dat bij de humane procedure, maar ook bij de meeste andere diersoorten, bevruchting erg vlot plaatsvindt. Dit gebeurt zodra in het petrischaaltje, dat is waar de eicel zich in bevindt, enkele spermacellen worden toegevoegd. Bij paarden werkt het niet op deze manier. Om bij paarden bevruchting in vitro te realiseren moet met behulp van fijne glazen pipetten een spermacel daadwerkelijk in een rijpe eicel worden geïnjecteerd. Alleen rijpe eicellen kunnen op die manier bevrucht worden. Om vervolgens een embryo te kweken, gaat de eicel na bevruchting in een broedstoof om zo door te groeien tot de blastocystfase. In dit stadium verloopt de ontwikkeling iets trager en treedt er

SISTHER DE JEU

Minne Hovenga: “Fokken betekent ook kunnen incasseren; er is geen enkele garantie op 100% succes. Je moet elke keer weer afwachten of iets lukt. OPU/ICSI is beslist niet zo simpel als wordt gedacht. De transplantatie van ingevroren embryo's die via ICSI verkregen zijn, levert voorsnog minder resultaat op dan het overzetten van een vers embryo dat geproduceerd is door normale ET. De laatste techniek heeft een slagingspercentage van gemiddeld 80 tot 85 procent en bij diepvriesembryo's ligt dat percentage op circa 60. Na haar sportcarrière met Edward Gal is het voormalige Grand Prix-paard Sister de Jeu naar Jelsum gekomen en lekker de wei ingegaan. In drie jaar tijd heeft ze middels ET al veertien nakomelingen gegeven en dit seizoen zijn er al weer drie nieuwe gespoeld. Sister de Jeu wordt binnenkort, in overleg met Emmy de Jeu, een keer ingezet voor OPU/ICSI. Zo moet het ook, want voor deze techniek wil je natuurlijk alleen je allerbeste merries gebruiken. Zo zijn bijvoorbeeld hier ook al diverse embryo's gespoeld uit dochters van het fenomeen Weihegold. Deze merrie zal na de Olympische Spelen mogelijk ook via OPU/ICSI worden ingezet, om op die manier nog meer nakomelingen van haar te krijgen.”

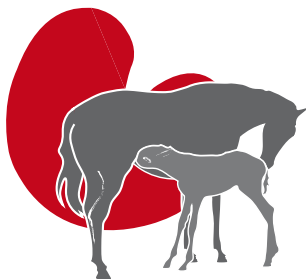
veel verlies op. Dat is waarschijnlijk omdat de inhoud van het kweekmedium toch van mindere kwaliteit is dan het milieu in de eileider. Hierover weten we nog te weinig.”

Kansen

Smits legt uit dat als een embryo eenmaal klaar is om geïmplant te worden, de kansen van een ICSI-embryo gelijk zijn aan die van een natuurlijk embryo. “De techniek biedt zeker goede mogelijkheden, maar het is voorsnog geen efficiënt proces en daarbij bijzonder arbeidsintensief.” Dit laatste wordt beaamd door voortplantingsspecialist Karin Hendriks. “Je gaat voor een ovum pick-up met een naald in de vagina van de merrie en dat geeft natuurlijk al iets meer risico dan bij bijvoorbeeld ET. Bij ET heb je meestal binnen een uur de merrie al gespoeld, maar een OPU voor ICSI duurt al gauw twee tot drie uur. Tijdens die procedure sta je met drie mensen achter de merrie. Een om te spoelen, een ander zoekt met een echoapparaat de follikels met daarin de eicellen en één om deze aan te prikken en te oogsten. Een eicel zit

Ook in België houdt ICSI de gemoederen bezig. Fokkers en gerenommeerde experts kwamen samen om van elkaar te leren.





