

## ІНФОРМАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ В ЗАБЕЗПЕЧЕННІ ЕФЕКТИВНОСТІ ДОПОМІЖНОГО ЛАЗЕРНОГО ХЕТЧИНГУ

С. В. Денисенко

*Клініка проблем планування сім'ї МОЗ України*

У статті проаналізовано проблеми підвищення ефективності використання допоміжного лазерного хетчингу для забезпечення якості роботи IVF лабораторії.

**Ключові слова:** інформаційні технології, допоміжний хетчинг, лазер, ДРТ.

## ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВСПОМОГАТЕЛЬНОГО ЛАЗЕРНОГО ХЕТЧИНГА

С. В. Денисенко

*Клиника проблем планирования семьи МЗ Украины*

В статье проанализированы проблемы повышения эффективности использования вспомогательного лазерного хэтчинга для обеспечения качества работы IVF лаборатории.

**Ключевые слова:** информационные технологии, вспомогательный хэтчинг, лазер, ВРТ.

## INFORMATION TECHNOLOGIES IN PROVIDING OF EFFICIENCY OF ASSISTED LASER HATCHING

S. V. Denysenko

*The Clinic of Human Reproduction Problems, Ministry of Public Health of Ukraine*

In the article the problems of effectiveness increasing of using of assisted laser hatching to enhance the quality of the IVF laboratory were analyzed.

**Key words:** informational technology, assisted hatching, laser, ART.

**Вступ.** Сучасні допоміжні мікрomanipуляції з ембріонами виконують із використанням лазерної системи. Перші роботи з застосування лазера в мікрomanipуляціях із гаметами та ембріонами проведено в 1988 р. Спочатку дослідження впливу лазера на ділянку пелюциду проводили на ооцитах мишей і хом'яків [1, 2, 3, 4]. У 1990 р. завдяки розробкам Д. Коена в клінічну практику впроваджено технологію насічок (штрихування), яка виконується за допомогою лазерної системи (лазерний допоміжний хетчинг) [2].

Лазерний хетчинг вперше використано у 1991 р. [11]. Відомо два варіанти хетчингу за допомогою лазерної системи: 1) безконтактний метод - оболонку ембріона пробивають наскрізь під кутом; 2) контактний метод - припускає використання лазера з дуже коротким променем, який пробиває оболонку і закінчується безпосередньо біля ембріона. Використання лазерної установки значно полегши-

ло проведення цих маніпуляцій і сьогодні є рутинною процедурою.

У перші роки застосування допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) високий відсоток ембріонів з ущільненням зони пелюциду пояснювався відсутністю в культуральних середовищах необхідних для хетчингу лізінів [5]. Для поліпшення показника імплантації ембріонів з ущільненою зоною пелюциду Д. Коен і колеги розробили маніпуляцію допоміжного хетчингу, який є ембріологічною мікрomanipуляцією, в ході якої виконують розсічення або надсічення зони пелюциду ембріона в певній фазі його розвитку для полегшення звільнення від оболонки та підвищення імовірності імплантації [2].

Разом з тим застосування допоміжного хетчингу не завжди буває результативним. За даними літератури, частота вагітності та імплантації ембріонів складає відповідно 51,8 і 26,5% [6].

© С. В. Денисенко

Мета роботи - визначення показників, які зумовлюють ефективність лазерного хетчингу й обґрунтування її підвищення шляхом застосування інформаційних технологій прогнозування наслідків використання хетчингу.

**Основна частина.** Ефективність проведення допоміжного лазерного хетчингу вивчали в Клініці проблем планування сім'ї (КППС) в рамках пілотного дослідження для 25 жінок. Застосовували метод лазерного хетчингу як найефективнішого для роботи з ембріоном.

Для уникнення можливого впливу лазера на ембріон і для згладжування оболонки замість її пробиття застосовували безконтактний метод.

Для допоміжного хетчингу використовували лазерну систему OCTAX Laser Shot, яка включає компоненти: модуль OCTAX Laser Shot; комп'ютер із програмним забезпеченням OCTAX EyeWare; OCTSX Laser Lens; цифрову USB камеру OCTAX Eye; адаптер до мікроскопа.

Процедуру проводили за допомогою 1,48 мм-діодного лазера, який забезпечує швидке й ефективне відкривання зони пелюциду (рис. 1).

Промінь діодного лазера контролювали через оптичну систему мікроскопа та фокусували на цілі. Для даної довжини хвилі немає необхідності у використанні спеціальної оптичної системи і чашок для культивування, використовують чашки для стандартного культивування клітин. У ході процедури відбувався безконтактний вплив лазерного променя.

За допомогою програмного забезпечення OCTAX EyeWare візуалізували й архівували зображення; контролювали роботу мікроскопа, отримували мікроскопічне зображення. Програмне забезпечення системи OCTAX Laser Shot дозволяє здійснювати складні, високотехнологічні мікроманшюляції з клітиною в програмах ДРТ.

