

## Bericht zum Hands-on-IVF-Workshop der AG ÄRE

Vom 12.1.-16.1.2011 fand in Nörten-Hardenberg bei Göttingen der erste Hands-on-Workshop der AG Ärztinnen in der Reproduktionsmedizin (ÄRE) statt. Mit diesem Workshop wurde eine Idee aufgegriffen, die bereits bei den jährlichen Mai-Treffen der ÄRE in Weimar geboren wurde. Vielfach war der Wunsch geäußert worden, durch eine praxisorientierte Einweisung in die Routinetechniken eines IVF-Labors ein noch besseres Verständnis für die komplizierten Abläufe dort zu entwickeln. Eine optimale Zusammenarbeit an der Schnittstelle Labor und Patientenbetreuung und Verständnis auf ärztlicher Seite für die Arbeitsabläufe und Probleme im IVF-Labor ist entscheidend, wenn das gemeinsame Ziel einer hohen Schwangerschaftsrate erreicht werden soll.



**Abb.1:**

**Fr. Dr. Manuela Ropeter-Scharfenstein und Delroy's Dragon Heart**

Monika Bals-Pratsch, Regensburg, eine Veranstaltung von hoher Qualität angeboten werden, was sich auch in der Zertifizierung durch die Landesärztekammer Niedersachsen und Vergabe von 55 Fortbildungspunkten spiegelt. Um ein effektives Arbeiten zu ermöglichen, war die Teilnehmeranzahl auf sechs begrenzt. Die Plätze waren innerhalb kürzester Zeit vergeben, die Teilnehmerinnen kamen aus München, Münster, Regensburg, Salzburg und Zürich. Die Unterbringung erfolgte im BurgHotel Hardenberg, das mit seinem modernen Tagungsraum, in dem unser „Show-Labor“ eingerichtet wurde und dem perfekten Rundumservice einen sehr angenehmen Rahmen abgab und durch kurze Wegezeiten den Workshop in dieser intensiven Form ermöglichte.

Der Nachmittag des Ankunftstages wurde nach Begrüßung und kurzem Kennenlernen der Teilnehmerinnen genutzt, um die aufgebauten Geräte zu inspizieren. Danach führte uns der erste Vortrag von Dr. Ropeter auf eine Zeitreise von den Anfängen der IVF bis zu den aktuellsten Entwicklungen. Schon jetzt wurde klar, welches empfindliche System der Embryo darstellt und dass kleinste störende Einflüsse großen Schaden in Bezug auf die Entwicklungsfähigkeit anrichten können. Nach dem Abendessen regte der Vortrag von Dipl.-Ing. Meike Wiarda zum Thema „Zwischen Patientin und Labor-effektives Nutzen weiblicher Kompetenzen“ zu intensiven Diskussionen an. Frau Wiarda, die in erster Linie Seminare für Führungskräfte und Mitarbeiter in Vertriebsabteilungen durchführt, gab uns kenntnisreich Einblick in die Psychologie der Kundenbetreuung und Mitarbeiterführung. Ihr Vortrag behandelte Aspekte wie geschlechtsspezifische Kompetenzen, Definitionen des Begriffes „Führung“, Motive und Formen der Machtausübung und Kommunikationstechniken für das Patientengespräch.

Der Donnerstag führte uns nach dem Frühstück zur Hengststation Eicke in Einbeck, wo wir freundlich von der Juniorchefin empfangen wurden. Kirsten Eicke ist ausgebildete Besamungstechnikerin und demonstrierte uns anhand eines beeindruckenden Videos die Vorgehensweise bei der Spermagewinnung von Hengsten. Aus Gründen der Hygiene und

Mit Frau Dr. Manuela Ropeter-Scharfenstein (Dragon IVF International) konnte eine Embryologin gewonnen werden, die ähnliche Kurse bereits seit Jahren erfolgreich im Ausland durchführt und große Erfahrung in der praktischen Ausbildung von IVF-Laborpersonal besitzt. Die Veranstaltung wurde in großzügiger Weise von MSD/Essex Pharma unterstützt, der wir an dieser Stelle unseren besonderen Dank aussprechen wollen, ebenso den Firmen, die nicht nur Geräte zur

Verfügung stellten, sondern auch hochqualifizierte Mitarbeiter, die die Schulung unterstützten. So konnte unter der ärztlichen Leitung von Prof.

