



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0389

Etiológia porúch skorého preimplantačného vývinu

Zodpovedný riešiteľ **MVDr. Dušan Fabian, DrSc.**

Príjemca **Centrum biovied SAV, v. v. i. - Ústav fyziológie hospodárskych zvierat**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Centrum biovied SAV, v. v. i., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

N/A

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

N/A

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. PISKO, Jozef - ŠPIRKOVÁ, Alexandra - ČIKOŠ, Štefan - OLEXIKOVÁ, Lucia - KOVARÍKOVÁ, Veronika - ŠEFČÍKOVÁ, Zuzana - FABIAN, Dušan. Apoptotic cells in mouse blastocysts are eliminated by neighbouring blastomeres. In Scientific Reports, 2021, vol. 11, no. 1, art. no. 9228. (2020: 4.379 - IF, Q1 - JCR, 1.240 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). ISSN 2045-2322. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88752-0>
2. BARAN, Vladimír - PISKO, Jozef. Cleavage of Early Mouse Embryo with Damaged DNA. In International Journal of Molecular Sciences, 2022, vol. 23, no. 7, art. no. 3516. (2021: 6.208 - IF, Q1 - JCR, 1.176 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). ISSN 1422-0067. <https://doi.org/10.3390/ijms23073516>
3. BARAN, Vladimír - MAYER, Alexandra. Checkpoint Kinase 1 Is a Key Signal Transducer of DNA Damage in the Early Mammalian Cleavage Embryo. In International Journal of Molecular Sciences, 2023, vol. 24, no. 7, art. no. 6778. (2022: 5.600 - IF, Q1 - JCR, Q1 - SJR, karentované - CCC). <https://doi.org/10.3390/ijms24076778>
4. FABIAN, Dušan - BABEL'OVÁ, Janka - KŠIŇANOVÁ, Martina - WACZULÍKOVÁ, Iveta - FABIANOVÁ, Kamila - KOPPEL, Juraj. Overweight and fertility: what we can learn from an intergenerational mouse obesity model. In International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, vol. 19, no. 13, art. no. 7918. (2021: 4.614 - IF, Q1 - JCR, 0.814 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). ISSN 1660-4601. <https://doi.org/10.3390/ijerph19137918>
5. KŠIŇANOVÁ, Martina - KOVARÍKOVÁ, Veronika - ŠEFČÍKOVÁ, Zuzana - ŠPIRKOVÁ, Alexandra - ČIKOŠ, Štefan - PISKO, Jozef - FABIAN, Dušan. Different response of embryos