Seldsum Equine Fertility

Gynaecologie | Embryotransplantatie | Toekomst

VAN EICEL NAAR TOPVEULEN

ET-station

- Begeleiden en spoelen van uw merrie voor embryotransplantatie
- Transplantatie van het embryo in eigen draagmoeder
- Ruim aanbod aan warmbloed draagmerries bij ons op het bedrijf aanwezig

KI- station

- Drachtigheidsbegeleiding van uw merrie
- KI van uw merrie (vers- en diepvriessperma)
- Gynaecologische begeleiding van probleemmerries
- Bevallings- en kraambegeleiding merrie en veulen (24-uurs begeleiding en camerabewaking)
- Opslag en beheer van uw diepvriessperma

Moderne Voortplantingstechnieken (ism drs Karin Hendriks, Europees Specialist Voortplanting Paard)

- Geslachtsbepaling van uw embryo tussen d58-d70 of d120-d200
- Invriezen en opslaan van uw embryo's
- OPU: Vanaf zomer 2016 bieden wij de mogelijkheid om Ovum Pick Up (OPU) bij uw merrie uit te voeren ten behoeve van de uitvoering van ICSI, *in samenwerking met de Faculteit Diergeneeskunde te Utrecht (Voortplanting Paard)*



Topdonor Sister de Jeu

Embryo zoeken

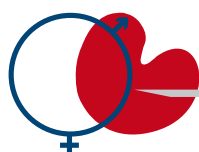
ICSI

Merrieveulen 65 dgn

Totilas x O.Esther SVN

Erkend Paardendierenarts drs E.T. de Melker | P.Rindertsreedsje 16 | 9057 LH Jelsum
t. +31(0)58-2572200 | m. +31(0)6-53679973 | mhovenga@xs4all.nl

www.seldsum.nl



Seldsum EQ Hendriks

Modern Reproductive Technology

bij een paard, anders dan bijvoorbeeld bij een rund, heel vast in het follikel. Dus iemand moet spoelen en schrapen. Soms moet wel zes tot acht keer worden gespoeld om een eikel los te krijgen. Als dat eenmaal gelukt is wordt, voordat we ermee verder gaan, de eikel onder de microscoop uitvoerig bekeken. Voordat we overigens aan OPU beginnen, onderzoeken we eerst of er op de eierstokken van de merrie zich minstens tien follikels bevinden. Deze moeten een doorsnee hebben van minstens één centimeter.

ICSI bij oudere merries

Bij oudere merries is er zeker sprake van degeneratie, waardoor de eicellen van mindere kwaliteit zijn en er minder follikels op de eierstokken zitten. Toch kan het uitvoeren van ICSI bij oudere merries, waarvan meerdere nakomelingen zich al optimaal bewezen hebben, zomaar heel waardevol kunnen zijn. Katrien: “Wij werken graag met een merrie met vele en kleine follikels, maar juist weer minder graag met een hengstige merrie met te grote follikels. Vrouwen kunnen onder invloed van bepaalde hormonen gaan superovuleren, waardoor meerdere rijpe eicellen verzameld kunnen worden. Dit werkt niet bij paarden. Zoals de ontwikkelingen er nu voorstaan, komt er van vijf eicellen één te gebruiken embryo. Natuurlijk is er ook een leercurve voor de dierenartsen. Er worden momenteel ook al technieken toegepast om de beste spermacellen boven te krijgen, zodat die vervolgens gebruikt worden voor het injecteren in de eikel. Uit een druppel spermacellen worden de goed uitzijende en meeste actieve zwemmertjes geselecteerd, maar de menselijke selectie is altijd minder streng dan de natuurlijke survival of the fittest.