Arbeitssicherheit werden Phantome als Sprungpartner verwendet und das Spermia in eine künstlichen Vagina abgegeben. Danach wurden im Labor der Hengststation die unterschiedlichen Aufarbeitungstechniken für Ejakulate besprochen. In der Zwischenzeit hatte Frau Dr. Ropeter vom nah gelegenen Schlachthof Rinder- und Schweineovarien mitgebracht, aus denen wir Eizellen für die weiteren praktischen Übungen gewinnen konnten; eine Übung, die uns

vergleichsweise leicht fiel.

Nach der Rückkehr zum Hotel und kurzem

Mittagsimbiss ging es dann weiter mit der Eizellsuche unter der Stereolupe. Hierbei wurden verschiedene Handlingmethoden eingeübt. Die erste praktische Übung machte allen sichtlich Spass. Den Auftakt zu dieser Sitzung gab Her Bodo Falke der Fa. Leica, der über die Benutzung der Stereolupen berichtete und uns einen technischen Einblick gewährte. Die 6 Stereolupenplätze wurden von Leica und auch Zeiss Microimaging gestellt.

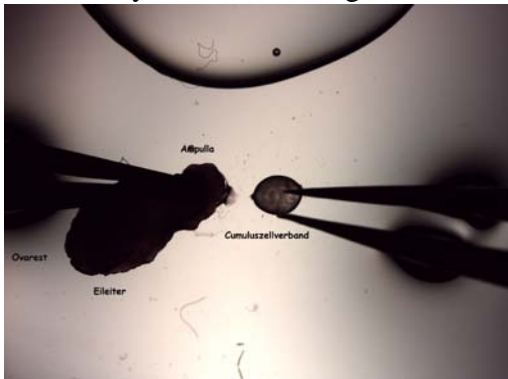
Im Anschluss daran erfolgte durch Frau Dr. Regina Klose (MTG, Medical Technology) und Frau Dipl. Biol. Anke Martin (Labotect, Göttingen) die Einweisung in die Kryokonservierung von Pronuklei, Spermien und Hoden- bzw. Ovargewebe einschließlich Vorbereitung der straws und Handhabung der Einfriergeräte.

Nach dem Abendessen hörten wir noch den spannenden und wie gewohnt unterhaltsam dargebrachten Vortrag von Prof. Michelmann, Göttingen, zum Thema „ Strukturelle und funktionelle Vorgänge an der Zona pellucida während Reifung, Befruchtung und frühen Embryonalentwicklung“. Anhand beeindruckender elektronenmikroskopischer Aufnahmen demonstrierte er Variationen der Porosität und Granulabildung der Zona pellucida menschlicher Oozyten, deren Funktion bislang unbekannt ist. Weitere Bilder zeigten kanalartige Strukturen zwischen den Granulosazellen, die Spermien zur Zona leiten. Am häufigsten lagern sich Spermien tangential an die Zona an und werden in dieser Position auf ihrem Weg zur Eizelle von Zonamaterial überlagert. Wahrscheinlich gab es niemanden unter den Anwesenden, der nicht von den elektronenmikroskopischen Bildern der Zona, des Oolemma und dem aktiven Zusammenspiel zwischen Zona und Spermien beeindruckt war. *Die Befruchtung ist kein enzymatischer Prozess des Akrosoms, nicht die Samenzelle penetriert die Zona, sondern das Zonamaterial wächst an der Samenzelle hoch. An diesem Geschehen sind beide Gameten, das Spermium und die Zona pellucida aktiv beteiligt. Die Bindungsmuster bei befruchteten und unbefruchteten Eizellen sind unterschiedlich. Es sind Zuckerstrukturen auf der Zona, die die Bindung bewirken. Was nicht überrascht, ist die Beobachtung, dass in vivo mehr Spermien binden als in vitro. Für die Gameteninteraktion, sowohl bei der in vivo als auch In-vitro-Fertilisation spielt die Samenzellmorphologie eine entscheidende Rolle, aber sicher nicht bei der ICSI. Das DIR-Jahrbuch von 2007 zeigt, dass die ICSI mit einer Fertilisationsrate von 63,5 % der IVF mit 51,5 % überlegen ist. Dabei sind 70 % aller ICSI-Spermien nicht normal geformt. Das Erscheinungsbild menschlicher Spermien ist so heterogen, dass es kaum möglich ist, die normale Samenzelle zu definieren. „Normalität“ hängt vom optischen Auflösungsvermögen ab. Ob Kernvakuolen auf der Oberfläche einen negativen Einfluss haben, muss aufgrund der ICSI-Daten angezweifelt werden. Untersuchungen haben gezeigt, dass vakuolisierte Spermatozoenköpfe nicht mehr DNA-Strangbrüche aufweisen, als Spermatozoen ohne Kernvakuolen. Die intrazytoplasmatische, morphologisch selektierte Spermieninjektion (IMSI) lohnt sich daher in der bislang durchgeführten Form nicht. Weitere Untersuchungen zwischen Morphologie und Genetik stehen hier noch aus.*