- originating from control and obese mice to insulin in vitro. In *Journal of Reproduction and Development*, 2021, vol. 67, no. 1, p. 25-34. (2020: 2.214 - IF, Q2 - JCR, 0.728 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). ISSN 0916-8818. <https://doi.org/10.1262/jrd.2020-096>
6. ŠEFČÍKOVÁ, Zuzana - BABEL'OVÁ, Janka - KOVAŘÍKOVÁ, Veronika - KOPPEL, Juraj - FABIAN, Dušan. Maternal overweight increased sensitivity of mouse preimplantation embryos to oxidative stress in vitro. In *Reproductive Toxicology : official journal of the European Teratology Society*, 2021, vol. 105, p. 62-71. (2020: 3.143 - IF, Q3 - JCR, 0.845 - SJR, Q2 - SJR, karentované - CCC). ISSN 0890-6238. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2021.08.006>
7. BURKUŠ, Ján - NAVARRETE-SANTOS, A - SCHINDLER, M. - BABEL'OVÁ, Janka - JUNG, JS - ŠPIRKOVÁ, Alexandra - KŠIŇANOVÁ, Martina - KOVAŘÍKOVÁ, Veronika - FISCHER, B. - KOPPEL, Juraj - FABIAN, Dušan - ČIKOŠ, Štefan. Adiponectin stimulates glucose uptake in mouse blastocysts and embryonic carcinoma cells. In *Reproduction*, 2020, vol. 159, no. 3, p. 227-239. (2019: 3.206 - IF, Q2 - JCR, 1.201 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). ISSN 1470-1626. <https://doi.org/10.1530/REP-19-0251>
8. KOVAŘÍKOVÁ, Veronika - ŠPIRKOVÁ, Alexandra - ŠEFČÍKOVÁ, Zuzana - PISKO, Jozef - KALATOVÁ, Laura - KOPPEL, Juraj - FABIAN, Dušan - ČIKOŠ, Štefan. Gamma-aminobutyric acid (GABA) can affect physiological processes in preimplantation embryos via GABA-A and GABA-B receptors. In *Reproductive Medicine and Biology*, 2023, vol. 22, no. 1, art. no. e12528. (2022: 3.400 - IF, Q2 - JCR, Q1 - SJR, karentované - CCC). <https://doi.org/10.1002/rmb2.12528>
9. ŠPIRKOVÁ, Alexandra - KOVAŘÍKOVÁ, Veronika - ŠEFČÍKOVÁ, Zuzana - PISKO, Jozef - KŠIŇANOVÁ, Martina - KOPPEL, Juraj - FABIAN, Dušan - ČIKOŠ, Štefan. Glutamate can act as a signaling molecule in mouse preimplantation embryos. In *Biology of Reproduction*, 2022, vol. 107, no. 4, p. 916-927. (2021: 4.161 - IF, Q2 - JCR, 1.082 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). ISSN 0006-3363. <https://doi.org/10.1093/biolre/iaoac126>
10. MIHALIK, Jozef - KREHEL'OVÁ, A. - KOVAŘÍKOVÁ, Veronika - SOLÁR, Peter - DOMORÁKOVÁ, Iveta - PAVLIUK-KARACHEVTSEVA, Andriana - HLADOVÁ, Alena - RYBÁROVÁ, S. - HODOROVÁ, Ingrid. GPx8 Expression in Rat Oocytes, Embryos, and Female Genital Organs During Preimplantation Period of Pregnancy. In *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 17, art. no. 6313. (2019: 4.556 - IF, Q1 - JCR, 1.317 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). ISSN 1422-0067. <https://doi.org/10.3390/ijms21176313>
11. KREHEL'OVÁ, Andrea - KOVAŘÍKOVÁ, Veronika - DOMORÁKOVÁ, Iveta - SOLÁR, Peter - PASTORNICKÁ, Alena - PAVLIUK-KARACHEVTSEVA, Andriana - RYBÁROVÁ, Silvia - HODOROVÁ, Ingrid - MIHALIK, Jozef. Characterization of Glutathione Peroxidase 4 in Rat Oocytes, Preimplantation Embryos, and Selected Maternal Tissues during Early Development and Implantation. In *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 10, art. no. 5174. (2020: 5.923 - IF, Q1 - JCR, 1.455 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). ISSN 1422-0067. <https://doi.org/10.3390/ijms22105174>

Uplatnenie výsledkov projektu

Na základe získaných výsledkov je možné definovať konkrétne zdravotné riziká v čase preimplantačného vývinu, tzn. v postpartálnom inseminačnom období u hospodárskych zvierat, v období párenia domácich a poľovných zvierat a v období prvého týždňa tehotenstva po in vitro oplodnení u žien. Informácie o mechanizmoch a dopadoch vplyvu materskej nadváhy a materskej intoxikácie insekticídmi (buď vo forme vysokých jednorazových dávok pri veterinárnej prevencii a terapii parazitárnych ochorení alebo vo forme dlhodobu prijímaných nízkych dávok pri konzumácii obilia, zeleniny a ovocia kontaminovaného reziduami insekticídov) by mali napomôcť pri zavádzaní preventívnych opatrení v rámci riadenia živočíšnej produkcie, s cieľom znížiť neustále narastajúci výskyt post-fertilizačnej neplodnosti. Ekonomické straty, ktoré sú dôsledkom tohto javu, je možné znížiť správnym manažmentom výživy a zdravia zvierat v obdobiach pred a po počatí.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Naše výsledky prispeli k rozšíreniu poznatkov o základných fyziologických procesoch v skorých embryách. 1. Dokázali sme, že intaktné embryonálne bunky v myších blastocystách môžu pôsobiť ako neprofesionálne fagocyty a disponujú všetkými mechanizmami

potrebnými na rozpoznanie, pohltenie a strávenie poškodených blastomér. V myších blastocystách je väčšina náhodne sa vyskytujúcich apoptotických buniek eliminovaná susednými embryonálnymi bunkami. Niektoré apoptotické bunky unikajú fagocytóze, ale výskyt tohto javu zvyčajne nepresahuje 10%. 2. Dokázali sme, že myšacia zygota dokáže tolerovať určitý stupeň poškodenia DNA indukovaného pred vstupom do S fázy. Výsledky naznačujú, že v danej situácii je pre zárodok prioritné dokončiť prvé delenie a pokračovať v embryogenéze. Poškodenie DNA však vedie k poruchám segregácie kondenzovaného chromatinu a k tvorbe mikrojadier v neskorších vývinových štádiách.

