

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/62



## ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

### A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

#### 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

<b>Šifra projekta</b>	L3-4162	
<b>Naslov projekta</b>	Izražanje genov v kumulusnih celicah jajčnih foliklov v postopkih zunajtelesne oploditve	
<b>Vodja projekta</b>	12177 Eda Vrtačnik-Bokal	
<b>Tip projekta</b>	L Aplikativni projekt	
<b>Obseg raziskovalnih ur</b>	4218	
<b>Cenovni razred</b>	B	
<b>Trajanje projekta</b>	07.2011 - 06.2014	
<b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>	312 Univerzitetni klinični center Ljubljana	
<b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b>	381 Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta	
<b>Raziskovalno področje po šifrantu ARRS</b>	3	MEDICINA
	3.05	Reprodukcija človeka
<b>Družbeno-ekonomski cilj</b>	07.	Zdravje
<b>Raziskovalno področje po šifrantu FOS</b>	3	Medicinske vede
	3.05	Druge medicinske vede

### B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

#### 2. Povzetek raziskovalnega projekta<sup>1</sup>

SLO

Neplodnost je pomemben javnozdravstveni problem, ki prizadene približno 13 - 15 % parov po celem svetu. Zdravimo jo z zdravili, kirurško in s postopki oploditve z biomedicinsko pomočjo (OBMP). Postopki zunajtelesne oploditve (ZTO) so postali eden najpomembnejših načinov zdravljenja neplodnosti, kljub temu pa je njihova uspešnost omejena.

Večplodna nosečnost je pomembna težava postopkov ZTO, saj obstaja povečano tveganje za razvoj zapletov tako pri ženski kot pri plodu. Zato so se pojavile težnje strokovnjakov za reproduktivno medicino, da bi v postopkih ZTO prenašali en sam zarodek in se s tem izognili negativnim posledicam večplodne nosečnosti. Da bi lahko selektivno prenašali en zarodek, ne da bi s tem znižali uspešnost postopkov ZTO, je treba odkriti zanesljive in objektivne pokazatelje kakovosti zarodkov z visoko sposobnostjo ugnezditve. Trenutno izbor zarodkov za prenos poteka na osnovi subjektivnega ocenjevanja morfoloških parametrov zarodka. Raziskave kažejo, da je ta metoda nezanesljiva in ne napove zadovoljivo razvojnega potenciala jajčne celice in kakovosti zarodka. Zato raziskovalne skupine po celem svetu iščejo nove, objektivne metode za ocenjevanje kakovosti zarodkov.

Kakovostna jajčna celica je predpogoj za oploditev in razvoj zarodka, ki bo sposoben ugnezditve. Celice granuloze (GC) in kumulusa (KC) predstavljajo neposredno okolje jajčne celice med njenim dozorevanjem, interakcija med njimi pa je nujno potrebna za razvoj kakovostne jajčne celice. Zaradi dvosmerne povezave med jajčno celico, GC in KC velja, da GC in KC posredno odražajo kakovost jajčne celice, ki jo obdajajo. Te celice so zato dober material za analizo izražanja genov, ki bi bili lahko neinvazivni in objektivni bioznačevalci za izbor zarodka za prenos v postopkih ZTO. Številne raziskovalne skupine so že objavile gene, ki se izražajo v GC in/ali KC in naj bi bili zanesljivi bioznačevalci kakovostne jajčne celice in zarodka, ki se bo ugnezdil. Predlagani bioznačevalci se med raziskovalnimi skupinami razlikujejo in soglasje na tem področju še ni bilo doseženo.

V postopkih ZTO uporabljamo za spodbujanje jajčnikov gonadotropine, v kombinaciji z antagonistami ali agonisti gonadoliberinov za preprečevanje prezgodnjega vrha luteinizirajočega hormona (LH). Do sedaj še ni bila narejena celostna analiza izražanja genov v KC za ugotavljanje bioznačevalcev, ki napovedujejo razvoj jajčne celice do stopnje blastociste glede na to, ali za preprečevanje LH vrha uporabljamo antagoniste ali agoniste gonadoliberinov.

Osnovni namen naše raziskave je bil s transkriptomsko analizo odkriti genske bioznačevalce v GC in KC, ki bi jih v postopkih ZTO uporabili za napovedovanje uspešne oploditve jajčne celice. Dalje smo želeli odkriti genske bioznačevalce v GC in KC, ki bi jih v postopkih ZTO uporabili za napovedovanje uspešne ugnezditve zarodkov. Opravili smo tudi transkriptomsko analizo KC za ugotavljanje bioznačevalcev, ki napovedujejo razvoj zarodkov dobre kakovosti, pri posameznem protokolu spodbujanja jajčnikov.

ANG

Infertility is a major health problem that affects approximately 13-15 % of couples worldwide. It can be treated by using medications, surgery or assisted reproductive technology (ART). In vitro fertilization (IVF) procedure has become the main choice of therapy for infertility; however, its success is limited.

Multiple gestations are considered a major complication of IVF procedures, as they are associated with higher risk for maternal and fetal / neonatal complications. To prevent adverse outcomes related to multiple pregnancies, elective single embryo transfer (SET) is being increasingly used in IVF procedures. Currently available methods for embryo selection rely almost exclusively on subjective and unreliable morphologic parameters. However, morphological assessment alone does not accurately predict oocyte's developmental potential and embryos with the highest chance of implantation. Objective and reliable markers that could identify embryos with the highest implantation potential and would not compromise the success of IVF procedures in SET are thus being sought by research groups worldwide.

The presence of a mature and quality oocyte is crucial for fertilization and subsequent development of an embryo with the ability to implant. Oocyte maturation and competence are acquired during follicular development where granulosa (GC) and cumulus (CC) cells play an essential role. The oocyte regulates GC and CC functions during folliculogenesis, and indirectly reflect oocyte's competence. Cell functions and active cell processes are regulated through gene expression; therefore, gene expression analysis in GC and/or CC could provide a non-invasive method for the identification of the most competent oocytes and embryos. These cells are easily accessible and discarded during IVF procedures. Several research groups have proposed genes, expressed in GC and/or CC, which could serve as biomarkers of oocyte and successful embryo implantation. The proposed biomarkers, however, differ between the groups, and the consensus about the reliable biomarkers has not yet been reached.