Для обчислення прогностичної значущості клінічних ознак у прогнозуванні ефективності лазерного хетчингу застосували критерій Стьюдента у модифікації М. М. Амосова зі співавторами (1975). Суть його полягає у порівнянні частоти несприятливого результату в усіх хворих за наявності досліджуваної ознаки ( $P_1$ ) із середньою частотою несприятливого результату в усіх хворих, обстежених за цим показником ( $P_0$ ). Відповідне математичне значення має вигляд:

$$t = \frac{P - P_0}{\sqrt{m_1^2 + m_0^2}}$$

де  $t$  - інформативність ознаки, бали;  $m_1$  і  $m_0$  - середні похибки величин  $P_1$  і  $P$



**Рис. 1.** Послідовність проведення лазерного хетчингу: фокусування лазера на ділянці пелюциду (а); зона пелюциду після пострілу лазера (б); зона пелюциду після другого пострілу лазера (для збільшення отвору) (в).

Припускали статистичну незалежність ознак (симптомів і синдромів), які застосовували для прогнозування ефективності хетчингу.

Вивчали прогностичну значущість клінічних показників для лазерного хетчингу, згрупованих за факторами (табл. 1).

**Таблиця 1.** Показання до застосування допоміжного хетчингу

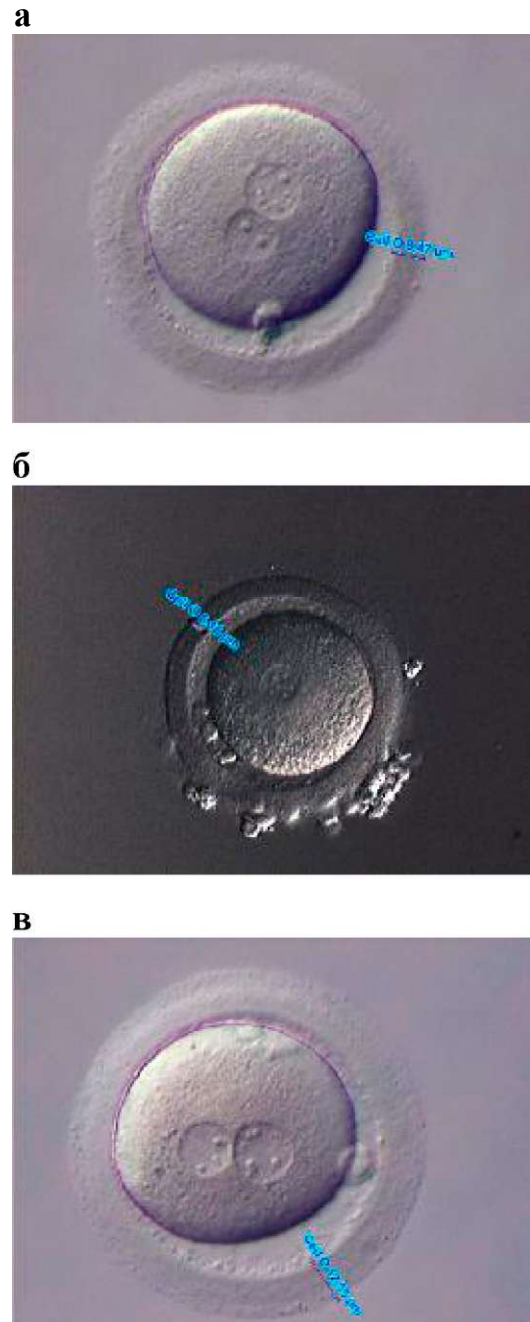
Фактори	Групи
Віковий показник	Жінки > 37 років
Гормональний статус	Підвищений рівень ФСГ в організмі жінки
Якість ембріонів	Ущільнення зони пелюциду, низька швидкість дроблення, високий рівень фрагментації клітин, збільшення перивітелінового простору, атипова форма ембріона
Програми ДРТ	Одна безрезультатна програма ДРТ в КППС* (до впровадження процедури хетчингу); багаторазові безрезультатні спроби (в середньому 4-5) в інших медичних закладах

На першому етапі дослідження визначили інформативність (прогностичну значущість) клінічних ознак для обґрунтування вибору хетчингу. Значущість ознак за критерієм М. М. Амосова зі співавт. дорівнювала: вік пацієнок понад 37 років (інформативність 7,9); попередні невдалі спроби прикріплення ембріона (I=6,8), ембріони з поганими показниками якості (I=6,2); високий рівень фолікулостимулювального гормону росту (I=5,9); куріння (I=5,5).