Ďalej sme skúmali molekulárne mechanizmy, ktorými aktívne ligandy pochádzajúce z materského organizmu (inzulín a adiponektín ako potenciálne mediátory vplyvu materskej obezity na skoré embryo) alebo z vonkajšieho prostredia (embryotoxický insekticíd fironil, blokátor iónového kanála GABA-A receptora) ovplyvňujú preimplantačný vývin. 1. Výsledky štúdie uskutočnenej na obéznych pubertálnych myšiach získaných pomocou dvojgeneračného modelu obezity ukázali, že keď sa eliminujú negatívne účinky hormonálnej stimulácie, starnutia a konzumácie vysoko tukovej diéty, obezitou vyvolané zmeny v kvalitatívnych parametroch zreých oocytov nemusia byť nevyhnutne spojené s poruchou oplodnenia. Blastocysty získané z takýchto embryí však vykazovali zvýšený výskyt apoptotickej bunkovej smrti, zmeny v génovej expresii (signifikantné zvýšenie množstva transkriptov inzulínového receptora) a vznik inzulínovej rezistencie. 2. Dokázali sme, že v myších embryách pôsobí adiponektín ako hormonálny regulátor transportu glukózy, čo je obzvlášť dôležité v prípadoch so zníženou koncentráciou cirkulujúceho inzulínu (napr. u obéznych matiek trpiacich diabetes mellitus 1. typu). 3. Ako prví sme detegovali deväť transkriptov GABA receptora v myších blastocystách a 14 transkriptov GABA receptora v ovulovaných oocytoch. Výsledky in vitro testov naznačujú, že kyselina gama-aminomaslová a syntetické ligandy pre GABA receptory môžu negatívne ovplyvniť vývin preimplantačných embryí prostredníctvom aktivácie receptorov GABA-A aj GABA-B.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

Our results have contributed to the expansion of knowledge about the fundamental physiological processes in early embryos. 1. We have shown that intact embryonic cells can act as non-professional phagocytes and possess all the mechanisms necessary for the recognition, engulfment and digestion of damaged blastomeres. In mouse blastocysts, the majority of incidentally occurring apoptotic cells is eliminated by neighbouring embryonic cells. Some apoptotic cells escape phagocytosis, but the frequency of such processes usually does not exceed 10%. 2. We have shown that mouse zygote can tolerate a certain degree of induced DNA damage before entry to the S- phase and considers its priority to complete the first cleavage stage and continue embryogenesis as far as possible. However, the phenomenon creates a predisposition to a segregation disorder of condensed chromatin that results in the formation of micronuclei at the following developmental stages.

Next, we have investigated the molecular mechanisms by which active ligands originating from the maternal organism (insulin and adiponectin as potential mediators of the effect of maternal obesity on the early embryo) and from the external environment (embryotoxic insecticide fironil, blocker of the ligand-gated ion channel of the GABA-A receptor) influence preimplantation development. 1. The results of study performed on pubertal overweight mice developed in an intergenerational model of obesity showed that when negative effects of superovulation, aging, and high-fat consumption are eliminated, obesity-induced alterations in qualitative parameters of matured oocytes do not necessarily have to be linked to fertilization disorder. Still, blastocysts derived from such oocytes showed an elevated incidence of apoptotic cell death, altered gene expression (a significant increase in the amount of insulin receptor transcripts), and development of insulin resistance. 2. We have shown that in mouse embryos adiponectin acts as a hormonal regulator of glucose uptake, which becomes especially important in phases with reduced levels of circulating insulin (e.g. in obese mothers suffering from type 1 diabetes mellitus). 3. We have detected nine GABA receptor transcripts in mouse blastocysts and 14 GABA receptor transcripts in ovulated oocytes. The results of in vitro tests indicate that GABA and synthetic GABA receptor ligands can negatively affect preimplantation embryos via GABA-A and GABA-B receptors.