

W ciągu ostatniej dekady nastąpił zdecydowany rozwój technik wspomaganego rozrodu, zarówno zwierząt, jak i człowieka. Jedną z nich jest technika zapłodnienia i hodowli zarodków *in vitro*, która mimo prężnego rozwoju nadal posiada wiele ograniczeń. Jednym z nich jest nisza jako produkowanych zarodków, dlatego wybór najlepszej jakości komórek jajowych (oocytów) jest kluczowy w uzyskaniu zarodków o wysokim potencjale rozwojowym. Możliwe jest to dzięki wytypowaniu markerów molekularnych wczesnego rozwoju zarodka, wiadczych o wysokiej jakości oocytów oraz zdolności implantacyjnej i kompetencji rozwojowej zarodków. Grupą czynników, o potencjalnym znaczeniu we wczesnym rozwoju zarodka (zwanym dalej przedimplantacyjnym), są prostanoidy.

Prostanoidy to biologicznie aktywne lipidy, wywołujące swój efekt biologiczny poprzez oddziaływanie z receptorami związanymi z białkami G. Obejmują trzy grupy związków: prostaglandyny, prostacykliny i tromboksany. Prostanoidy są dobrze znanymi mediatorami reakcji zapalnych, ale biorą także udział w fizjologii procesów rozrodczych samicy. Najnowsze doniesienia literaturowe dowodzą również ich udziału w przedimplantacyjnym rozwoju zarodków, dojrzewaniu oocytu oraz w samym procesie implantacji. Niezależne grupy naukowców wykazały obecność enzymów odpowiedzialnych za syntezę prostanoidów w miejscach implantacji zarodka u gryzoni i ludzi. Ponadto, u myszy pozbawionej jednego z genów uczestniczących w syntezie prostanoidów, zaobserwowano zaburzenia w procesach zapłodnienia, implantacji oraz tworzenia siłoska. Dowiedziono także, że zarodki gryzoni pozbawione odpowiednich receptorów, z którymi oddziałują prostanoidy, posiadają defekty związane z formowaniem i wylęganiem blastocyst.

Jednym z kluczowych etapów hodowli zarodków bydli *in vitro* jest prawidłowy przebieg procesu dojrzewania oocytów oraz ekspansji komórek otaczających oocyt, tzw. komórek wzgórka jajonowego. Udowodniono, że prawidłowy przebieg tych procesów u wielu gatunków, w tym u bydła, zależy od prawidłowej syntezy i wydzielania prostanoidów, głównie prostaglandyn E2 i F2, oraz ich receptorów. Wymienione powyżej czynniki ulegają również ekspresji w różnych stadiach rozwojowych zarodków bydła, wskazując na istnienie zależności między sygnałami prostanoidów a kompetencjami rozwojowymi zarodków krowy.

Powyższe dane wskazują na udział prostanoidów w procesie implantacji zarodka u gryzoni i ludzi, jednak niewiele wiadomo na temat udziału prostanoidów w implantacji zarodków u bydła. Biorąc pod uwagę powyższe, celem projektu jest zbadanie potencjalnego wpływu prostanoidów na jakość, wzrost, oraz kompetencje rozwojowe przedimplantacyjnych zarodków bydli *in vitro* oraz określenie, czy profil syntezy i działanie PGI2, PGE2 i PGF2 w zarodkach bydli *in vitro* na różnych etapach rozwoju *in vitro* odzwierciedla jakość komórek jajowych i uzyskanych zarodków. Zbadana zostanie także synteza oraz działanie PGs podczas dojrzewania i hodowli zarodków *in vitro* w okresie przedimplantacyjnym.

W projekcie zaplanowane zostały trzy zadania badawcze. Zadanie 1 polega na określeniu zależności pomiędzy jakością oocytu a profilem syntezy PGs i ekspresji ich receptorów w przedimplantacyjnych zarodkach bydła, na różnych etapach rozwoju *in vitro*. W ramach jego realizacji zostanie określony profil ekspresji wybranych syntaz i receptorów dla PGI2, PGE2 i PGF2 w zarodkach na różnych stopniach ich rozwoju, uzyskanych z oocytów dobrej i złej jakości. Zbadana zostanie również ekspresja markerów zdolności implantacyjnej i kompetencji rozwojowych blastocyst, wyhodowanych z oocytów złej i dobrej jakości oraz koncentracja PGI2, PGE2 i PGF2 w medium pohodowlanym. Zadanie 2 polega na zbadaniu działania prostanoidów podczas dojrzewania oocytów bydli *in vitro*. W celu jego realizacji zostanie wpływ prostanoidów podczas dojrzewania *in vitro* oocytów, na stopień dojrzewania oocytu i ekspresję markerów jakości, ekspansję komórek wzgórka jajonowego i stopień apoptozy w tych komórkach, a także na metabolizm glukozy w kompleksach oocyt-komórki wzgórka jajonowego. Ostatnie zadanie badawcze zakłada określenie wpływu prostanoidów na jakość i potencjał rozwojowy uzyskanych blastocyst. W tym celu do hodowli zarodków *in vitro* dodane zostaną wybrane prostanoidy, w dawkach wybranych we wcześniejszych doświadczeniach. Kompetencje rozwojowe i implantacyjne blastocyst określone zostaną poprzez zbadanie ekspresji wybranych genów.