Gonadotrophins in combination with either Gonadotrophin releasing hormone (GnRH) agonists or GnRH antagonists are used to prevent luteinizing hormone (LH) surge in controlled ovarian

stimulation of IVF cycles. So far there is no study which would analyse CC biomarkers for blastocyst development regarding the GnRH analogue used for LH prevention. The aim of our study was to determine potential genetic biomarkers expressed in GC and / or CC that could be used for the prediction of oocyte fertilisation. The process was carried out using microarray analysis. Furthermore, we wanted to determine the potential biomarkers expressed in GC and / or CC that could be used for the prediction of successful embryo implantation in IVF procedures. In our study we also performed transcriptome analysis of CC to find biomarkers for good quality embryos, considering different protocol of ovarian stimulation.

### 3. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu<sup>2</sup>

V prvem delu raziskave smo opravili analizo izražanja genov KC pri dveh terapevtskih protokolih različnih analogov gonadoliberinov. Kumulusne celice so bile analizirane na treh različnih stopnjah jajčne celice: metafaza I jajčne celice (MI), neoplojene metafaza II (MII) jajčne celice (MII-NF) in MII jajčne celice, ki so se v petih dneh od oploditve razvile do stopnje blastociste (MII-BL). Izražanje genov smo analizirali z mikromrežami in opravili dve statistični analizi rezultatov: analizo KC glede na stopnjo zrelosti pripadajoče jajčne celice in analizo KC glede na uporabljen analog gonadoliberinov. Enajst preiskovank je bilo naključno dodeljeno v skupino agonistov gonadoliberinov in 10 preiskovank v skupino antagonistov gonadoliberinov. V raziskavi je bilo skupaj analiziranih 10 vzorcev KC MI, 15 vzorcev KC MII-NF in 21 vzorcev KC MII-BL; skupaj je bilo analiziranih 46 vzorcev KC z mikromrežami.

Nadalje smo testirali gene, ki so se pokazali za napovedne v KC za razvoj kakovostne jajčne celice in jih testirali na posebnem setu vzorcev KC. V raziskavo smo vključili dodatnih 17 preiskovank in pridobili 58 vzorcev KC, ki so pripadali zarodkom dobre ali slabe kakovosti. Opravili smo analizo izražanja genov z RT-PCR ter pridobljene vrednosti uporabili za izdelavo dveh različnih napovednih modelov za napovedovanje kakovosti zarodkov.

V primerjavi izražanja genov KC med agonisti gonadoliberinov in antagonistami gonadoliberinov ni bilo različno izraženih genov. V analizi izražanja genov KC glede na razvojno stopnjo jajčne celice je bilo največ različno izraženih genov med KC MI in KC MII, in sicer 359. Funkcionalna analiza 359 različno izraženih genov je pokazala, da te razlike niso samo v skladu z dosedanjimi raziskavami, ampak ponudijo tudi nove poglede zorenja jajčne celice na molekularnem nivoju. Ugotovili smo, da ima pomembno vlogo pri zorenju jajčne celice tudi izražanje genov, ki so povezani z nevrottransmitterji in njihovimi receptorji. Na osnovi te analize celotnega genoma smo izbrali gene VEGF, FSHR, SERPNE2, AMHR2 in LIF in njihove vrednosti izražanja, pridobljene z RT-PCR v KC, testirali za moč napovedovanja razvoja zarodkov dobre kakovosti. Najboljšo napovedno moč sta imela gena AMHR2 in LIF v kombinaciji, ki sta dosegla  $AUC\ 0,72 \pm 0,08$  za binarno logistični napovedni model in  $AUC\ 0,73 \pm 0,03$  za odločitvena drevesa. V prvem delu raziskave smo potrdili razlike na molekularnem nivoju med KC MI in KC MII. Te razlike niso samo v skladu z dosedanjimi raziskavami, ampak ponudijo tudi nove poglede zorenja jajčne celice na molekularnem nivoju. Do sedaj smo prvi ugotovili, da imajo geni v KC, ki so povezani z nevrottransmitterji pomembno vlogo pri zorenju jajčne celice, kar dosedaj v literaturi še ni bilo opisano.

Glede na rezultate izražanja genov v KC lahko zaključimo, da sta oba uveljavljena protokola spodbujanja, tako z agonisti gonadoliberinov kot tudi z antagonistami gonadoliberinov v kombinaciji z gonadotropini, enakovredna. Med analogoma gonadoliberinov ni razlik v izražanju genov v KC na različnih nivojih zrelosti jajčnih celic. Rezultati na nivoju izražanja genov v KC so skladni s kliničnimi rezultati metaanaliz analogov gonadoliberinov, ki kažejo na enako stopnjo živorojenih otrok. Stopnja zrelosti jajčne celice je glavni dejavnik za oploditev jajčne celice in nastanek zarodka dobre kakovosti. To se izkaže tudi v napovednem modelu za zarodke dobre kakovosti, ki temelji na bioznačevalcih za zrelo jajčno celico. Gena AMHR2 in LIF imata skupaj dobro napovedno moč za napovedovanje razvoja zarodka dobre kakovosti. Ta napovedni model je izviren in po moči primerljiv z dosedaj razvitimi napovednimi modeli za zarodke, vendar po številu genov enostavnejši od do sedaj dostopnih modelov. Zaradi tega je model potencialno uporaben v klinični praksi.

V drugem delu raziskave smo opravili transkriptomsko analizo z mikromrežami na 64 posameznih vzorcih GC in KC, pridobljenih od 21 preiskovank. Naredili smo 2 statistični analizi: analizo razlik v izražanju genov v GC in KC med oplojenimi in neoplojenimi jajčnimi celicami ter analizo razlik v izražanju genov v GC in KC med zarodki, ki so se ugnedili in tistimi, ki se niso. Nadalje smo z metodo kvantitativne verižne reakcije s polimerazo (qPCR) potrjevali genske biooznačevalce nosečnosti v KC, ki so jih predlagale druge raziskovalne skupine. Najprej smo za analizo qPCR uporabili 19 vzorcev KC, katerih zarodki so se ali se niso ugnedili in ki so bili pred tem uporabljeni za analizo z mikromrežami. Dalje smo analizo qPCR izvedli na novih 24 vzorcih KC, pridobljenih od 24 novih preiskovank.

