

Optymalny rozwój zarodków to podstawa udanej procedury. Nowoczesne techniki inkubacji

Leczenie niepłodności, szczególnie w najtrudniejszych przypadkach, wymaga nierzadko, aby zapłodnienie oraz najwcześniejsze etapy rozwoju zarodka miały miejsce poza organizmem pacjentki. Zdarza się, że jest to często jedyna metoda uniknięcia problemów uniemożliwiających poczęcie. Rozwój tych technik, zwanych zapłodnieniem *in vitro* (łac. w szkle), długo wiązał się głównie z udoskonalaniem składu stosowanych płynnych podłoży, w których rozwijają się zapłodnione komórki jajowe. Wielokrotne badania umożliwiły dobranie najodpowiedniejszej zawartości poszczególnych składników odżywczych, a także pozwoliły zidentyfikować i usunąć toksyny oraz inne szkodliwe substancje chemiczne, które potencjalnie mogą być w nich zawarte. Obecnie dysponujemy podłożami tzw. hodowlanymi, które w możliwie największym stopniu zaspokajają potrzeby zarodków na wszystkich etapach rozwoju, aż do umieszczenia w macicy (tzw. embriotransferu).



Szalka laboratoryjna zawierająca płynne podłoża wspomagające rozwój zarodków w warunkach *in vitro*.

Dalsza poprawa efektywności procesu dojrzewania zarodków ludzkich wymaga obecnie wprowadzenia w życie spostrzeżeń poczynionych w trakcie ostatnich kilkunastu lat i dotyczących wpływu składu atmosfery, jej czystości oraz stabilności warunków kultury na rozwój zarodka. Warunki uznawane obecnie za optymalne dla dojrzewania *in vitro* odpowiadają środowisku na jakie trafia zarodek przemieszczając się z jajowodu w kierunku macicy, a więc temperatury ciała ludzkiego oraz niewielkiej zawartości tlenu (Leese HJ, 1995; Fisher and Bavister, 1993). Badania przeprowadzone na ludzkich bliźniaczych zarodkach pokazały, że te rozwijające się w atmosferze zawierającej kilku procentową

zawartość tlenu były lepszej jakości (zarówno po 3 jak i 5 dniach) od tych, które hodowano przy zawartości zbliżonej do występującej w powietrzu atmosferycznym (Kovacic B, Vlaisavljević V. 2008). Niższe stężenia tlenu pozwalają komórkom na rozwój zbliżony do tego jaki następuje w organizmie matki (Hooper et al., 2001), a prowadzone do tej pory badania sugerują, że optymalna zawartość tego gazu dla zarodków ludzkich to właśnie 5%. Właśnie dlatego w inkubatorach do procedur IVF, standardowym wyposażeniem jest system umożliwiający obniżenie zawartości tlenu do poziomu zbliżonego do naturalnego.

Aby wykorzystać opisane zależności, konieczne jest jednak, by utrzymać ustalony przez embriologa skład atmosfery na niezmiennym poziomie. Niestety pełna stabilność jest niezwykle trudna do osiągnięcia ze względu na konieczność dokonywania wymiany mediów oraz oceny rozwijających się zarodków, a więc otwierania drzwi i wietrzenia wnętrza urządzenia. W efekcie w przypadku tradycyjnych inkubatorów (z jedną komorą roboczą i pojedynczymi drzwiami), nawet 3,5 godziny w ciągu doby mogą przypadać na okres, w którym wewnątrz panują warunki odbiegające od założonych. Jednym ze sposobów mających na celu ograniczenie tego czynnika jest montaż dodatkowej przegrody wyposażonej w niewielkie drzwiczki dające dostęp do poszczególnych zarodków. Jest to jednak



Opracowanie: Rovers Polska
Red. RK
20.11.2010 r.
Copyright by Rovers Polska

rozwiązanie połowiczne, gdyż i w tym przypadku konieczność wykonania jakichkolwiek czynności na zarodkach jednej pary pacjentów pociąga za sobą zakłócenie parametrów w całej komorze inkubacyjnej. Problemem jest również duża objętość komory inkubatora, która ogranicza szybkość powrotu do pierwotnych parametrów.