**Abb.2: Hengststation Eicke in Einbeck**

Der (nächste Tag) *Freitag* begann sehr früh und stand zunächst ganz im Zeichen der Maus. Dr. Ursula Fünfschilling und MTA Nicole Weber aus dem Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin Göttingen erläuterten zunächst den zeitlichen Ablauf der Fertilisation und Embryonalentwicklung beim Mäuse-IVF.



**Abb.3: Mauseizellen im Cumulusverband**

*Der natürliche Zyklus der Maus dauert nur 4-5 Tage, die Blastozystenentwicklung 3,5 Tage. Die Stimulation zur Superovulation für die IVF erfolgt mit PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin, equines Choriogonadotropin), die Ovulationsinduktion mit HCG. Die im Cumulusverband aus der Ampulle ausgespülten Eizellen werden anschließend mit kapazitierten Spermien aus dem Nebenhoden der Mäuseböcke inseminiert. Nach drei Tagen erfolgt transabdominal der Blastozysten-Transfer in das Uterushorn der Ammenmäuse.*

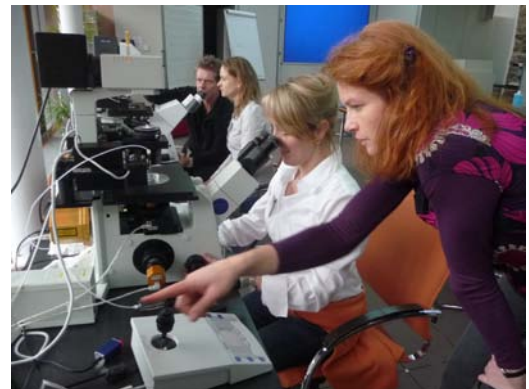
Bei einer Life-Demonstration unter Kamerakontrolle konnten wir die Gewinnung von Mäusegameten, Zygoten und verschiedener Embryonalstadien aus frischtoten Mäusen mit verfolgen, was bei den zarten Strukturen viel Übung und große manuelle Geschicklichkeit erfordert. Die Embryonen wurden für die Durchführung weiterer Labortechniken in Kultur genommen, die Oozyten und Spermien von den Teilnehmerinnen für die IVF eingesetzt und am nächsten Tag unter der Stereolupe beurteilt. Ein Teil der Oozyten wurde von uns denudiert und für den zweiten Höhepunkt des Tages, die Durchführung der ICSI, bereitgehalten.

Die Firmen MTG, ZeissMicroimaging und Eppendorf hatten zwei ICSI-Arbeitsplätze zur Verfügung gestellt.

Nach Einrichtung der Mikromanipulatoren und Justierung wurde zunächst die Arbeitsweise der Manipulatoren und Mikroinjektoren erläutert und dann die ICSI an den gewonnenen Oozyten demonstriert. Jede Teilnehmerin konnte ihr eigenes ICSI-Schälchen vorbereiten und dann unter kundiger Anleitung selbst die einzelnen Arbeitsschritte der ICSI einüben. Parallel dazu bestand die Möglichkeit, assisted hatching mit dem OCTAX Laser Shot System durchzuführen.