Primerjava globalnega profila izražanja genov v GC in KC oplojenih in neoplojenih jajčnih celic je pokazala, da po popravku za večkratno testiranje hipotez ni bilo različno izraženih genov. Ravno tako ni bilo razlik v izražanju genov v GC in KC med zarodki, ki so se ugnedili in tistimi, ki se niso.

Razlike v izražanju genov na ravni celotnega transkriptoma pa smo našli med GC in KC ne glede na klinični izid postopka ZTO. Različno izraženih je bilo 706 genov; 567 je bilo nadizraženih v GC, 139 pa v KC. S funkcionalnimi analizami različno izraženih genov smo dokazali, da se obogatene funkcionalne poti razlikujejo glede na vrsto celic. V GC so najvišje uvrščeni nadizraženi geni pripadali funkcijam vnetnega in imunskega odziva ter medcelične komunikacije, v KC pa razvoju večceličnega organizma in signalni transdukciji. Poleg tega smo odkrili gena *PROK2*, ki je bil nadizražen v GC, in *PNCK*, ki je bil nadizražen v KC, do zdaj pa še nista bila opisana v GC in KC človeških foliklov.

*PROK2* je bil del genske mreže, ki je povezana z razvojem in delovanjem krvnega sistema zato sklepamo, da bi *PROK2* lahko imel vlogo pri razvoju žilja med folikulogenezo.

Osrednji gen te mreže je bil *TNF*, ki posredno vpliva na *PROK2*. *TNF* med folikulogenezo sodeluje pri razpoku jajčnega folikla, zato je mogoče, da ima v tem procesu vlogo tudi *PROK2*. Gen *PNCK* povzroči inhibicijo signalne poti MAPK, ki sodeluje v procesu zorenja jajčne celice in luteinizacije GC. Iz rezultatov naše raziskave sklepamo, da *PNCK* v KC vzdržuje neaktivnost signalne poti MAPK po končanem procesu zorenja jajčne celice.

V naši raziskavi nismo našli biooznačevalcev nosečnosti in uspešne oploditve jajčne celice. Ta rezultat je različen od predhodno objavljenih rezultatov, pri katerih so bili različni geni predlagani kot biooznačevalci nosečnosti. Rezultat naše raziskave nakazuje, da ima iskanje biooznačevalcev z uporabo mikromrež omejitve, ki vodijo v neponovljivost rezultatov med posameznimi raziskovalnimi skupinami. Zato sklepamo, da bo za iskanje biooznačevalcev, ki bodo uporabni v reproduktivni medicini, treba uporabiti zanesljivejšo metodo, potencialne biooznačevalce pa validirati z neodvisno metodo, preden bi jih lahko uvedli v klinično rabo.

S primerjavo globalnega profila izražanja genov med GC in KC pa smo ugotovili, da obstajajo velike razlike v izražanju genov med obema vrstama celic ne glede na klinični izid postopka ZTO. Tudi obogatene funkcionalne poti, ki jim ti geni pripadajo, se razlikujejo glede na vrsto celic. Odkrili smo gena *PROK2* in *PNCK*, ki do zdaj še nista bila opisana v človeških GC in KC, zato je njuna vloga v procesu folikulogeneze neznana in jo bo treba opredeliti z nadaljnjimi raziskavami. Ti rezultati dodatno prispevajo k razumevanju procesov folikulogeneze na molekularni ravni. Natančno poznavanje procesa folikulogeneze bi lahko v klinični praksi uporabili za optimizacijo postopkov *in vitro* zorenja jajčnih celic.

#### 4. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>3</sup>

V naši raziskavi smo predvidevali, da različna analoga gonadoliberinov ne bosta vplivala različno na razvoj jajčne celice do stopnje oploditve. Glede na rezultate izražanja genov v KC smo ugotovili, da sta oba uveljavljena protokola spodbujanja, tako z agonisti gonadoliberinov kot tudi z antagonistami gonadoliberinov v kombinaciji z gonadotropini, enakovredna. Med analogoma

gonadoliberinov ni razlik v izražanju genov v KC na različnih nivojih zrelosti jajčnih celic. Rezultati na nivoju izražanja genov v KC so skladni s kliničnimi rezultati metaanaliz analogov gonadoliberinov, ki kažejo na enako stopnjo živorojenih otrok.

Stopnja zrelosti jajčne celice je glavni dejavnik za oploditev jajčne celice in nastanek zarodka dobre kakovosti. To se izkaže tudi v napovednem modelu za zarodke dobre kakovosti, ki temelji na biomarkerjih za zrelo jajčno celico. Gena *AMHR2* in *LIF* imata skupaj dobro napovedno moč za napovedovanje razvoja zarodka dobre kakovosti. Ta napovedni model je izviren in po moči primerljiv z dosedaj razvitimi napovednimi modeli za zarodke, vendar po številu genov enostavnejši od do sedaj dostopnih modelov. Zaradi tega je model potencialno uporaben v klinični praksi.

V naši raziskavi smo nadalje želeli najti bioznačevalce za napoved uspešne ugnezditve zarodka, ki nam bi pomagali izbrati najkvalitnejši zarodek za prenos v maternično votlino. Teh bioznačevalcev nosečnosti in uspešne oploditve jajčne celice nismo uspeli določiti. Ta rezultat je različen od predhodno objavljenih rezultatov, pri katerih so bili različni geni predlagani kot bioznačevalci nosečnosti. Rezultat naše raziskave nakazuje, da ima iskanje bioznačevalcev z uporabo mikromrež omejitve, ki vodijo v neponovljivost rezultatov med posameznimi raziskovalnimi skupinami. Zato sklepamo, da bo za iskanje bioznačevalcev, ki bodo uporabni v reproduktivni medicini, treba uporabiti zanesljivejšo metodo, potencialne bioznačevalce pa validirati z neodvisno metodo, preden bi jih lahko uvedli v klinično rabo. S primerjavo globalnega profila izražanja genov med GC in KC pa smo ugotovili, da obstajajo velike razlike v izražanju genov med obema vrstama celic ne glede na klinični izid postopka ZTO. Tudi obogatene funkcionalne poti, ki jim ti geni pripadajo, se razlikujejo glede na vrsto celic. Odkrili smo gena *PROK2* in *PNCK*, ki do zdaj še nista bila opisana v človeških GC in KC, zato je njuna vloga v procesu folikulogeneze neznana in jo bo treba opredeliti z nadaljnjimi raziskavami. Ti rezultati dodatno prispevajo k razumevanju procesov folikulogeneze na molekularni ravni. Natančno poznavanje procesa folikulogeneze bi lahko v klinični praksi uporabili za optimizacijo postopkov *in vitro* zorenja jajčnih celic.

