

UC Irvine

UC Irvine Previously Published Works

Title

Laseranwendung in der assistierten Reproduktionsmedizin

Permalink

<https://escholarship.org/uc/item/19f8c08d>

Journal

Archives of Gynecology and Obstetrics, 254(1-4)

ISSN

0932-0067

Authors

Tadir, Y
Steiner, RA
Berns, MW

Publication Date

1993

DOI

10.1007/BF02266051

Copyright Information

This work is made available under the terms of a Creative Commons Attribution License, available at

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Peer reviewed

VII.2a Laseranwendung in der Gynäkologie

Laseranwendung in der assistierten Reproduktionsmedizin

Y. Tadir¹, R.A. Steiner², M.W. Berns¹

¹Beckman Laser Institute and Medical Clinic, Department of Surgery and Department of Obstetrics and Gynecology, University of California, Irvine 92715, USA

²Universitäts-Frauenklinik, Universitätsspital Zürich, 8091 Zürich, Schweiz

Laserstrahlen wurden in den späten 70iger und frühen 80iger Jahren in das Gebiet der assistierten Reproduktion eingeführt als es gelang, für die rekonstruktive Beckenchirurgie den CO₂-Laser (10.600 nm) an Operationsmikroskope (1) und Laparoskope (2, 3) zu koppeln. Später wurden speziell entwickelte starre (4) und flexible (5) Transmissionsysteme für diesen Laser wie auch für Laser anderer Wellenlängen (Argon 540 nm; Nd:Yag 1.064 nm und frequenzverdoppelter Yag 532 nm) entwickelt und evaluiert (6-8). Inzwischen nimmt die Zahl neuer Lasertypen, die entweder im klinischen Bereich oder in der Grundlagenforschung eine Rolle spielen ständig zu (Abb. 1). Zahlreiche Publikationen beschrieben mit zum Teil widersprüchlichen Daten die potentiellen Vorteile jedes dieser Lasertypen für bestimmte Anwendungen und verglichen sie mit konventionellen Operationsinstrumenten (9, 10). Dabei sind bis zu einem gewissen Grad unterschiedliche Kriterien in Bezug auf Patientenselektion und Fähigkeiten des Operateurs, wie wahrscheinlich auch eine Voreingenommenheit des Untersuchers für die unterschiedlichen Interpretationen dieser Daten verantwortlich. Zweifellos ermöglicht Laserlicht bei richtiger Indikationsstellung und Anwendung eine selektive Gewebeerstörung (z.B. von Endometrioseherden) mit minimaler Umgebungsreaktion und bietet dann signifikante Vorteile gegenüber anderen Techniken. Eine weitere wichtige Charakteristik besonders des CO₂-Lasers ist die Tatsache, dass die letztlich zu erwartende Gewebeerstörung dem Schaden entspricht, der schon während der Operation festgestellt werden kann (What you see is what you get – „WYSIWYG“). Es muß allerdings eingeräumt werden, dass die meisten Eingriffe auch ohne Laser durchgeführt werden können (10). Zudem sind viele Chirurgen der Ansicht, dass die Anwendung von Lasersystemen während der laparoskopischen Operation zu umständlich ist.

Dem erfahrenen Laser-Endoskopiker gelingt es hingegen, bei richtiger Anwendung die besonderen Vorteile des Lasers auszunützen. Hierzu gehört beispielsweise die Möglichkeit des raschen Wechsels zwischen fokussiertem Strahl mit schneidender Wirkung und defokussiertem Strahl mit koagulierendem Effekt auf das Gewebe. Bei richtiger Einstellung der Parameter können auch simultan mit dem Gewebeschnitt klei-

Lasers used in Assisted Reproduction :