Am Nachmittag ging es um die Grundlagen der Inkubationstechnik.

Anke Martin von der Fa. Labotect erläuterte die Bedeutung von Temperatur, Luftfeuchtigkeit und CO<sub>2</sub>-Versorgung und die unterschiedlichen Bau- und Funktionsweisen gängiger Inkubatoren. Nach dem wohlverdienten Abendessen fanden wir uns zur letzten Veranstaltung des Tages, dem Vortrag der Biologin Dr. Penny Nayudu vom Deutschen Primatenzentrum Göttingen zusammen. Zum Thema „Verbesserung der Baby-take-home-Rate in der IVF-Praxis: Am Anfang steht das gute Ei“ berichtete sie von ihren vergleichenden Untersuchungen an Marmoset-Affen aus dem Primatenzentrum und in einer freilebenden Kolonie in Brasilien. Die in Gefangenschaft gehaltenen Affen zeigen ovarielle Veränderungen, die zum Teil an ein PCO-Syndrom erinnern wie vergrößerte Ovarien, erhöhte antrale Follikelzahl, Atresie präantraler Follikel und in der zeitlich beschränkten Phase der erhöhten Ovarfunktion auch eine drastisch gesteigerte Mehrlingsrate. Dr. Nayudu vermutet die Ursache in den nachteiligen Veränderungen des Lebensstils dieser Affen, der sie für die



**Abb.4: Fr. Dr. Regina Klose**



bekannten Zivilisationskrankheiten wie Diabetes mellitus disponiert. Hier fällt es leicht, den Bogen zu schlagen zur Lebensrealität vieler unserer Patientinnen und neue Ansätze zur Verbesserung der Eizellqualität zu suchen.

Am (nächsten Tag) *Samstag* konnten die erlernten Techniken, besonders begeistert natürlich die ICSI, von uns nochmals ausprobiert werden. Danach wurden innovative mikroskopische Verfahren wie die Spindel- und Zonaanalyse (OCTAX polarAIDE) und IMSI – „intracytoplasmic morphologically selected sperm injection“ (OCTAX cytoScreen) vorgestellt.



**Abb.5: Blastomerenbiopsie am Mausembryo**

Highlight des Tages war unbestritten die Durchführung von Blastomerenbiopsien an den tags zuvor kultivierten Mäuseembryonen, was erneut großes Fingerspitzengefühl erforderte.



**Abb.6: v.l.n.r. Dr. A. Eder, Dr. C. Gassner, PD Dr. R. Popovici, Dr. A. Mempel, Dr. P. Faas-Fehervary, Prof. Dr. M. Bals-Pratsch**

Nach diesem anspruchsvollen Tagesprogramm folgten als ungewöhnliche Einlage eine Yogastunde und eine Klangmeditation. Mit Yoga hatten nahezu alle von uns schon praktische Erfahrung gewonnen, die Klangschalensitzung mit Isabell Koller, die diese Therapieform erfolgreich zum Lösen von Blockaden und Spannungszuständen des Körpers und damit zur Stressbewältigung einsetzt, wirkte zunächst exotisch. Das Ergebnis der praktischen Anwendung überzeugte jedoch - diese begleitende Entspannungstechnik könnte man sich durchaus auch im Rahmen einer Kinderwunschbehandlung vorstellen.

Nach so viel Entspannung klang der Abend noch sehr lebhaft auf dem „Ball des Pferdes“ in der Hardenbergschen Kornbrennerei aus. Am nächsten Tag hieß es leider schon Abschied nehmen. Vormittags setzten wir uns zur Abschlussbesprechung zusammen, um noch letzte Verständnisfragen zu klären. Der Workshop wurde von allen als rundum gelungen empfunden und wir hoffen, dass diese Veranstaltung auch in Zukunft angeboten werden kann. Neben der fachlichen Bereicherung ist es zu intensivem Erfahrungsaustausch und freundschaftlichen Kontakten gekommen, die wir auch nach Rückkehr in unseren Berufsalltag aufrechterhalten möchten.