#### 5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine<sup>4</sup>

Ni bilo bistvenih sprememb ne v vsebini projekta, kot tudi ne v sestavi projektne skupine.

#### 6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine<sup>5</sup>

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	903596	Vir: COBISS.SI
	Naslov	<i>SLO</i>	Dinamika razvoja zarodkov pridobljenih z metodo RIMSI
		<i>ANG</i>	Developmental dynamics of IMSI-derived embryos
		Vakuole v spermijih so predeli brez kromatina in lahko kažejo na kromosomsko ali DNK napako v spermijih. V naši raziskavi smo želeli ugotoviti, ali vakuole v spermijih vplivajo na dogodke v zgodnjem razvoju	

	Opis	<p>SLO</p> <p>zarodkov pred implantacijo v maternico. Spermije za injekcijo v citoplazmo jajčne celice smo pod 6000-kratno povečavo razdelili v štiri kategorije, nato smo zgodnje zarodke opazovali s time-lapse mikroskopijo. Zarodki, ki so nastali po injekciji z normalnimi spermiji 1. razreda, brez vakuol, so dosegli 4-celično stopnjo signifikantno hitreje, kot tisti zarodki, po injekciji s spermiji 4. razreda z velikimi vakuolami in drugimi nepravilnostmi (<math>P = 0,012</math>). Blastociste so se tudi najhitreje razvile po injekciji s spermiji 1. razreda. Kromosomske napake spermijev in napake na njihovi DNK imajo najverjetneje vpliv na zgodnji razvoj zarodkov. Naša raziskava je pokazala, da izbor spermijev z normalno morfologijo in brez vakuol pod veliko povečavo lahko izboljša razvoj zgodnjih zarodkov pri bolnikih s slabo morfologijo spermijev. V naši raziskavi smo dinamiko razvoja zgodnjih zarodkov prvič podrobno opazovali pod mikroskopom po uporabi morfološko izbranih spermijev.</p>
		<p>ANG</p> <p>Because sperm vacuoles were marked as zones without chromatin in the sperm nucleus, which may reflect underlying chromosomal or DNA defects, this study considered whether they influence the morphology and dynamics of early developmental events in preimplantation embryos. Oocytes were injected with spermatozoa of four classes, according to the number and size of vacuoles at 6000 magnification, and derived embryos were observed under time-lapse microscopy. For each embryo, the times of pronuclei appearance and disappearance and the first, second and third divisions were determined and related to its respective class of injected spermatozoa and its developmental stage. Embryos arising from normal class-I spermatozoa (without vacuoles) reached the 4-cell stage significantly earlier than embryos developed from class-IV spermatozoa (with large vacuoles and other abnormalities) (<math>P = 0.012</math>). Blastocysts from class-I spermatozoa required the shortest mean time for all developmental events in comparison with blastocysts from spermatozoa of other classes (with vacuoles). Blastocysts also showed significantly earlier first division than arrested embryos in embryos arising from class-I spermatozoa (<math>P = 0.033</math>). An insight into the developmental dynamics of embryo development according to morphology and head vacuoles of injected spermatozoa in morphologically selected sperm-derived embryos was observed for the first time. Sperm chromosomal anomalies and inherent DNA damage may interfere with early stages of zygote formation, syngamy and cell divisions.</p> <p>Because sperm vacuoles were marked as zones without chromatin in the sperm nucleus, which may reflect underlying chromosomal or DNA defects, we considered whether they influence the morphology and dynamics of early developmental events in preimplantation embryos. In this prospective study, oocytes were injected with spermatozoa of four classes according to the number and size of vacuoles at 6000 magnification, and derived embryos were observed by time-lapse microscopy. For each embryo, the times of pronuclei appearance and disappearance and first, second and third divisions were determined and related to its respective class of injected spermatozoa and its developmental stage. Embryos which developed from normally shaped spermatozoa of class I (without vacuoles) reached the 4-cell stage significantly earlier than embryos developed from spermatozoa of class IV (with large vacuoles and other abnormalities). Blastocysts developed from class-I spermatozoa required the shortest average time for all developmental events in comparison with blastocysts developed after injection of spermatozoa of other classes (with vacuoles). Blastocysts also showed significantly earlier first division than arrested embryos in embryos arising from class-I spermatozoa. This study suggests that preselection of spermatozoa under high magnification for intracytoplasmic sperm injection may be important in terms of early embryo developmental dynamics in patients with poor sperm morphology. An insight into the developmental dynamics of embryo development according to morphology and head vacuoles of injected spermatozoa in</p>

