

ÍNDICES



- INTRODUCCIÓN** _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.1. Aspectos básicos de la fisiología reproductiva en la coneja ¡Error! Marcador no definido.
- 1.1.1. *Desarrollo folicular* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.1.2. *Maduración ovocitaria* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.1.2.1. *Maduración nuclear o meiótica del ovocito* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.1.2.2. *Maduración citoplasmática* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.1.2.3. *Maduración molecular* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.1.3. *Ovulación y formación del cuerpo lúteo en la coneja* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.1.4. *Transporte de gametos y desarrollo embrionario preimplantacional.* ¡Error! Marcador no definido.
- 1.2. Tratamientos de superovulación _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.2.1. *Factores que afectan a los tratamientos de superovulación* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.2.1.1. *Hembra (raza o línea e individuo)* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.2.1.2. *Tratamiento hormonal: pautas de tratamiento, efectos negativos y composición* ¡Error!
Marcador no definido.
- 1.3. Recuperación de ovocitos y embriones _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.3.1. *Métodos de recuperación de embriones* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.3.2. *Métodos de recuperación de ovocitos* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.4. Crioconservación de ovocitos y embriones _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.4.1. *Factores que afectan a la crioconservación* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.4.1.1. *Procedimiento* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.4.1.2. *Crioprotectores* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.4.1.3. *Otros factores* _____ ¡Error! Marcador no definido.
- 1.4.2. *Crioconservación de ovocitos frente a crioconservación de embriones* ¡Error! Marcador no definido.
- 1.4.3. *El caso del conejo. Crioconservación de embriones* _____ ¡Error! Marcador no definido.

1.5. Valoración de la calidad de embriones y ovocitos ____ **¡Error! Marcador no definido.**

1.5.1. Apariencia morfológica _____ **¡Error! Marcador no definido.**

1.5.2. Actividad metabólica _____ **¡Error! Marcador no definido.**

1.5.3. Expresión génica _____ **¡Error! Marcador no definido.**

1.5.4. Viabilidad _____ **¡Error! Marcador no definido.**

OBJETIVOS _____ **¡Error! Marcador no definido.**

PARTE EXPERIMENTAL _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1. Effect of recombinant gonadotropins on embryo quality in superovulated rabbit does and immune response after repeated treatments _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1.1 Abstract _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1.2. Introduction _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1.3. Materials and methods _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1.3.1. Experiment 1 _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1.3.2. Experiment 2 _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1.4. Results _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1.4.1. Experiment 1 _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1.4.2. Experiment 2 _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1.5. Discussion _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.1.6. References _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.2. Effect of superovulation treatment on rabbit oocyte ATP concentration and developmental competence _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.2.1. Abstract _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.2.2 Introduction _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.2.3. Material and Methods _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.2.4. Results _____ **¡Error! Marcador no definido.**

3.2.5. Discussion _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.2.6. References _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.3. Efficiency of Repeated In Vivo Oocyte and Embryo Recovery After rhFSH treatment in Rabbits _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.3.1. Abstract _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.3.2. Introduction _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.3.3. Material and Methods _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.3.4. Results _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.3.5. Discussion _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.3.6. References _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.4. Dextran vitrification media prevents mucin coat and zona pellucida damage in rabbit embryo _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.4.1. Abstract _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.4.2. Introduction _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.4.3. Material and methods _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.4.4. Results _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.4.5. Discussion _____ ¡Error! Marcador no definido.

3.4.6. References _____ ¡Error! Marcador no definido.

DISCUSIÓN GENERAL _____ ¡Error! Marcador no definido.

CONCLUSIONES _____ ¡Error! Marcador no definido.

REFERENCIAS _____ ¡Error! Marcador no definido.

Figura 1. Esquema del funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-ovario en la coneja.....	22
Figura 2.-Representación del desarrollo folicular y ovocitario.	24
Figura 3. Representación esquemática de la distribución de los orgánulos durante la maduración, fecundación y primer estadio embrionario.....	26
Figura 4. Figura esquemática de la progresión de los ovocitos a través del oviducto durante las primeras 48 horas p.c.....	31
Figura 5. Figura esquemática de la técnica de PCR a tiempo real	62
Figura 6. Experimental design resume. Experiment 3.1.1.....	79
Figura 7. Experimental design resume. Experiment 3.1.2.....	81
Figura 8. Experimental design resume. Experiment 3.2.....	99
Figura 9. Experimental design resume. Experiment 3.3.....	118
Figura 10. Experimental design resume. Experiment 3.4.....	136

