**Streszczenie prac stanowiących rozprawę doktorską**

Kwas lizofosfatydowy (LPA) jest prostym, naturalnie występującym fosfolipidem, którego działanie biologiczne odbywa się za pośrednictwem transbłonowych receptorów sprzężonych z białkami G (LPARs). Badania na gryzoniach wykazały, że LPA uczestniczy w prawidłowym dojrzewaniu cytoplazmatycznym
i jądrowym komórek jajowych, wpływa na wzrost i różnicowanie blastocyst, a brak funkcjonalnego LPAR3 podczas wczesnej ciąży prowadzi do zaburzeń zapłodnienia, implantacji oraz wczesnej zamieralności zarodków. Dotychczas natomiast brak było
w literaturze danych opisujących możliwość auto- i/lub parakrynnego działania LPA podczas wczesnego rozwoju zarodkowego u krowy.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było zatem określenie, czy kompleksy oocyt-komórki wzgórka jajonośnego (COCs) i zarodki krowy mogą być miejscem syntezy i celem działania LPA (Boruszewska i wsp. 2014, I; Torres i wsp. 2014, II). Ponadto, podjęto się ustalenia roli LPA w procesie dojrzewania oocytów, w aspekcie wpływu badanego kwasu na jakość i kompetencję rozwojową komórek jajowych, proces ekspansji komórek wzgórka jajonośnego, metabolizm glukozy i proces apoptozy w COCs (Boruszewska i wsp. 2014, I; Boruszewska i wsp. 2015, III). Założono również zbadanie wpływu LPA na przedimplantacyjny rozwój zarodka krowy oraz jakość i kompetencję rozwojową uzyskanych *in vitro* blastocyst (Torres i wsp. 2014, II; Boruszewska i wsp. 2015, III).

Uzyskane w dysertacji wyniki wskazują, że komórki jajowe, komórki ziarniste wzgórka jajonośnego i zarodki są miejscem syntezy i celem działania LPA w układzie rozrodczym krowy. Badany kwas zwiększa odsetek oocytów osiągających stadium MII, a tym samym wpływa korzystnie na współczynnik dojrzewania bydlęcych komórek jajowych. Kwas lizofosfatydowy, obecny podczas dojrzewania *in vitro* (IVM), wpływa na ekspresję markerów jakości oraz markerów pluripotencji komórek zarówno
w oocytach jak i komórkach wzgórka, co świadczy o roli LPA w uzyskiwaniu kompetencji rozwojowej bydlęcych komórek jajowych. W trakcie dojrzewania komórek jajowych, LPA hamuje apoptozę w COCs, oddziałuje na proces ekspansji komórek ziarnistych wzgórka oraz wpływa na zmianę metabolizmu glukozy w kierunku glikolizy w bydlęcych COCs. W blastocystach, LPA stymuluje ekspresję markerów jakości oraz markerów pluripotencji komórek, sugerując wpływ kwasu na potencjał rozwojowy zarodków i udział w procesie różnicowania komórek. Badany kwas wpływa na ekspresję czynników zaangażowanych w proces apoptozy w blastocystach, co wskazuje na działanie LPA związane z kontrolą przeżycia na wczesnych etapach rozwoju zarodkowego.