Opisane trudności zmusiły projektantów do ponownego przemyślenia konstrukcji inkubatorów. Stwierdzono, że sprostanie wymaganiom stawianym przez najnowsze odkrycia, wymaga stworzenia sprzętu, który od początku do końca wykorzystywany będzie dla potrzeb rozwoju zarodków, zapewni możliwie niezmiennie warunki oraz pozwoli na zminimalizowanie negatywnego wpływu, jaki ma otwieranie inkubatora. Najlepsze efekty w drodze do osiągnięcia tego celu można uzyskać dzięki wykorzystaniu niewielkich, oddzielnych przedziałów (tak jakby osobnych pokoików) przystosowanych do przechowywania niewielkiej liczby szalek z zarodkami (najlepiej każdej pacjentki w osobnym



Inkubator do indywidualnej hodowli zarodków (K-Systems).

przedziale), zamiast jednej komory, w której przechowujemy wszystkie zarodki razem. Takie rozwiązanie zastosowano np. w najnowszym modelu inkubatora o nazwie **G185 (K-Systems, Dania)**. W efekcie, wszelkie działania niezbędne do wykonania czynności dotyczą tylko embrionów pacjentki x, podczas gdy w tradycyjnych konstrukcjach zakłócały się ogólne warunki przechowywania materiału należącego do wszystkich pacjentek. Dodatkowo, ze względu na niewielką objętość każdej komórki, możliwy jest szybszy powrót do właściwej zawartości tlenu oraz dwutlenku węgla w jej wnętrzu. Natomiast zminimalizowanie wahań temperatury, poza zmniejszeniem objętości, wymaga zastosowania wewnątrz przedziałów specjalnych bloków grzewczych, które zapewniają lepszą wymianę ciepła z naczyniem, w którym znajduje się zarodek. Gwarantuje to stabilność temperatury, również w wypadku pojawienia się konieczności otwarcia drzwiczek na dłuższy okres czasu. Opisane rozwiązania sprawiają, że poszczególne przedziały mogą być traktowane jako niezależne inkubatory, przeznaczone tylko i wyłącznie dla jednej pary pacjentów.

Innym z czynników mogących mieć duży wpływ na rozwijające się w inkubatorze zarodki jest obecność toksycznych substancji, wśród których największe znaczenie mają lotne związki organiczne (volatile organic compounds, VOC). Również i dla tego problemu znaleziono rozwiązanie, poprzez zastosowanie filtra HEPA, który na bieżąco oczyszcza powietrze krążące wewnątrz inkubatora, a uzyskana czystość odpowiada najbardziej surowym wymaganiom.

Skuteczność opisanych w niniejszym artykule innowacji oraz ulepszeń, które wprowadzono do konstrukcji nowoczesnych inkubatorów, potwierdzają testy przeprowadzone między innymi w Centro S.T.S. s.r.l. we Włoszech oraz w innych klinikach.



Opracowanie: Rovers Polska
Red. RK
20.11.2010 r.
Copyright by Rovers Polska

Piśmiennictwo i interesujące prace naukowe związane z treścią artykułu:

- *Influence of atmospheric versus reduced oxygen concentration on development of human blastocysts in vitro: a prospective study on sibling oocytes.* Kovacic B, Vlaisavljević V, 2008.
- *Oxygen uptake and carbohydrate metabolism by in vitro derived bovine embryos.* Thompson JG, Partridge RJ, Houghton FD, Cox CI, Leese HJ (1996a). J Reprod Fert 106: 299-306.
- *Oxygen consumption by Day 7 bovine blastocysts: determination of ATP production.* Thompson JG, Partridge RJ, Houghton FD, Kennedy CJ, Pullar D, Leese HJ (1996). Anim Reprod Sci 43: 241-247.
- *Oxygen consumption and energy metabolism of the early mouse embryo.* Franchesca D. Houghton, Jeremy G. Thompson, Christopher J. Kennedy, Henry J. Leese
- *Pyruvate and oxygen consumption throughout the growth and development of murine oocytes.* Sarah E. Harris, Henry J. Leese, Roger G. Gosden and Helen M. Picton
- *Oxygen tension in the oviduct and uterus of rhesus monkeys, hamsters and Rabbits.* B. Fisher & D.B. Bavister, (1993)
- *Reduced oxygen concentration increases mouse embryo development and oxidative metabolism.* Theriogenology 55, 334. Hooper K, Lane M & Gardner DK 2001.
- *A controlled randomized trial evaluating the effect of lowered incubator oxygen tension on live births in a predominantly blastocyst transfer program.* Marius Meintjes, Samuel J. Chantilis, James D. Douglas, Alfred J. Rodriguez, Ali R. Guerami, David M. Bookout, Brian D. Barnett and James D. Madden



Opracowanie: Rovers Polska
Red. RK
20.11.2010 r.
Copyright by Rovers Polska