Tabla 1.1. Resumen de diferentes protocolos de superovulación mediante el uso de eCG.....	35
Tabla 1.2. Resumen de diferentes protocolos de superovulación mediante el uso de FSH.....	36
Tabla 1.3. Ventajas e inconvenientes de los procesos de congelación y vitrificación.....	48
Tabla 1.4. Principales factores que afectan al éxito del proceso de criopreservación.....	51
Tabla 1.5. Resumen de diferentes protocolos de criopreservación en función del crioprotector utilizado.....	54
Tabla 1.6. Principales estructuras morfológicas observables en los ovocitos.....	57
Tabla 1.7. Principales valoraciones metabólicas en los ovocitos.....	60
Tabla 1.8. Impacto de los diferentes parámetros en abundancia de ARN mensajero en embriones y ovocitos.....	63
Tabla 3.1.1. Effect of embryo production treatment on recovery variables (least square means± standard error).....	82
Tabla 3.1.2. <i>In vitro</i> viability of embryos.....	83
Tabla 3.1.3. Effect of repeated rhFSH treatment (S1 to S4) on ovulation rate and anti-FSH antibody production (least square means±standard error).....	84
Tabla 3.2.1. Effect of superovulation treatment on ovulation rate and number of oocytes recovered (LSM±Standard error).....	101
Tabla 3.2.2. Effect of superovulation treatment and culture temperature on ATP content (LSM±Standard error).....	102
Tabla 3.2.3. Effect of pFSH5 superovulation treatment on developmental competence (LSM±Standard error).....	102

Tabla 3.3.1. Ovulation rate and number of embryos and oocytes collected along the cycle repetitions. LSM (Last square means±standard error).....	119
Tabla 3.3.2. Ovulation rate and number of embryos and oocytes collected after laparoscopy recovery from the two superovulation treatment groups. LSM (Last square means±standard error).....	120
Tabla 3.3.3. Recovery rate along the cycle repetitions. Least square means ± standard error.....	120
Tabla 3.4.1. Vitrification solutions composition.....	134
Tabla 3.4.2. Effect of treatment and vitrification medium on embryo integrity (mean ± standard error).....	138
Tabla 3.4.3. Effect of treatment and vitrification medium on development potential of embryos (mean ± standard error).....	139

Imagen 1. Perfusión del oviducto y cuerno uterino tras su resección mediante laparotomía.....42

Imagen 2. Método de recuperación de embriones y /o ovocitos por laparoscopia.....43

ABREVIATURAS

Ψ_m : Potencial de la membrana

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADNmt: Ácido desoxirribonucleico mitocondrial

ANOVA: Análisis de la varianza

ARN: Ácido ribonucleico

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

AT: Ámpulo-tubárica

ATP: Adenosin trifosfato

BSA: Albúmina sérica bovina

BCB: Azul cresil brillante

COC: Complejo cúmulo-ovocito

DAPI: 4',6-diamino-2-fenilindol

DCF: 2',7'-diclorofluoresceína

DCHF: 2',7'-diclorodihidrofluoresceína

DCHFA: 2',7'-diclorodihidrofluoresceína diacetato

DMSO: Dimetil sulfóxido

eCG: Gonadotropina coriónica equina

EG: Etilenglicol

ELISA: Enzime-linked immunosorbent assay

ER: Embriones recuperados

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura

FSH: Hormona estimulante del crecimiento folicular

G6PDH: Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa

GLM: General linear model

GV: Vesícula germinal

GVBD: Rotura de la vesícula germinal

H₂O₂: Peróxido de oxígeno

hCG: Gonadotropina coriónica humana

IA: Inseminación artificial

ICSI: Inyección intracitoplasmática de espermatozoides

IO: Inducción de ovulación

JC-1: 5,5',6,6'-tetracloro-1,1',3,3'-tetraetilbenzimidazolil

LCA-FITC: Leukocyte Common Antigen- Fluorescein isothiocyanate

LH: Hormona luteinizante

MI: Meiosis I

MII: Meiosis II

MCI: Masa celular interna

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

OR: Ovulation rate

PI: Profase I

PBS: Tampón fosfato salino

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

pFSH: FSH porcina

PROH: 1,2-propanediol

PVA: polivinil alcohol

PVP: Polivinilpirrolidona

p.c.: Post coito

RE: Retículo endoplasmático

ROS: Especies reactivas de oxígeno

rhFSH: FSH recombinante humana

rhLH: LH recombinante humana

TO: Tasa de ovulación

TUNEL: deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP-digoxigenin nick end labeling

UI: Unidades internacionales