При сумі балів ризику більше 15 дещо змінювали методику лазерного опромінювання. В результаті проведення лазерного хетчингу для вказаних ембріонів виявлено суттєво підвищений рівень імплантації на перенесений ембріон. Після здійснення процедури в групі з 25 жінок вагітність настала у 17 (68%).

Зауважимо, що отримані дані досить високі. Порівняння отриманих нами результатів із вказаними вище засвідчило суттєве підвищення результативності програми ДРТ при застосуванні допоміжного лазерного хетчингу.

Одним із факторів успішного проведення програм ДРТ є здатність ембріона імплантуватися в стінці матки, що, в свою чергу, залежить від якості самого ембріона та стану зони пелюциду. Як відомо, ооцити та преімплантаційні ембріони оточені захисною двошаровою оболонкою - зоною пелюциду, товщина якої становить 13-15 мкм. Зона пелюциду виконує захисну роль після запліднення природним шляхом, не дозволяючи іншим сперматозоїдам проникнути під неї, а також полегшуючи й оберігаючи транспорт ембріона під час його проходження по маткових трубах. При потраплянні ембріона в порожнину матки ділянка пелюциду стоншується, ембріон звільняється від оболонки, відбувається природний хетчинг - так зване сповзання оболонки і «прокльовування» ембріона. В основі процесу природного хетчингу лежить вироблення літичних ферментів клітинами трофодерми - безпосередньо перед хетчингом трофодерма ембріона експресує трипсин. Успішний результат процесу хетчингу залежить від товщини й еластичності оболонки. У жінок старшої вікової групи товщина і щільність оболонки змінюється, що зумовлено молекулярними змінами в самій оболонці [7, 8] (рис. 2).



**Рис. 2.** Ембріони з різною товщиною зони пелюциду: нормальна зона пелюциду (а); тонка зона пелюциду (б); товста зона пелюциду (в).

На відміну від природного запліднення, в стимульованих циклах у програмах ДРТ спостерігають асинхронність між розвитком ембріона та «вікном» імплантації в ендометрії, при цьому «вікно» імплантації зсувається, відповідно час для імплантації ембріонів обмежений, що може зумовлювати низьку частоту настання вагітності. Постає питання про поліпшення умов імплантації ембріонів після їх перенесення в порожнину матки [9].

#### Література

1. Wassarman P. M. Zona pellucida glycoproteins / P. M. Wassarman // *Ann. Rev. Biochem.* - 1988. - Vol. 57. - P. 415-442.
2. Impairment of the hatching process following IVF in the human and improvement of implantation by assisted hatching using micromanipulation / J. Cohen, C. Elsner, H. Kort [et al.] // *Hum. Reprod.* - 1990. - Vol. 5. - P. 7-13.
3. Hughes D. C. Identification of the true human orthologue of the mouse *Zp* gene: evidence for greater complexity in the mammalian zona pellucida? / D. C. Hughes, C. L. R. Barratt // *Biochem. Biophys. Acta.* - 1999. - Vol. 1447. - P. 303-306.
4. Ebner T. Possible applications of a non\_contact 1.48 mμ wavelength diode laser in assisted reproduction technologies / T. Ebner, M. Moser, G. Tews // *Hum. Reprod. Update.* - 2005. - Vol. 11. - P. 425-435.
5. Cohen J. Advances in methodologies aimed at enhancing the viability of in vitro cultured human embryos / J. Cohen, K. E. Wiemer // *Baillieres Clin. Obstet. Gynaecol.* - 1992. - Vol. 6. - P. 297-311.
6. Implantation enhancement by selective assisted hatching using zona drilling of human embryos with poor prognosis / J. Cohen, M. Alikani, J. Trowbridge, Z. Rosenwaks // *Hum. Reprod.* - 1992. - Vol. 7. - P. 685-691.
7. Laser\_assisted hatching of embryos in women of advanced age after in vitro fertilization: a preliminary report / S. G. Horng, C. L. Chang, H. M. Wu [et al.] // *Chang Gung Med. J.* - 2002. - Vol. 25. - P. 531-537.
8. Zona thinning with a noncontact diode laser in ICSI embryos from women of advanced age / C. G. Petersen, A. L. Mauri, R. L. R. Baruffi [et al.] // *J. Assist. Reprod. Genet.* - 2002. - Vol. 19. - P. 512-516.
9. Assisted hatching on assisted conception (IVF and ICSI) / M. M. W. Seif, E. C. O. Edi-Osagie, C. Farquhar [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* - 2006. - Vol. 1. - CD001894.
10. Clinical application of laser\_assisted ICSI: a pilot study / L. Rienzi, F. Ubaldi, F. Martinez [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* - 2004. - Vol. 115, Suppl. 1. - P. 77-79.
11. Micromanipulation of gametes using laser microbeams / Y Tadir, W. H. Wright, O. Vafa [et al.] // *Hum. Reprod.* - 1991. - Vol. 6. - P. 1011-1016.