

# Objetivos

## Objetivos

**L**a finalidad del presente estudio ha sido desarrollar un sistema de selección y maduración in vitro de ovocitos de cabras prepúberes, que permita una eficaz maduración citoplasmática de los ovocitos con mayor competencia para el desarrollo. Para ello, se han formulado los siguientes objetivos concretos:

- 1) Estudiar la utilidad del test de Azul de Cresol Brillante (BCB) como método de selección de ovocitos inmaduros de cabras prepúberes con mayor competencia para la producción in vitro de embriones
- 2) Evaluar el uso de un medio de MIV químicamente definido, basado en la adición de Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF), sobre la maduración nuclear, fecundación y desarrollo embrionario in vitro de ovocitos de cabras prepúberes
- 3) Investigar el efecto de la adición de compuestos tioles (cisteamina,  $\beta$ -mercaptoetanol, cisteína, cistina) al medio de MIV sobre la capacidad de desarrollo de los ovocitos de cabras prepúberes
- 4) Analizar la capacidad de síntesis de glutatión (GSH) intracelular de los ovocitos de cabras prepúberes durante la MIV en presencia o ausencia de compuestos tiol
- 5) Mejorar la producción in vitro de embriones de cabras prepúberes, mediante el uso combinado del test de BCB como método de selección ovocitaria y la presencia de compuestos tiol en el medio de MIV

# **Planteamiento del problema y plan de trabajo**

## Planteamiento del problema y plan de trabajo

**A**nteriormente, hemos mencionado como anomalías más frecuentes tras la FIV de ovocitos de cabras prepúberes la poliespermia, la falta de formación del pronúcleo masculino y la haploidía en embriones de 2-4 células. Entre las posibles causas de estas anomalías de la fecundación detectadas en nuestro laboratorio se plantean las siguientes opciones: a) Que la selección de los ovocitos capaces de soportar una maduración citoplasmática correcta se realice de forma inapropiada, b) que el medio de maduración empleado no asegure una correcta maduración citoplasmática ó c) que los ovocitos de cabras prepúberes no sean competentes para realizarla. A continuación, se plantean las actividades a desarrollar en el presente estudio para analizar la/s causa/s de dicha problemática:

### a) Selección ovocitaria incorrecta

Atendiendo a esta opción, una de las finalidades que se plantearon fue comprobar si se estaba realizando una correcta selección de los ovocitos caprinos en nuestro laboratorio, la cual se ha realizado siempre atendiendo a criterios morfológicos. Dichos criterios no siempre coinciden entre los autores por ser parámetros poco objetivos, lo cual hace difícil la extrapolación de resultados de un laboratorio a otro. Por tanto, se hace necesario un sistema estandarizado de selección de ovocitos para poder optimizar los resultados.

Por esta razón, una de los objetivos planteados fue comprobar si los ovocitos seleccionados mediante un método bioquímico, el test de Azul de Cresol Brillante (BCB), eran capaces de realizar una correcta maduración in vitro. Para llevar a cabo este propósito se diseñó el primer estudio, que lleva por título: SELECCIÓN DE OVOCITOS DE CABRAS PREPÚBERES MEDIANTE EL TEST DE AZUL DE CRESOL BRILLANTE .

### b) Medio de maduración inadecuado

Es esencial definir las condiciones de cultivo de los ovocitos para eliminar variabilidad entre experimentos y alcanzar unos resultados óptimos de desarrollo. En la actualidad, uno de los principales objetivos de diversos estudios sobre PIV de embriones es la estandarización del medio de maduración de ovocitos con medios químicamente definidos. El Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF) es un complemento definido de los medios de maduración que se ha utilizado en diversas especies como la base de estos medios, además de proporcionar notables efectos positivos durante el desarrollo. Teniendo en cuenta estas ventajas, se diseñó el segundo estudio, titulado: PAPEL DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO DURANTE LA MADURACIÓN IN VITRO DE OVOCITOS DE CABRAS PREPÚBERES .

Las anomalías halladas en estudios previos realizados con ovocitos de cabras prepúberes (falta de descondensación de la cabeza del espermatozoide y reducidas tasas de formación de blastocistos) podrían resolverse mediante la adición de ciertos compuestos al medio de MIV. Se ha demostrado que la presencia

de compuestos tiol durante la maduración in vitro mejora los parámetros de fecundación y desarrollo embrionario en varias especies. Por esta razón se diseñó el tercer estudio, que se denomina: EFECTO DE LA ADICIÓN DE COMPUESTOS TIOL DURANTE LA MADURACIÓN SOBRE LA CAPACIDAD DE DESARROLLO DE OVOCITOS DE CABRAS PREPÚBERES .

c) Incompetencia de los ovocitos

Los ovocitos seleccionados mediante un criterio adecuado y madurados en un medio apropiado deberían ser herramientas suficientes para comprobar que los ovocitos de cabras prepúberes son competentes para el desarrollo embrionario in vitro. Para concluir este trabajo de investigación y comprobar la eficacia de los resultados obtenidos en los anteriores estudios se diseñó el cuarto estudio, denominado: OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE EMBRIONES CAPRINOS IN VITRO MEDIANTE EL TEST DE BCB Y LA SUPLEMENTACIÓN DEL MEDIO DE MADURACIÓN CON CISTEAMINA .