

ABSTRAKT

Před více jak 35 lety (1978) se ve Velké Británii narodila Louise Brownová, první dítě na světě počaté ve zkumavce – *in vitro* (IVF – in vitro fertilization). Předpokládá se, že do současné doby se narodilo s pomocí IVF již více než 4 000 000 dětí.

První snahy o oplození měly úspěšnost kolem 20%, dnes je ale úspěšnost až dvojnásobná (40%). To je výsledkem zavádění nových metod, standardizace manipulačních a kultivačních médií a v neposlední řadě i získáním řady nových poznatků. I přes zavádění nových metod je základním předpokladem úspěchu IVF profesionální práce pracovníků IVF klinik a IVF laboratoře, jejich znalosti v dané oblasti a schopnost posouzení kvality biologického materiálu. Permanentní trénink na nevyužitém biologickém materiálu (nezralé a méně kvalitní oocyty) a jeho využití k výzkumu, by měly být pak základním předpokladem k tomu, aby příslušná IVF centra mohla zavádět další nové progresivní postupy a zkvalitňovat léčbu infertility. I to je navíc předpokladem pro to, aby bylo možné zodpovědět některé otázky z asistované reprodukce, které nejsou dosud zcela jasně vysvětleny.

V prvním okruhu jsme se zaměřili na posouzení kvality oocytů, které byly získány aspirací folikulů po stimulaci vaječnicků pacientek gonadotropiny. Pro značení protilátkami proti acetylovaným histonům byly použity pouze oocyty, které se nenacházely ve stádiu metafáze II. Naše výsledky dokazují, že oproti jiným druhům (myš), vykazují kondenzované chromosomy pozitivní stupeň acetylace přibližně u 50%. To je oproti myši 10x vyšší hodnota a mohlo by to naznačovat i korelaci s abnormálně vysokým výskytem aneuploidií (humánní oocyty 50-60% vs. myš 5%).

V druhém okruhu jsme zjišťovali, zda oocyty lidí ve stádiu MI (metafáze I) odpoví na ošetření butyrolactonem 1 (BL 1) stejně jako oocyty myši. Tzn., zda vydělí pólové tělísko a v cytoplasmě se vytvoří pseudo-prvojádru replikující DNA. Takto ošetřené oocyty myši pak dosáhly stádia blastocysty a byly z nich i derivovány linie embryonálních kmenových buněk (ESC). Naše předběžné výsledky ukazují stejnou odpověď humánních oocytů na BL 1. Oocyty vydělily pólové tělísko (75-80%) a cytoplasmě bylo patrné pseudo-prvojádru s několika jádřky, které replikovalo DNA. Další dělení byla spíše sporadická. Tyto předběžné pokusy budou dále optimalizovány s cílem získat embrya ve stádiu blastocyst a následně linie hESC.

Poslední tématický okruh byl zaměřen na studium funkce atypických jadérek, která se nacházejí v oocytech s dokončeným růstem a v embryích ve velmi časných stádiích dělení. V asistované reprodukci je diskutována práce, kdy je vývojový potenciál zygot predikován podle počtu a distribuce jadérek v prvojádrech (Hum. Reprod. 14, 1318-1323, 1999). Proč by tomu tak mělo být, nebylo dosud objasněno. Stejně tak je nezbytné uvést, že řada prací se s tímto hodnocením neztotožnila. Naše výsledky podporují racionální podstatu tohoto hodnocení. Jadérka v zygotách jsou absolutně nezbytná pro transformaci chromatinu po oplození a tím i normální průběh dalšího dělení embrya.

Závěr: naše výsledky jasně dokazují užitečnost studia nadbytečného materiálu z klinik asistované reprodukce a možnost jeho dalšího využití. V našem případě se jednalo o oocyty, které nedosáhly stádia metafáze II v době aspirace z folikulů a ve většině klinik jsou likvidovány. Extrapolace výsledků získaných na laboratorních zvířatech do humánní oblasti pak dokazuje, že je nezbytné se znovu věnovat některým metodám hodnocení zygot s cílem následného využití v humánní asistované reprodukci.