			intracytoplasmic morphologically selected sperm injection-derived embryos was observed for the first time.
	Objavljeno v		Reproductive Biomedicine Online.; Reproductive biomedicine online; 2013; Vol. 27, iss. 2; str. 161-171; Impact Factor: 2.980;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.993; A': 1; WoS: SD, WF; Avtorji / Authors: Knez Katja, Tomaževič Tomaž, Vrtačnik-Bokal Eda, Virant-Klun Irma
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
2.	COBISS ID	1995948	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Razlike v izražanju specifičnih genov v kumulusnih celicah kot možni biooznačevalci nosečnosti
		ANG	Specific gene expression differences in cumulus cells as potential biomarkers of pregnancy
	Opis	SLO	Razvoj objektivnega in zanesljivega testa, s pomočjo katerega bi lahko v postopkih zunajtelesne oploditve (ZTO) izbrali zarodek z največjo možnostjo za ugenzditev in nosečnost, ostaja pomemben cilj reporduktivne medicine. Do sedaj so že bili predlagani različni geni, ki se izražajo v celicah kumulusa (KC), in naj bi služili kot biooznačevalci nosečnosti, vendar le-ti večinoma niso bili potrjeni na neodvisni skupini vzorcev. Cilj naše raziskave je bilo z metodo verižne reakcije s polimerazo (qPCR) analizirati izražanje genov EFNB2, RGS2 in VCAN, ki so bili predlagani kot biooznačevalci nosečnosti. Izražanje teh genov smo analizirali v 43 posameznih vzorcih KC, ki smo jih pridobili od 43 preiskovank. Pri vseh preiskovankah smo uporabili enak protokol za spodbujanje jajčnikov in elektivni prenos enega zarodka. Izražanje genov RGS2 in VCAN se med vzorci KC, katerih zarodki so se ugnezdili, in tistimi, ki se niso, ni razlikovalo. Izražanje gena EFNB2 je bilo mejno višje v KC, katerih zarodki se niso ugnezdili. Ta rezultat je nasproten od drugih raziskav, kjer je bilo izražanje EFNB2 večje v KC, katerih zarodki so se ugnezdili. V naši raziskavi nismo potrdili rezultatov prejšnjih raziskav, v katerih so bili geni EFNB2, RGS2 in VCAN predlagani kot biooznačevalci nosečnosti.
		ANG	Development of an objective and accurate test that could help choosing embryos with the highest chance of achieving pregnancy in IVF procedures is an important goal of reproductive medicine. For this purpose, cumulus cells (CC) gene expression is being studied in order to find biomarkers of pregnancy. Several published studies in recent years have proposed potential biomarkers of pregnancy expressed in CC however, the biomarkers proposed have mostly not been validated on an independent set of samples. The aim of this study was to analyse the expression of EFNB2, RGS2 and VCAN, genes that were proposed as biomarkers of pregnancy, in CC by qPCR. Gene expression was evaluated in 43 individual CC samples, derived from a highly homogenous group of 43 women. The same protocol for ovarian stimulation was used for all women and elective single embryo transfer was performed. Expression levels of RGS2 and VCAN did not differ between CC of implanted and non-implanted embryos. EFNB2 showed borderline higher expression in CC of non-implanted embryos, which is contradictory with previous studies. Altogether, we could not replicate the results of previous studies where EFNB2, RGS2 and VCAN were proposed as biomarkers of pregnancy on our set of CC samples.
	Objavljeno v		Reproductive Biomedicine Online.; Reproductive biomedicine online; 2015; Vol. 27, no.; str. 1-7; Impact Factor: 2.980;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.993; A': 1; WoS: SD, WF; Avtorji / Authors: Burnik Papler Tanja, Vrtačnik-Bokal Eda, Maver Aleš, Lovrečić Luca, Peterlin Borut
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

3.	COBISS ID	432044	Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Izražanje genov v kumulusnih celicah glede na zrelost jajčne celice pri nadzorovanem prekomernem spodbujanju jajčnikov z agonisti ali antagonistami gonadoliberinov	
	ANG	Cumulus cells gene expression profiling in terms of oocyte maturity in controlled ovarian hyperstimulation using GnRH agonist or GnRH antagonist	
Opis	SLO	<p>Pri postopkih zunanje telesne oploditve (ZTO) je nadzorovano prekomerno spodbujanje jajčnikov doseženo z gonadotropini v kombinaciji z agonisti ali antagonistami gonadoliberinov, kateri preprečijo spontani vrh luteinizirajočega hormona (LH). Namen naše raziskave je bil izboljšati razumevanje profila izražanja genov kumulusnih celic (KC) glede na uporabljeno zdravljenje spodbujanja jajčnikov in zrelosti jajčne celice. Uporabili smo Affymetrix mikromreže za analizo izražanja genov v KC različno zrelih jajčnih celic, pridobljenih v postopkih ZTO z agonisti ali antagonistami gonadoliberinov. Opravljene sta bile dve analizi: v prvi smo primerjali KC nezrelih metafaza I (MI) in KC zrelih metafaza II (MII) jajčnih celic, kjer je bilo 359 različno izraženih genov in druga, kjer smo opravili primerjavo KC glede na uporabljen analog gonadoliberinov. ni bilo Na nivoju celotnega transkriptom ni bilo različno izraženih genov. Opravili smo dodatno analizo 359 različno izraženih genov, s poudarkom na anti-Müllerjevem hormonskem receptorju 2 (AMHR2), folikel spodbujajočim hormonskim receptorjem (FSHR), žilnim endotelijskim rastnim dejavnikom C (VEGFC) in serin proteaznim inhibitorjem E2 (SERPINE2). Med drugimi različno izraženimi geni smo opazili številne nove gene povezane s celično povezavo in neurotransmiterji, kot dopamin, glicin in <math>\gamma</math>-aminobutirična kislina (GABA). V klinični raziskavi ni bilo signifikantnih razlik v izražanju genov KC v primerjavi med analogoma gonadoliberinov, kar podpira izsledke v enaki stopnji živorojenih otrok med analogoma gonadoliberinov.</p>	
	ANG	<p>In in vitro fertilization (IVF) cycles controlled ovarian hyperstimulation (COH) is established by gonadotropins in combination with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonists or antagonists, to prevent premature luteinizing hormone (LH) surge. The aim of our study was to improve the understanding of gene expression profile of cumulus cells (CC) in terms of ovarian stimulation protocol and oocyte maturity. We applied Affymetrix gene expression profiling in CC of oocytes at different maturation stages using either GnRH agonists or GnRH antagonists. Two analyses were performed: the first involved CC of immature metaphase I (MI) and mature metaphase II (MII) oocytes where 359 genes were differentially expressed, and the second involved the two GnRH analogues where no differentially expressed genes were observed at the entire transcriptome level. A further analysis of 359 differentially genes was performed, focusing on anti-Müllerian hormone receptor 2 (AMHR2), follicle stimulating hormone receptor (FSHR), vascular endothelial growth factor C (VEGFC) and serine protease inhibitor E2 (SERPINE2). Among other differentially expressed genes we observed a marked number of new genes connected to cell adhesion and neurotransmitters such as dopamine, glycine and <math>\gamma</math>-Aminobutyric acid (GABA). No differential expression in CC between the two GnRH analogues supports the findings of clinical studies where no significant difference in live birth rates between both GnRH analogues has been proven.</p>	
Objavljeno v	Public Library of Science; PloS one; 2012; Vol. 7, iss. 10; str. 1-9; Impact Factor: 3.730; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.514; A': 1; WoS: RO; Avtorji / Authors: Devjak Rok, Fon Tacer Klementina, Juvan Peter, Virant-Klun Irma, Rozman Damjana, Vrtačnik-Bokal Eda		
Tipologija	1.01		



