

Biomechaniczne właściwości trofektodermy jako wskaźnik jakości 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 młodszych pacjentek), nadal jest znacząco (nawet 10-krotnie) niższa w przypadku pacjentek starszych. Oprócz znaczenia klinicznego, IVF odgrywa też istotną rolę w praktyce weterynaryjnej: wspomaga rozród zwierząt gospodarskich i zagrożonych wyginieciem. Aby zwiększyć efektywność procedury IVF, stosuje się różne metody oceny zdolności zarodków do rozwoju, wspomagające wybór tych, które po przeniesieniu do macicy będą miały największe szanse na pełny rozwój. W ramach obecnego projektu planujemy zbadać, czy właściwości biomechaniczne trofektodermy (TE), tkanki zarodkowej uczestniczącej w implantacji zarodka w macicy, mogą służyć jako wskaźnik zdolności rozwojowych zarodków ssaków. Chcielibyśmy również zbadać związek między właściwościami biomechanicznymi TE i cytoszkieletu keratynowego, który, wg. ostatnich danych literaturowych, jest jednym z kluczowych regulatorów różnicowania komórek TE. Wreszcie, ponieważ starzenie, zarówno związane z wiekiem matki (tzw. matczyne), jak i z czasem między owulacją komórki jajowej a zapłodnieniem (tzw. poowulacyjne), znacząco wpływa na skuteczność zabiegu IVF, zbadamy jego wpływ na właściwości biomechaniczne TE i ich użyteczność jako wskaźników jakości zarodka. Badania przeprowadzimy na zarodkach myszy jako modelowym gatunku w biologii rozwoju i rozrodu.

Napięcie korowe TE będzie mierzone za pomocą techniki mikroaspiracji (pomiar ciśnienia koniecznego do odkształcenia za pomocą mikropipety fragmentu TE) i skorelowane ze zdolnością zarodka do implantacji (wpierw zbadaną za pomocą testu *in vitro*, potem sprawdzoną *in vivo*). Dzięki temu będziemy mogli opracować algorytm przewidujący zdolność zarodka do implantacji. Następnie zbadamy związek między napięciem korowym TE a danymi uzyskanymi za pomocą obrazowania poklatkowego (TLI): (i) tempa, w jakim rozrasta się blastocysta (czyli zarodek tuż przed implantacją) oraz (ii) prędkością ruchu cytoplazmy w komórkach TE. Pozwoli nam to znaleźć te parametry uzyskane za pomocą TLI, które w najbardziej wiarygodny sposób odzwierciedlają właściwości biomechaniczne TE. Będą one również skorelowane ze zdolnością zarodka do implantacji, a my spróbujemy opracować wykorzystujące je algorytmy przewidujące zdolność zarodka do implantacji. Najbardziej obiecujące z opracowanych przez nas algorytmów zostaną przetestowane pod kątem bezpieczeństwa zarodków i zweryfikowane na niezależnym zbiorze danych. Ponadto, aby zidentyfikować parametry przydatne w wykrywaniu zarodków, w których cytoszkielet keratynowy nie funkcjonuje prawidłowo, zbadamy właściwości biomechaniczne TE w zarodkach, w których ilość keratyny 8 i 18 została eksperymentalnie obniżona lub podwyższona. Na koniec ocenimy biomechaniczne właściwości TE w zarodkach uzyskanych z oocytów poddanych matczynemu lub poowulacyjnemu starzeniu i zbadamy, czy parametry biomechaniczne mogą służyć jako markery jakości takich zarodków.

Według naszej wiedzy, nikt jeszcze nie próbował wykorzystać pomiarów właściwości biomechanicznych TE metodą mikroaspiracji lub analizy ruchu cytoplazmy w celu oceny potencjału rozwojowego zarodków ssaków. Podejmowano co prawda próby skorelowania dynamiki wzrostu blastocysty z potencjałem rozwojowym zarodka, ale wyniki są niejednoznaczne i nie zweryfikowano, czy analizowane parametry faktycznie odzwierciedlają właściwości biomechaniczne TE. Ponadto, po raz pierwszy podejmiemy próbę znalezienia parametrów, które odzwierciedlają nieprawidłowy cytoszkielet keratynowy w zarodkach. Jest to zadanie nie tylko interesujące, ale i klinicznie istotne, ponieważ defekty cytoszkieletu keratynowego nie mogą być łatwo wykryte za pomocą standardowej analizy tempa podziałów zarodka, a zarodki z niedoborem keratyny obumierają po implantacji. W ostatniej części projektu chcemy zbadać użyteczność parametrów biomechanicznych do oceny jakości zarodków pozyskanych z oocytów poddanych starzeniu matczynemu lub poowulacyjnemu. Starzenie upośledza funkcjonowanie oocytów, a w konsekwencji zarodków, w sposób niejednorodny. Dlatego dla skuteczności IVF niezwykle ważne jest, aby wiarygodnie wyselekcjonować te zarodki, które zachowują najwyższą jakość. Biorąc pod uwagę powyższe argumenty, uważamy, że nasze badania poświęcone zastosowaniu właściwości biomechanicznych TE jako wskaźnika zdolności rozwojowych zarodka będą ważnym wkładem w rozwój embriologii i biologii rozrodu, a w przyszłości mogą przyczynić się do udoskonalenia protokołów oceny zarodków w praktyce klinicznej i weterynaryjnej.