Select groepje

Vooralsnog lijken alle veulens gezond, maar we moeten wel voor ogen houden dat het om nog een relatief klein aantal gaat.” Rijk-Jan speelt zijdelings voor advocaat van de duivel: “Dat ICSI gaat doorzetten is voorspelbaar. Over ET riep iedereen in het begin dat het niets zou zijn, maar dat is inmiddels een heel normaal bevonden procedure en heeft een aantal fokkers veel goeds gebracht. Je kunt bij een goede merrie eerst een OPU uitvoeren en in een volgende cyclus de merrie zelf laten dekken. De draagkans van zo’n merrie ligt door het uitvoeren van een ovum pick-up wel wat lager

Minne Hovenga:
“Ik geloof er heilig in dat op termijn OPU/ICSI gemeengoed wordt voor topmerries.”

dan gewoonlijk. Daarnaast denk ik dat de hoge kosten een belemmering vormen voor veel fokkers. Waarschijnlijk blijft ICSI voorbehouden aan een select groepje en wordt de fokkerij in stand gehouden door de fokkers die op de traditionele manier een veulen willen fokken. De laatste groep zorgt meteen voor de broodnodige genetische diversiteit in de paardenpopulatie, anders zou door ICSI best wel eens heel snel een verenging daarvan kunnen plaatsvinden.”

Karin: “Zoals de zaken er nu voorstaan kost ET de helft van ICSI, dit komt voornamelijk omdat het bevruchten en invriezen van de embryo’s nu nog in Italië plaatsvindt, waarbij voorafgaande aan de procedure onderzoeken moeten worden uitgevoerd om een ziektevrije status te garanderen. Het scheelt enorm in de kosten als dat ook in Nederland mogelijk wordt. Een embryo kan in een stikstofvat bij een temperatuur van -196°C onbepakt bewaard worden. Wat paarden die in kweekbakjes gekweekt zijn, gaan toevoegen aan de sport en welke verwachtingen ze gaan waarmaken moeten we natuurlijk nog afwachten.” Isolde heeft het laatste woord: “Deze techniek zorgt voor veel meer rendement van de eicellen van een merrie. Op de natuurlijke manier wordt bij een hengstigheid één eikel gebruikt om drachtig te worden en de rest degenerereert, terwijl je die nu met ICSI kunt verzamelen en benutten. Als fokker zou je voor ICSI alleen je beste merrie kunnen gebruiken en de overige merries, die net iets minder zijn van kwaliteit, kunnen inzetten als draagmoeder!” ●

KRITISCH

Minne Hovenga: “Er zijn natuurlijk ook kritische geluiden over deze nieuwe technieken. Ik geloof er echter heilig in dat op termijn OPU/ICSI gemeengoed wordt voor topmerries. Door deze techniek komen ontwikkelingen in een stroomversnelling. De wereld is zo open als het maar kan en de markt vraagt constant om de nieuwste technieken. Het mooie is dat het voor iedereen vrij staat om er aan mee te doen of niet. In Jelsum was recent nog een oudere Duitse topfokker die gruwde al bij de gedachte aan ET en ook zonder dat fokt hij al jaren goede sportpaarden. Ik zit ook in de selectiecommissie van de Star Sale Veulenvaaiing en kom allemaal fokkers tegen, die op hun eigen manier succesvol zijn. En dat moet ook gewoon zo blijven. Op welke manier goede paarden worden verwekt maakt niet uit, als deze veulens maar worden geboren! Bij dit soort nieuwe ontwikkelingen heb je altijd veel spookverhalen, die in veel gevallen niet gestaafd worden door feiten of wetenschap. Esther en Karin hebben als voortplantingsspecialisten bewust dit voorjaar nog even rustig aan gedaan met het toepassen van OPU/ICSI en zich nog meer verdiept in de materie. Zo kunnen ze dit najaar tot een optimaal resultaat te komen als ze in de praktijk met OPU/ICSI serieus aan de weg gaan timmeren. Voor augustus en september ligt er inmiddels een behoorlijke wachtlijst klaar met topmerries van enthousiaste fokkers bij het nieuwe bedrijf, Seldsum EQ Hendriks. Een aantal topmerries uit onze eigen fokkerij, zoals de Balia’s, zullen hiervoor worden ingezet.”