		Izvirni znanstveni članek	
4.	COBISS ID	1121708	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Razlike v izražanju genov kumulusnih celic med modificiranim spontanem postopkom in spodbujenem postopkom zunanje telesne oploditve
		ANG	Differences in cumulus cells gene expression between modified natural and stimulated in vitro fertilization cycles
	Opis	SLO	Namen: Namen naše raziskave je bil ali obstajajo razlike v izražanju genov kumulusnih celic zrelih jajčnih celic med modificiranim spontanem postopkom in postopkom z nadzorovanim prekomernim spodbujanjem jajčnikov. Namen je bil tudi, ali tovrstne razlike v izražanju genov kumulusnih celic lahko pomagajo razumeti zakaj imajo modificiran spontani postopek nižjo stopnjo uspešnosti. Metode: Kumulusne celice zrelih jajčnih celic, ki so se razvile do stopnje morule ali blastociste na 5. dan po pridobitvi jajčnih celic, smo analizirali z mikromrežami. Pridobljene rezultate smo validirani s PCR v realnem času. Rezultati: 66 genov je bilo različno izraženih med kumulusnimi celicami modificiranih naravnih postopkov in postopkih zunanje telesne oploditve z nadzorovanim prekomernim spodbujanjem jajčnikov. Analiza genske ontologije je pokazala kot značilno obogatene pri modificiranem naravnem postopkom poti oksidacijsko redukcijskih procesov, glutation metabolnega procesa, ksenobiotičnega metabolnega procesa in gensko izražanje. Med različno izraženimi geni je bila tudi velika skupina malih nukleolarnih RNK (angl. small nucleolar RNAs), čigar vloga v folikulogenezi še ni bila pojasnjena. Zaključki: Povišano izražanje genov vpletenih v oksidacijsko redukcijske procese najverjetneje nakazuje na hipoksične pogoje v modificiranih naravnih postopkih. Te ugotovitve odprejo možnost, da imajo oksidacijsko redukcijski procesi odločujočo vlogo pri uspehu modificiranega naravnega postopka.
		ANG	PurposeThe aim of our study was to determine whether there are any differences in the cumulus cell gene expression profile of mature oocytes derived from modified natural IVF and controlled ovarian hyperstimulation cycles and if these changes could help us understand why modified natural IVF has lower success rates.MethodsCumulus cells surrounding mature oocytes that developed to morulae or blastocysts on day 5 after oocyte retrieval were submitted to microarray analysis. The obtained data were then validated using quantitative real-time PCR.ResultsThere were 66 differentially expressed genes between cumulus cells of modified natural IVF and controlled ovarian hyperstimulation cycles. Gene ontology analysis revealed the oxidation-reduction process, glutathione metabolic process, xenobiotic metabolic process and gene expression were significantly enriched biological processes in MNIVF cycles. Among differentially expressed genes we observed a large group of small nucleolar RNAs whose role in folliculogenesis has not yet been established.ConclusionThe increased expression of genes involved in the oxidation-reduction process probably points to hypoxic conditions in modified natural IVF cycles. This finding opens up new perspectives for the establishment of the potential role that oxidation-reduction processes have in determining success rates of modified natural IVF.
	Objavljeno v	Plenum Press; Journal of assisted reproduction and genetics; 2014; Vol. 31, no. 1; str. 79-88; Impact Factor: 1.772;Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.993; WoS: KM, SD, WF; Avtorji / Authors: Burnik Papler Tanja, Vrtačnik-Bokal Eda, Fon Tacer Klementina, Juvan Peter, Virant-Klun Irma, Devjak Rok	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	

**7.Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine<sup>6</sup>**

Družbeno-ekonomski dosežek		
1.	COBISS ID	1342380 Vir: COBISS.SI
Naslov	SLO	Zbirna stopnja nosečnosti po v celoti dostopnem programu zunajtelesne oploditve
	ANG	Cumulative delivery rate after providing full reimbursement in vitro fertilization programme
Opis	SLO	Od leta 1983 Slovenija zagotavlja dobro uveljavljen, uspešen in v celoti dostopen program zunanje telesne oploditve (ZTO) neplodnim parom. Na podlagi zbranih podatkov v slovenski enoti za zunanjo telesno oploditev, smo želeli opredeliti, ali v celoti dostopen program značilno doprinese k zbirni stopnji nosečnosti (cDR). Longitudinalna analiza za izračun cDR je bila opravljena na 810 postopkih ZTO pri 395 parih, ki so prvič pristopili k postopku ZTO v letu 2006 in smo jih sledili do leta 2012. Izračunali smo dejansko in optimistično cDR. Pri ženskah, starih <38 let je bila dejanska cDR 54% in optimistična cDR 83%. Pri ženskah starih ≥38 let je bila dejanska cDR 24% in optimistična cDR 27%. Na osnovi pridobljenih podatkov lahko zaključimo, da so možnosti za uspeh pri ženskah <38 let, če se udeležijo 6 postopkov ZTO, zelo dobre in primerljive spontani zanositvi. Tudi pri starejših ženskah je smiselno ponavljati postopek ZTO. Menimo, da je obstoječi program zdravljenja neplodnosti v Sloveniji lahko primer dobre medicinske prakse z visokim nivojem dobrobiti za neplodne pare.
	ANG	Since 1983, Slovenia has been offering well-established, successful, and fully reimbursed IVF programme to infertile couples. On the grounds of data gathered at the Slovenian IVF units we aimed to determine whether the fully accessible IVF treatment system can provide notable success considering cumulative delivery rate (cDR). Longitudinal analysis of getting cDR was performed in 810 IVF cycles of 395 couples who for the first time attended the IVF programme in year 2006 and were followed until year 2012. We calculated the actual and the optimistic cDR. In women aged <38 years the actual cDR was 54% and optimistic DR was 83%, respectively. In women aged ≥38 years the actual cDR was 24% and optimistic cDR was 27%. These results enable us to report that prospects of the treatment for the women aged <38 years, if they undergo all 6 available IVF cycles, are very positive and quite comparable to the chances of spontaneous conception. Even in older patients it is beneficial to repeat the IVF procedures. Therefore we consider the existing infertility treatment system in Slovenia as an example of good medical practice with high level of beneficence offered to the patients.
Šifra	F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz
Objavljeno v	Hindawi Pub. Co.; BioMed research international; 2014; Vol. 2013; 8 str.; Impact Factor: 2.706; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.947; WoS: DB, QA; Avtorji / Authors: Vrtačnik Urban, Vrtačnik-Bokal Eda, Devjak Rok	
Tipologija	1.01	Izvorni znanstveni članek

