

## Udział kwasu arachidonowego w kształtowaniu jakości oocytów świni domowej.

### Streszczenie popularnonaukowe.

Świnia domowa jest uznanym gatunkiem modelowym w badaniach z zakresu biotechnologii rozrodu. Zainteresowanie tym gatunkiem wynika m.in. z licznych podobieństw fizjologiczno-anatomicznych do człowieka. Z powodu rosnącego zapotrzebowania na zarodki świni uzyskiwane *in vitro*, dąży się do zwiększenia efektywności procedury kompleksowego ich pozyskiwania (IVM, IVF, IVC). Efektywność stosowanej procedury *in vitro* wyraża się, udziałem zarodków w przedimplantacyjnym stadium blastocysty w stosunku do oocytów poddanych zapłodnieniu (30-40%). Na efektywność procedury istotny wpływ ma potencjał rozwojowy (jakość) oocytu. Jednym z czynników kształtujących jakość oocytów ssaków jest metabolizm lipidów. W przypadku świni dodatkową motywacją do badań metabolizmu lipidów jest ich wyjątkowo wysoka zawartość w oocytach. Lipidy zawarte w oocytach i w płynie pęcherzykowym (np. kwasy tłuszczowe – FA) regulują procesy rozrodcze poprzez m.in. zaangażowanie w gospodarkę hormonalną. Kwas arachidonowy (AA) oraz kwas linolowy stanowią główne składniki błony fosfolipidowej. Duża zawartość AA będącego prekursorem bioaktywnych pochodnych lipidów (prostaglandyny i leukotrieny) może odgrywać znaczącą rolę w procesie dojrzewania oocytów świni. Potwierdzeniem tego może być obserwowana u bydła zmiana stężenia kwasu arachidonowego w świeżych i mrożonych oocytach przed oraz po procesie dojrzewania *in vitro*. Pomimo istotnego zaangażowania lipidów w procesy wzrostu i dojrzewania oocytów, stan wiedzy na temat ich metabolizmu w gametach świni jest ograniczony. Motywację podjęcia niniejszych badań jest chęć wyjaśnienia roli kwasu arachidonowego w kształtowaniu jakości oocytów świni domowej poprzez analizę wybranych ścieżek metabolizmu lipidów podczas dojrzewania *in vitro*.

**Hipoteza badawcza.** Oocyty świni domowej charakteryzuje wysoka zawartość kwasu arachidonowego, prekursora prostaglandyn. Eksperymentalna modyfikacja wybranych ścieżek metabolizmu kwasu AA podczas IVM pozwoli na ocenę jego znaczenia w kształtowaniu potencjału rozwojowego oocytów.

**Cel naukowy projektu:** ocena znaczenia kwasu arachidonowego w kształtowaniu potencjału rozwojowego oocytów świni domowej dojrzewających *in vitro* przy modyfikacji wybranych ścieżek metabolizmu kwasu AA z użyciem szerokiego panelu parametrów charakteryzujących jakość oocytów.

**M&M** Kompleksy oocyt – kumulus (COC) pozyskane z jajników dojrzałych płciowo loszek rzeźnych poddane dojrzewaniu *in vitro* (IVM) w obecności czynników modyfikujących metabolizm kwasu AA. Doświadczenie obejmie 5 grup COC: 1) przed IVM, 2) po IVM w warunkach standardowych (kontrola), 3) po IVM w obecności inhibitora fosfolipazy A<sub>2</sub>, 4) po IVM w przy zahamowanej aktywności cyklooksygenazy, 5) po IVM w pożywce uzupełnionej egzogennym kwasem arachidonowym. Analizowany materiał biologiczny: przed dojrzewaniem *in vitro* [płyn pęcherzykowy (FF), oocyty, komórki pęcherzykowe (FC)], po IVM (oocyty, FC) oraz blastocysty pozyskane 7 dnia po aktywacji chemicznej doświadczalnych oocytów. Zastosowany panel procedur: real-time PCR (ekspresja genów na poziomie mRNA w FC i oocytach przed oraz po IVM), chromatografia gazowa (ilość i profil kwasów tłuszczowych w FF), Elisa (poziom hormonów w FF), barwienia fluoroscencyjne (liczba i powierzchnia kropli lipidowych, średnica w FC oraz oocytach przed oraz po IVM i stadium mejozoocyty w oocytach po IVM).

**Oryginalny wkład niniejszego projektu dotyczy** nowych informacji na temat znaczenia lipidów (głównie kwasu arachidonowego) w kształtowaniu potencjału rozwojowego oocytów świni domowej. Poszerzenie istniejącej wiedzy może pomóc w doskonaleniu procedury dojrzewania oocytów świni *in vitro*, a przez to pozyskiwania zarodków o lepszej jakości.