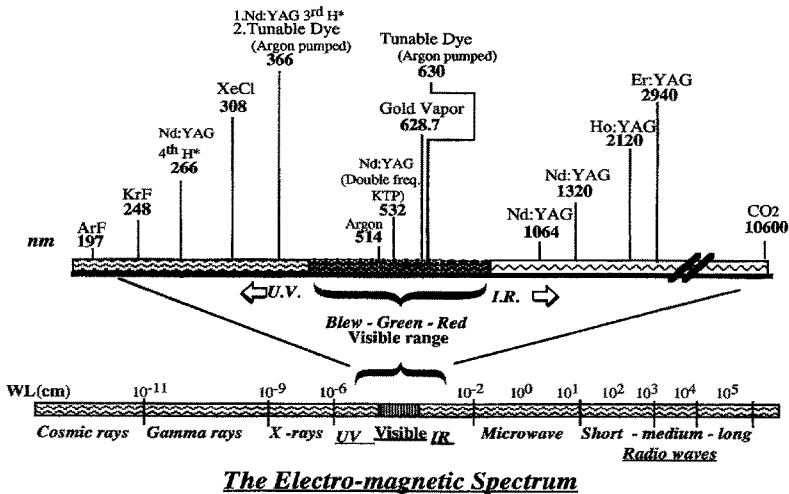


Abb. 1. Spektrum verschiedener Lasertypen, die im Bereich der Gynäkologie bzw. der assistierten Reproduktionsmedizin klinisch oder in der Grundlagenforschung eine Rolle spielen

nerer Blutgefäße koaguliert werden, womit ein weitgehend blutarmes Operieren ermöglicht wird. Ferner gelingt es, mit Quarzfasern im Kontaktverfahren je nach der verwendeten Laserspitze verschiedene Gewebefeffekte zu erzielen (11).

Nicht unerwartet wird die Bedeutung des Lasers in der operativen Laparoskopie kontrovers diskutiert. Es ist aber richtig, zu erkennen, dass Laserstrahlen eine zusätzliche Hilfe darstellen, die in geübten Händen und bei richtiger Indikationsstellung wesentliche Vorteile erbringt. Von zukünftigen Entwicklungen der Transmissionsysteme, der darstellenden Bildtechnologie und der photodynamischen Therapie dürfen entscheidende Fortschritte bei der Anwendung des Lasers im Rahmen der minimalinvasiven Chirurgie erwartet werden.

Die Fortschritte in der Behandlung der Infertilität, wie die extrakorporale Befruchtung menschlicher Eizellen haben viel zum Verständnis der reproduktiven Vorgänge beigetragen. Das erste Jahrzehnt dieser neuen Forschungsrichtung war hauptsächlich gekennzeichnet durch „trial and error“-Studien, welche gefolgt wurden von kontrollierten Studien und der Ausarbeitung von Richtlinien für adäquate Patientenselektion. Der Begriff der *in vitro* Fertilisation (IVF) wurde ausgeweitet zur umfassenderen Terminologie der assistierten reproduktiven Technologie (ART). Zu den Hauptzielen der ART gehören heute die Erhöhung der Implantationsrate nach Embryotransfer sowie eine Verbesserung der Fertilisationsrate bei mangelnder Spermienqualität. Ferner soll sie Ausgangspunkt für molekulargenetische Untersuchungen im präembryonalen Stadium sein.

Um diese Ziele zu erreichen werden unter Verwendung von Techniken der Mikro-manipulation extensive Grundlagenforschungen und klinische Studien durchgeführt. Dabei steht heute die Perfektion verschiedener Techniken zur subzonalen Spermieninsemination (12), zur Eröffnung der Zona pelluzida (13, 14), für assistiertes Embryoschlüpfen (15) sowie für präembryonale Biopsien im Vordergrund. Der Bedarf an ver-