**8.Drugi pomembni rezultati projektne skupine<sup>7</sup>**

No specific gene expression signature in human granulosa and cumulus cells for prediction of oocyte fertilisation and embryo implantation

Da bi preprečili večplodne nosečnosti, ki predstavljajo pomembno težavo postopkov zunajtelesne oploditve (ZTO), potrebujemo objektivne in zanesljive pokazatelje kakovosti zarodkov, ki bodo omogočili selektivni prenos enega zarodka. Med folikulogenezo poteka intenzivna dvosmerna komunikacija med jajčno celico in celicami jajčnega folikla, zato bi lahko profil izražanja genov v folikularnih celicah služil kot bioznačevalec kakovosti jajčnih celic in zarodkov. Cilj naše raziskave je bil odkriti profil izražanja genov v celicah granulose (GC) in kumulusa (KC), ki bi napovedoval uspešno ugnezditev zarodkov in oploditev jajčnih celic. V raziskavo smo vključili 41 preiskovankod katerih smo pridobili posamezne vzorce GC in KC. Jajčne celice smo gojili posamezno, zaradi česar smo poznali izid postopka ZTO za vsako jajčno celico posebej. Vsem ženskam smo naredili elektivni prenos enega zarodka. Analizo izražanja genov smo izvedli z uporabo mikromrež, rezultate smo validirali z metodo verižne reakcije s poliemrazo v realnem času (qPCR). Po popravku za večkratno testiranje hipotez ni bilo pomembno različno izraženih genov (FDR <0,05) med neoplojenimi in oplojenimi jajčnimi celicami, niti med zarodki, ki so se, in tistimi, ki se niso ugnezdili. Rezultati qPCR analize so bili skladni z rezultati analize z mikromrežami, saj ni bilo statistično pomembnih razlik v izražanju genov, ki smo jih izbrali za validacijo. V naši raziskavi nismo našli genov, ki bi lahko služili kot bioznačevalci uspešne oploditve jajčne celice in ugnezditev zarodka.

Sprejeto za PlosOne

## 9.Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine<sup>8</sup>

### 9.1.Pomen za razvoj znanosti<sup>2</sup>

SLO

S funkcionalnimi analizami različno izraženih genov smo dokazali, da se obogatene funkcionalne poti razlikujejo glede na vrsto celic. V granuloznih celicah (GC) so najvišje uvrščeni nadizraženi geni pripadali funkcijam vnetnega in imunskega odziva ter medcelične komunikacije, v kumulusnih celicah (KC) pa razvoju večceličnega organizma in signalni transdukciji. Poleg tega smo odkrili gena PROK2, ki je bil nadizražen v GC, in PNCK, ki je bil nadizražen v KC, do zdaj pa še nista bila opisana v GC in KC človeških foliklov. PROK2 je bil del genske mreže, ki je povezana z razvojem in delovanjem krvnega sistema, zato sklepamo, da bi PROK2 lahko imel vlogo pri razvoju žilja med folikulogenezo. Osrednji gen te mreže je bil TNF, ki posredno vpliva na PROK2. TNF med folikulogenezo sodeluje pri razpoku jajčnega folikla, zato je mogoče, da ima v tem procesu vlogo tudi PROK2. Gen PNCK povzroči inhibicijo signalne poti MAPK, ki sodeluje v procesu zorenja jajčne celice in luteinizacije GC. Iz rezultatov naše raziskave sklepamo, da PNCK v KC vzdržuje neaktivnost signalne poti MAPK po končanem procesu zorenja jajčne celice. Ti rezultati dodatno prispevajo k razumevanju procesov folikulogeneze na molekularni ravni.

ANG

Functional analyses of differentially expressed genes revealed that enriched biological pathways differ according to the cell type. In granulosa cells (GC), the highly expressed genes represent biological functions as inflammatory and immune response and cell communication. In cumulus cells (CC), the highly expressed genes represent biological functions as multicellular organismal development and signal transduction. Furthermore, in the present study we discovered two genes, that had not previously been described in human GC and CC; PROK2, which was highly expressed in GC, and PNCK which was highly expressed in CC,. PROK2 was a part of the gene network connected with haematological system development and function, and for this reason we presume that this gene could have a role in angiogenesis during follicular development. The central gene of this network was TNF. During mammalian ovulation, TNF causes the apoptosis of ovarian surface epithelium and breakdown of the extracellular matrix in the follicle wall allowing the oocyte to be released from the follicle. The connection of PROK2 with TNF might thus indicate that PROK2 is involved in the process of releasing the cumulus-oocyte complex from the follicle at the time of ovulation. PNCK gene inhibits MAPK signalling pathway, whose activation is crucial for final oocyte maturation and GC luteinization. Based on the results of our study we presume that PNCK in CC maintains inactivation of MAPK pathway after the completion of oocyte maturation. These results have upgraded existing data on differentially expressed genes between GC and CC.

--

## 9.2. Pomen za razvoj Slovenije<sup>10</sup>

SLO

Rezultati na nivoju izražanja genov v KC so skladni s kliničnimi rezultati metaanaliz analogov gonadoliberinov, ki kažejo na enako stopnjo živorojenih otrok. Stopnja zrelosti jajčne celice je glavni dejavnik za oploditev jajčne celice in nastanek zarodka dobre kakovosti. To se izkaže tudi v napovednem modelu za zarodke dobre kakovosti, ki temelji na biomarkerjih za zrelo jajčno celico. Gena AMHR2 in LIF imata skupaj dobro napovedno moč za napovedovanje razvoja zarodka dobre kakovosti. Ta napovedni model je izviren in po moči primerljiv z dosedaj razvitimi napovednimi modeli za zarodke, vendar po številu genov enostavnejši od do sedaj dostopnih modelov.

