

Obrazowanie OCM w ocenie potencjału rozwojowego oocytów i wczesnych zarodków ssaków

Niepłodność dotyka ok. 15% par w wieku rozrodczym, a jednym z najpopularniejszych obecnie sposobów jej leczenia jest zapłodnienie *in vitro* (IVF). Choć efektywność tej procedury znacząco wzrosła w ostatnich latach (nawet do ok. 50% dla pacjentek poniżej 35 roku życia), nadal jest znacząco (nawet 10-krotnie) niższa w przypadku pacjentek powyżej 35 roku życia. Oprócz znaczenia klinicznego, IVF odgrywa też istotną rolę w praktyce weterynaryjnej: wspomaga rozród zwierząt gospodarskich i zagrożonych wyginięciem. Aby zwiększyć efektywność procedury IVF, stosuje się różne metody oceny zdolności zarodków do rozwoju, wspomagające wybór tych, które po przeniesieniu do macicy biorczyni będą miały największe szanse na pełen rozwój. Celem niniejszego projektu jest zbadanie, czy do oceny jakości zarodków ssaków można wykorzystać optyczną mikroskopię koherencyjną (OCM – *optical coherence microscopy*), nowatorską metodę obrazowania wnętrza żywych komórek. Jako, że wiek oocytów (zarówno ten związany z wiekiem matki, jak i z czasem między owulacją a zapłodnieniem) może negatywnie wpływać na efektywność procedury IVF, obrazowanie OCM zastosujemy nie tylko do młodych oocytów, ale i tych poddanych starzeniu (matczynemu lub poowulacyjnemu). Badania przeprowadzimy na oocytach/zarodkach myszy jako modelowym gatunku w biologii rozwoju.

Oocyty/zarodki myszy będą poddawane obrazowaniu OCM, w celu ustalenia różnych parametrów morfologicznych (układu chromatyny w jądrze, kształtu i lokalizacji wrzeciona podziałowego, rozmieszczenia organelli komórkowych, liczby jąder komórkowych, dynamiki tworzenia się i migracji jąder komórkowych w zygocie), które mogą być wyznacznikami zdolności rozwojowych oocytów/zarodków. Następnie zarodki będą (i) hodowane *in vitro* przez 5 dni – w celu oceny ich zdolności do wczesnego (tzw. przedimplantacyjnego) rozwoju, lub (ii) przenoszone do jajowodów samic biorczyń – w celu oceny zdolności do rozwoju późnego (tzw. poimplantacyjnego). (W przypadku pomiarów na oocytach, oocyty zostaną najpierw poddane zapłodnieniu *in vitro* – jego efektywność także będzie podlegała ocenie). Kolejnym krokiem będzie zbadanie związku między analizowanymi parametrami morfologicznymi a zdolnością zarodków do rozwoju i opracowanie algorytmu, który na podstawie wybranych parametrów pozwoli przewidzieć szanse rozwojowe zarodka. Każdy z testowanych protokołów obrazowania będzie badany pod względem wpływu, jaki wywiera na jakość oocytów/zarodków: porównamy rozwój obrazowanych oocytów/zarodków do rozwoju oocytów/zarodków niepoddanych obrazowaniu. Dzięki temu sprawdzimy, czy obrazowanie OCM jest bezpieczne dla zarodków. W części doświadczeń wykorzystamy, oprócz oocytów pochodzących od młodych samic, także oocyty izolowane od samic w zaawansowanym wieku reprodukcyjnym oraz oocyty poddane starzeniu poowulacyjnemu.

Według naszej wiedzy, nikt nie próbował jeszcze wykorzystać techniki OCM do oceny zdolności rozwojowych oocytów/zarodków ssaków, choć niewątpliwie może ona dostarczyć wielu cennych informacji. We wcześniejszych badaniach wykazaliśmy, że dzięki zoptymalizowaniu protokołów skanowania OCM i protokołów analizy obrazu możemy znacząco poprawić jakość uzyskiwanych obrazów 3D wnętrza komórek, czyniąc je bardziej przydatnymi w ewaluacji jakości oocytów/zarodków. Co więcej, w niniejszym projekcie chcemy zbadać parametry morfologiczne, które nie były jeszcze testowane pod kątem przydatności jako wyznaczniki jakości oocytu/zarodka. Dodatkowo, ponieważ starzenie, zarówno matczyne, jak i poowulacyjne, znacząco wpływa na wiele aspektów funkcjonowania oocytów/zarodków, w naszych badaniach wykorzystamy oprócz oocytów młodych również oocyty poddane starzeniu matczynemu i poowulacyjnemu. Jest to tym ważniejsze, że wpływ starzenia przejawia się w oocytach/zarodkach z różnym natężeniem. Kluczowym jest zatem, by znaleźć sposób pozwalający na odróżnienie oocytów/zarodków o wysokim poziomie zaburzeń wywołanych starzeniem. Biorąc pod uwagę przytoczone powyżej argumenty, jesteśmy zdania, że proponowane w niniejszym projekcie badania dotyczące związku między parametrami morfologicznymi uzyskanymi dzięki OCM a potencjałem rozwojowym oocytów/zarodków będą ważnym wkładem w rozwój embriologii i biologii (a w przyszłości medycyny) reprodukcyjnej.