besserer technischer Ausrüstung ist hierbei augenscheinlich. Die hohe Präzision der Laserstrahlen mit der Möglichkeit einer Reduktion des Strahlendurchmessers von 500-1000 μm (verwendet in der Mikrochirurgie [16]) auf 0,5-3 μm (verwendet für zelluläre und subzelluläre Mikrochirurgie der Organellen) begünstigt ihre Anwendung bei der ART, wie folgende Beispiele zeigen: Unter Verwendung von Laserstrahlen als „optische Fallen“ gelang es, Spermien in zwei (17, 18) und drei (19) Dimensionen zu bewegen. Ursprünglich wurden hierfür 10-40 mW eines Nd:Yag Lasers verwendet. Mit kürzlich in unseren Laboratorien durchgeführten Experimenten konnte gezeigt werden, daß ähnliche Effekte auch mit einem Dauerstrahl eines Titan-Sapphir-Lasers (700-800 nm) erzielt werden können (unveröffentlicht). Bei Verwendung eines Helium-Neon-Lasers geringer Energie diskutieren einige Autoren eine potentielle Photoaktivierung von Spermien (20). Das Anbohren der Zona Pelluzida mit einem Farbstofflaser regulierbarer Wellenlänge (266-532 nm) wurde erstmals 1981 beschrieben (21). Oozyten von Mäusen, Hamstern und Menschen wurden im Nicht-Kontaktverfahren mit Laserstrahlen behandelt. Hierbei wurde das Licht in den Strahlengang des Mikroskops eingeführt und die Manipulationen, insbesondere die Tiefe der Inzision durch einen Fernsehmonitor überwacht. Die Präzisionsbewegungen erfolgten über einen elektrisch steuerbaren Objektisch. Diese Methode ist schnell, einfach und exakt. Mit einem Xenonchlorid-Excimer-Laser können bei 308 nm in einem ähnlichen kontaktlosen Verfahren sogar noch genauere Inzisionen durchgeführt werden. Dies findet Anwendung bei Bohrungen in der Zona Pelluzida (Laser Zona Drilling, LZD) sowie bei der Unterstützung des Schlüpfvorgangs (22). Die Präzision dieser Methode ermöglicht sogar das Bohren mehrerer Öffnungen in unmittelbarer Nachbarschaft zueinander, ohne die Vitellin'sche Membran oder das Ooplasmе zu beschädigen. Schließlich wurde kürzlich ein Krypton-Fluorid-Laser (248 nm) erfolgreich angewendet, um 2-4 μm Öffnungen in der Zona Pelluzida eines Mäuseembryos im Zweizellstadium zu bohren (23). Die Autoren beobachteten, daß bei der Auswahl korrekter physikalischer Parameter, die Entwicklung einer Blastozyste durch den Präzisionsschnitt nicht verhindert wurde und empfehlen diese Methode für die Chirurgie der Zona Pelluzida.

Eine andere, kürzlich vorgestellte Methode verwendet Laserfasern im Kontaktverfahren (24). In dieser Studie wurde eine Argon-Fluorid-Laser (193 nm) über ein System von Spiegeln und Linsen langer Brennweiten mit einer Aluminium-Silikatpipette verbunden und auf diese Weise an die Zona Pelluzida einer Mausoozyste herangebracht. Die Glaspipette wurde aus einer 1 mm dicken Kapillare gezogen und wies einen Durchmesser an der Spitze von 3-5 μm auf. Die Insemination erfolgte mit Luftdruck und führte trotz geringer Spermiedichte zur Fertilisation und weiteren Entwicklung bis zur Blastozyste. Kürzlich wurde auch eine Frühschwangerschaft beim Menschen durch Anbohren der Zona Pelluzida mit einem Erbium:Yag-Laser publiziert (25). Die Autoren weisen im Bezug auf mögliche DNA Schäden auf die potentiellen Vorteile der Anwendung eines Infrarotlasers (2.940 nm) hin, im Vergleich zu Laserstrahlen kürzerer Wellenlängen.

Gemäß eigenen Erfahrungen dürfte die Anwendung des Nicht-Kontaktverfahrens der oben beschriebenen Methode überlegen sein, indem der Laser mit einer einzigen Charakteristik der Wirkung auf Distanz als Lichtskalpell benützt wird. Die zusätzliche Kontrolle und Manipulation von Halte- und Schneideinstrumenten (Mikropipette oder optische Faser) ist hierbei nicht notwendig, indem die Bohrtiefe des Laserstrahlers in der Zona Pelluzida sowie dessen Form und Richtung unmittelbar durch Justierung der Laserparameter (Energie pro Impuls, Puls-Wiederholungsrate) kontrolliert werden kann (22). Zudem besteht die Möglichkeit der Steuerung des Objektes gegenüber dem Laserstrahl durch Mikrobewegungen des Präzisionsobjektisches. Kulturmedium oder

Öl sind hierbei ohne nachteiligen Effekt. Die Kontrolle des Faser/Pipettensystemes ist dagegen mühevoller und dürfte bei Anwendung durch Flüssigkeiten oder Öl zu Schwierigkeiten führen.