ANG

Regarding the CC gene expression results we confirmed that protocols of ovarian stimulation either combination with GnRH agonists or GnRH antagonists are comparable. There was no CC gene expression difference regarding between different GnRH analogue used on various oocyte maturation stages. These results supports results of metaanalyses of clinical studies which showed non significant difference in live born babies between different GnRH analogue used.

## 10. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!

**Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni**

Cilj		
<b>F.01</b>	<b>Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.02</b>	<b>Pridobitev novih znanstvenih spoznanj</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.03</b>	<b>Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.04</b>	<b>Dvig tehnološke ravni</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.05</b>	<b>Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.06</b>	<b>Razvoj novega izdelka</b>	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.07</b>	<b>Izboljšanje obstoječega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.08</b>	<b>Razvoj in izdelava prototipa</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.09</b>	<b>Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.10</b>	<b>Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.11</b>	<b>Razvoj nove storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.12</b>	<b>Izboljšanje obstoječe storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.13</b>	<b>Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.14</b>	<b>Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.15</b>	<b>Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE

	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.16</b>	<b>Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.17</b>	<b>Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.18</b>	<b>Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.19</b>	<b>Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.20</b>	<b>Ustanovitev novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.21</b>	<b>Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.22</b>	<b>Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.23</b>	<b>Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.24</b>	<b>Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>

	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.25</b>	<b>Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.26</b>	<b>Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.27</b>	<b>Prispevek k ohranjanju/varovanju naravne in kulturne dediščine</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.28</b>	<b>Priprava/organizacija razstave</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.29</b>	<b>Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.30</b>	<b>Strokovna ocena stanja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.31</b>	<b>Razvoj standardov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.32</b>	<b>Mednarodni patent</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.33</b>	<b>Patent v Sloveniji</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.34</b>	<b>Svetovalna dejavnost</b>	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.35</b>	<b>Drugo</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input checked="" type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

**Komentar**

--

**11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!**  
**Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja**

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
<b>G.01</b>	<b>Razvoj visokošolskega izobraževanja</b>					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.02</b>	<b>Gospodarski razvoj</b>					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.03</b>	<b>Tehnološki razvoj</b>					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.04</b>	<b>Družbeni razvoj</b>					



G.04.01.	Dvig kvalitete življenja	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.05.</b>	<b>Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete</b>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.06.</b>	<b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.07</b>	<b>Razvoj družbene infrastrukture</b>					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.08.</b>	<b>Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva</b>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.09.</b>	<b>Drugo:</b>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

**Komentar**

--

**12.Pomen raziskovanja za sofinancerje<sup>11</sup>**

	Sofinancer			
1.	Naziv	Merck Sharp & Dohme inovativna zdravila d.o.o., Šmartinska cesta 140, 1000 Ljubljana		
	Naslov	Šmartinska cesta 140, 1000 Ljubljana		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:	26.018	EUR	
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:	26	%	
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra	
		1. 269835264	A.01	
		2. 1342380	A.01	
		3. 1012652	B.03	
		4. 3677716	A.07	
		5. 1993900	B.03	
	Potrjena je enakovrednost uporabe agonistov in antagonistov gonadoliberinov v kombinaciji z gonadotropini v postopkih zunajtelesne oploditve. Glede na to, da so postopki z antagonistami gonadoliberinov prijaznejši do pacientk in tudi varnejši, je bilo zelo pomembno ugotoviti, da so tudi enako uspešni tako glede stopnje živorojenih otrok kot tudi, da sta analoga gonadoliberinov enakovredni terapevtski možnosti potrjeni tudi			

Komentar	na molekularni ravni. Tako za par, Center za zunajtelesno oploditev kot tudi državo, ki financira te postopke v celoti, kar nas uvršča v sam vrh dostopnosti tako v Evropi kot v svetu, je pomembna tudi uspešnost teh postopkov. Ta uspešnost pa se bistveno povečuje, če pacientke ponavljajo postopke. Znano je, da kar tretjina pacientk odstopi od nadaljnjih postopkov zaradi psiholoških razlogov in težavnosti samega postopka. Kar se tiče težavnosti postopkov se je le ta pomembno znižala z uvedbo kratkih postopkov s kombinacijo antagonistov gonadoliberinov in gonadotropinov. Na začetku uvedbe teh postopkov je obstajal dvom o nižji uspešnosti stopnje žvorojenih otrok, ki pa je sedaj ovržen tako s kliničnimi raziskavami kot tudi z izsledki naše raziskave, ki je potrdila domnevo, da med agonisti in antagonistih gonadoliberinov ni sprememb na nivoju izražanja genov v kumulusnih celicah pripadajočih jajčnih celic.
Ocena	Na začetku uvedbe teh postopkov je obstajal dvom o nižji uspešnosti stopnje žvorojenih otrok, ki pa je sedaj ovržen tako s kliničnimi raziskavami kot tudi z izsledki sofinancirane raziskave, ki je potrdila domnevo, da med agonisti in antagonistih gonadoliberinov ni sprememb na nivoju izražanja genov v kumulusnih celicah pripadajočih jajčnih celic.

### 13. Izjemni dosežek v letu 2014<sup>12</sup>

#### 13.1. Izjemni znanstveni dosežek

#### 13.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek

## C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

### Podpisi:

*zastopnik oz. pooblaščen oseba  
raziskovalne organizacije:*

in

*vodja raziskovalnega projekta:*

Univerzitetni klinični center Ljubljana

Eda Vrtačnik-Bokal

**ŽIG**

Kraj in datum:

Ljubljana

12.3.2015

**Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2015/62**

<sup>1</sup> Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

<sup>2</sup> Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>3</sup> Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

<sup>4</sup> V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>5</sup> Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'. [Nazaj](#)

<sup>6</sup> Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A" ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

<sup>7</sup> Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ni voden v sistemu COBISS). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

<sup>8</sup> Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

<sup>9</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>10</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>11</sup> Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

<sup>12</sup> Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2014 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.arrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2015 v1.00a

46-BF-FF-32-3B-37-E5-51-D6-BF-65-4E-1B-FF-8C-31-BE-E6-AE-89