Uzyskane wyniki badań dały podstawę do wysunięcia wniosków, w których stwierdzono, że komórki jajowe, komórki ziarniste wzgórka jajonośnego otaczające dojrzewający oocyt oraz zarodki na różnych etapach rozwoju są miejscem syntezy i celem działania LPA w układzie rozrodczym krowy (Boruszewska i wsp. 2014, I; Torres i wsp. 2014, II). Kwas lizofosfatydowy reguluje również proces dojrzewania komórek jajowych poprzez zwiększenie liczby oocytów osiągających stadium MII oraz wpływ na ekspresję markerów jakości i markerów pluripotencji komórek w oocytach i komórkach wzgórka, ekspansję komórek ziarnistych wzgórka, apoptozę oraz metabolizm glukozy w COCs (Boruszewska i wsp. 2014, I; Boruszewska i wsp. 2015, III). Ponadto, LPA oddziałuje na przedimplantacyjny rozwój zarodka, poprzez wpływ na ekspresję markerów jakości, markerów pluripotencji komórek i czynników zaangażowanych w proces apoptozy
w blastocystach (Torres i wsp. 2014, II; Boruszewska i wsp. 2015, III). Zestawienie aktualnej wiedzy na temat roli LPA podczas dojrzewania komórek jajowych
i przedimplantacyjnego rozwoju zarodków u różnych gatunków zwierząt i człowieka zostało przedstawione w pracy przeglądowej (Boruszewska i in. 2015, IV).

Lysophosphatidic acid (LPA) is a simple, naturally occurring phospholipid.
Its biological actions are mediated by several types of transmembrane G-protein–coupled receptors (LPARs). Studies in rodents have demonstrated that LPA signaling is involved in proper meiotic and cytoplasmic oocyte maturation, has an impact on blastocyst growth and differentiation, whereas targeted deletion of LPAR3 during early pregnancy resulted in fertilization disability, delayed implantation and early embryonic death. Until now, in the literature there was no data characterizing the possibility of LPA auto-/ paracrine action during early embryo development in cow.

The aim of the present study was to define, whether bovine cumulus-oocyte complexes (COCs) and embryos are a site of LPA synthesis and target for its action (Boruszewska i wsp. 2014, I; Torres i wsp. 2014, II). Furthermore, we studied LPA influence on oocyte maturation, in the aspect of the oocyte quality and developmental competence, cumulus expansion, apoptosis and glucose metabolism in COCs (Boruszewska i wsp. 2014, I; Boruszewska i wsp. 2015, III). Finally, we aimed to define the potential role of LPA during the preimplantation embryo development, as well as quality and developmental potential of *in vitro* derived bovine blastocyst (Torres i wsp. 2014, II; Boruszewska i wsp. 2015, III).

Obtained in the dissertation results demonstrated that oocyte, cumulus cells and embryos at different stages of their development are the site of LPA synthesis and the target for its action in the bovine reproductive tract. Lysophosphatidic acid enhanced the number of oocytes that reached MII stage and at the same time improved oocyte maturation rates. The presence of LPA during IVM had an impact on the expression of quality and pluripotency markers either in oocytes or in cumulus cells, which suggest its role in the acquisition of oocyte developmental potential. During oocyte maturation, LPA decreased the extent of apoptosis in COCs, increased cumulus expansion and directed glucose metabolism towards the glycolytic pathway in the bovine COCs. In the blastocysts, LPA stimulated the expression of quality and pluripotency markers, implying its impact on embryo developmental competence and cell differentiation. Lysophosphatidic acid affected the expression of factors involved in apoptosis in the blastocysts, indicating its activity associated with control of early embryo survival.

Summarizing, oocyte, cumulus cells and embryos are the site of LPA synthesis and the target for its action in the bovine reproductive tract (Boruszewska i wsp. 2014, I; Torres i wsp. 2014, II). Furthermore, LPA regulates oocyte maturation through:
the increase of the number of oocytes that reached MII stage; the effect on the expression of quality and pluripotency markers in both oocytes and cumulus cells; cumulus expansion; as well as apoptosis and glucose metabolism in COCs (Boruszewska i wsp. 2014, I; Boruszewska i wsp. 2015, III). Finally, LPA has an impact on preimplantation embryo development *via* its influence on the expression of quality and pluripotency markers as well as factors involved in apoptosis in the blastocysts (Torres i wsp. 2014, II; Boruszewska i wsp. 2015, III).

The comparison of the current knowledge of LPA action during oocyte maturation and preimplantation embryo development in different animal species and in humans has been presented in the review (Boruszewska i in. 2015, IV).