Inzwischen wurden auch die Inaktivierung überzähliger humaner Pronuklei nach Fertilisation durch mehrere Spermien (26) sowie ein „Welding“ von Einzelzellen durch Laserstrahlen im Nicht-Kontaktverfahren beschrieben (27).

Wie oben erwähnt, ist unter Ausnützung der hohen Präzision dünnster Laserstrahlen auch eine Anwendung in der Chirurgie subzellulärer Organellen denkbar, was möglicher Weise bei genetischen Studien eine Rolle spielen wird. In diesem Zusammenhang sind schon erste Untersuchungen über Manipulationen und Durchtrennungen von Chromosomen publiziert worden (28). Eine eingehende Evaluation der Wirkung und Sicherheit von Laserstrahlen, sowie deren Transmissionssysteme wird in Zukunft vermehrt notwendig sein.

Im Hinblick auf Anwendung des Lasers in der reproduktiven Medizin und in der Genetik liegen zum jetzigen Zeitpunkt mehr Fragen als Antworten, mehr Bedenken als Konklusionen vor. Das Zitat aus der Bibel „Und es ward Licht“ steht im Zusammenhang mit dem Prozeß der Schöpfung und mag auch im Bereich der assistierten Reproduktion Zustimmung finden.

Literatur

1. Grossspitzsch,R., Inthraphuvasak,j., Klink,F., Oberhauser,F.: CO₂ laser beam in gynecologic microsurgery. A preliminary report *Laser Surgery III*, Eds. Kaplan,I., Ascher,P.W., Ot-Paz Press. Tel-Aviv, Israel, 263-268, 1979
2. Bruhat,M., Mage,C., Manhes,M.: Use of the CO₂laser via laparoscopy *Laser Surgery III*, Proceedings of the third International Society for Laser Surgery. Eds. Kaplan,I., Tel Aviv, Ot-Paz, 274-276, 1979
3. Tadir,Y., Kaplan,I., Zuckermann,Z., Ovadia,J.: Laparoscopic CO₂laser sterilization Eds. Semm,K., Mettler,M., Human Reprod. Excerpta Medica, Amsterdam, 429-431, 1981
4. Tadir,Y., Kaplan,I., Zuckermann,Z., Edelstein,T., Ovadia,J.: New instrumentation and technique for laparoscopic carbon dioxide laser operation: a preliminary report *Obstet Gynecol.* 63, 582-585, 1984
5. Baggish,M.S., El-Bakri,M.M.: A flexible CO₂laser fiber for operative laparoscopy *Fertil. Steril.* 46, 16-20, 1984,1986
6. Keye,W.R., Dixon,J.: Photocoagulation of endometriosis by the argon laser through the laparoscope *Obstet. Gynecol.* 62, 383-386, 1983
7. Lomano,J.N.: Nd:Yag laser applications in gynecology *Advances of Nd:Yag Laser Surgery*, S.N.Yoffe,Ogurs,Y., (eds) Germany, Springer Verlag, 201-207, 1985
8. Daniell,J.F., Miller,W., Tosh,R.: Initial evaluation of the use of potassium-titanyl-phosphate (TKP/532) laser in gynecologic laparoscopy *Fertil. Steril.* 46, 373-377, 1986
9. Daniell,J.F.: The role of lasers in infertility surgery *Fertil. Steril.* 42, 815-823, 1984
10. Gant,N.F.: Infertility and endometriosis: Comparison of pregnancy outcome with laparotomy versus laparoscopic techniques *Am. J. Obstet. Gynecol.* 166, 1072-1081, 1992
11. Tadir,Y., Neev,J., Berns,M.W.: Delivery systems for laser laparoscopy *Practical manual of gynecologic endoscopy.* (eds.) Sutton,C., Diamond,M., Bailier Tindal Ltd (In press)
12. Mann,J.: Full term development of mouse eggs fertilized by spermatozoa microinjected under the zona pellucida *Biol. Reprod.* 38, 1077-1083, 1988
13. Gordon,J.W., Talansky,B.E.: Assisted fertilization by zona drilling: a mouse model for correction of oligospermia *J. Exp. Zool.* 239, 347-354, 1986
14. Malter,E.H., Cohen,J.: Partial zona dissection of the human oocyte: a non-traumatic method using micromanipulation to assist zona pellucida penetration *Fertil Steril.* 51, 139-148, 1989
15. Cohen,J.: Assisted hatching of human embryos *J. IVF and ET* 8, 179-190,1991

16. Berns,M.W., Aist,J., Edwards,J., Stras,K., Girton,J., McNeil,P., Rattner,J.B., Kitze,M,m Hammer-Wilson,M., Liaw,L.H., Siemens,A., Koonce,M., Peterson,S., Brenner,S., Burt,J., Walter,R., Bryant,P.J., Van Dyk,D., Coulombe,J., Cahill,T., Berns,G.S.: Laser microsurgery in cell and development biology *Science* 213, 505-513, 1981
17. Tadir,Y., Wright,W.H., Vafa,O., Ord,T., Asch,R., Berns,M.W.: Micromanipulation of sperm by a laser generated optical trap *Fertil Steril.* 52, 870-873, 1989
18. Tadir,Y., Wright,W.H., Vafa,O., Ord,T., Asch,R., Berns,M.W.: Force generated by human sperm correlated to velocity and determined using of a laser trap *Fertil. Steril.* 53, 944-947, 1990
19. Colon,J.M., Sarosi,P., McGovern,P.G., Ashkin,A., Dziedzic,J.M., Skurnick,J., Weiss,G., Bonder,E.M.: Collected micromanipulation of human spermatozoa in three dimendions with an infrared laser optical trap: effect on sperm velocity *Fertil. Steril.* 57, 695-698, 1992
20. Lenzi,A., Claroni,F., Gandidni,L., Lombardo,F., Barbieri,C., Lino,A., Dondero,F.: Laser radiation and motility patterns of human sperm *Arch. of Androl.*23, 229-234, 1989
21. Tadir,Y., Wright,W.H., Berns,M.W.: Cell micromanipulation with laser beams G.I.F.T.: From basics to clinics (eds.) Capitanio,G.L., Asch,R.H., DeCecco,L., Croce,S., Raven Press New York, 359-368, 1989
22. Neev,Y., Tadir,Y., Asch,R., Ord,T., Liaw,L.H., Ho,P.S., Berns,M.W.: Zona drilling and partial Zona dissection using femto-, pico-, and nanosecond pulses: a comperative study *SPIE.* 1650, 11, 1992
23. Blanchet,B.B., Russel,J.B., Finscher,C.R., Portman,M.: Laser micromanipulation in mouse embryo. anovel approach to zona drilling *Fertil. Steril.* 57, 1337-1347, 1992
24. Palanker,D., Ohad,S., Lewis,A., Simon,A., Shenkar,J., Penchas,S., Laufer,N.: Technique for cellular microsurgery using the 193 nm Excimer laser *Laser in Surg. and Med.* 11, 580-586, 1991
25. Feichtinger,W., Strohmer,H., Fuhrberg,P., Radivojevic,K., Antoniori,S., Pepe,G., Versaci,C.: Photoablation of oocyte zona pellucida by erbium: Yag laser for in-vitro fertilization in severe male infertility *Lancet* 339, 811, 1992
26. Tadir,Y., Wright,W.H., Vafa,O., Liau,L.H., Asch,R., Berns,M.W.: Micromanipulation of gamets using laser microbeams *Human Reprod.* 6, 1011-1016, 1991
27. Wiegand-Steubing,R., Cheng,S., Wright,W.H., Berns,W.M.: Laser induced cell fusion in combination with optical tweezers: The laser cell fusion trap *Cytometry* 12, 505-510, 1991
28. Berns,W.M., Wright,W.H., Tromberg,B.J., Profeta,G.A., Andrews,J.J., Walter,R.J.: Use of a laser induced optical force trap to study chromosome movement on the mitotic spindle *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86, 4539-4543, 1989