

TRABAJOS SELECCIONADOS

FACTOR INMUNOLOGICO EN MUJERES CUYA PAREJA PRESENTA ANTICUERPOS ANTIESPERMATOZOIDES

MOLINA ROSA¹, ESTOFÁN GUSTAVO², KUPERMAN NATALIO², BELTRAMONE FERNANDO², PALENA CELINA², ESTOFÁN DANIEL²

¹ Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR).

² Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción (CIGOR)

Altos títulos de anticuerpos antiespermatozoides (ASAs) en la mujer afectaría la migración espermática por el tracto reproductor femenino y la fertilización del ovocito.

Unas de las teorías relacionadas a la patogénesis de la inmunofertilidad, sería que en hombres con altos títulos de ASAs estos actuarían como desencadenante para que la mujer también produjera ASAs. Los anticuerpos unidos a la superficie del espermatozoide inducirían la producción de INF γ , activando así macrófagos, linfocitos T y linfocitos B productores de ASAs. Otra teoría más reciente propuesta por Clarke (2009), sería que, el sistema inmune de la mujer responde frente a repetidas exposiciones contra esos ASAs produciendo anticuerpos antiidiotipos (acs contra la imagen interna del Ag) potenciando así la respuesta inmune antiespermatozoides: mayor reclutamiento de las células T, activación de Acs reactivos contra el antígeno espermático, reacción cruzada entre Asas y autoanticuerpos femeninos llevando finalmente a una activación del sistema linfocitario B productores de ASAs.

OBJETIVO: Determinar la presencia de ASAs en mujeres que consultaban por fertilidad y cuyos maridos presentaban anticuerpos unidos a sus espermatozoides. Diseño: Estudio Prospectivo de Cohorte.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se solicitó suero a 24 mujeres voluntarias con esposos ASAs positivos. Para la determinación se utilizó como Ag un pool de espermatozoides sin ASAs seleccionados por Swim Up y estos espermatozoides fueron incubados con el suero de la mujer. La valoración de ASAs se realizó un kit comercial "Sperm Mar IgG Anti-Sperm Antibody Test" (Conception Technologies)

RESULTADOS: El 25% de las mujeres (6/24) presentaron una fuerte respuesta inmunológica (> 40%) y el 29% (7/24) una respuesta leve (10 - 40%). Si sumamos ambas respuestas obtenemos que el 54% de las mujeres presentan ASAs positivos.

CONCLUSIÓN: Estos resultados concuerdan con la teoría propuesta por Clarke en la cual espermatozoides con ASAs producirían una respuesta inmune en la mujer.

Debido a la alta incidencia encontrada en este grupo de pacientes, podemos concluir que se debería investigar la presencia ASAs en mujeres cuyas parejas masculinas presenten un factor inmunológico. Estos ASAs podrían ser una causa más que impactaría negativamente en la fertilidad de la pareja.

CORRELACIÓN ENTRE NIVELES DE CÉLULAS NATURAL KILLER Y ESTRADIOL EN MUJERES CON ESTERILIDAD SIN CAUSA

G. JUNOVICH; A. AZPIROZ; V. DUBINSKY ; F. INCIARTE;

A. PASQUALINI; G. GUTIERREZ[*];

Halitus Instituto Médico, Argentina.

OBJETIVO: Niveles adecuados de estradiol y progesterona son esenciales para la correcta preparación del endometrio, la implantación y el mantenimiento de la gestación. Se sabe que existe una regulación hormonal muy importante a nivel local, y que la progesterona en particular, estaría favoreciendo la implantación al regular los niveles de células Natural Killer (NK) endometriales. Sin embargo, niveles supra-fisiológicos de estradiol determinados peri-ovulatoriamente, correlacionan con una menor calidad embrionaria y una menor tasa de implantación. En base a estos antecedentes, decidimos investigar si el recuento de la subpoblación de células NK endometriales y las citoquinas endometriales IL-6 y VEGF están asociados a los niveles sericos de estradiol y progesterona.

DISEÑO: Analítico, observacional, prospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Muestras de tejido endometrial, sangre periférica y suero de 10 mujeres fértiles y 24 pacientes con esterilidad sin causa aparente y fallas de implantación (ESCA-FI), fueron obtenidas 5-8 días post-ovulación. La expresión de células NK fue determinada por citometría de flujo, mientras que las citoquinas VEGF, IL-6, fueron determinadas por

ELISA en los sobrenadantes de cultivos de 48hs de células endometriales y en mononucleares de sangre periférica. Los niveles sericos de estradiol y progesterona fueron medidos por RIA. El análisis estadístico fue por Mann Whitney, prueba t no apareada así como test de Spearman para el estudio de las correlaciones.

RESULTADOS: No existen diferencias significativas en los niveles de estradiol y progesterona entre mujeres fértiles y pacientes ESCA-FI ($p > 0.05$), sin embargo encontramos una correlación positiva y estadísticamente significativa entre los valores del estradiol y el conteo de células NK citotóxicas endometriales (CD9+CD56+CD16+)($r=0,38$; $p=0,03$). Esta correlación no pudo ser demostrada entre los mismos marcadores medidos a niveles periférico ($p > 0.05$). Asimismo, no encontramos correlación entre los niveles de progesterona y NK, IL-6 ni VEGF ($p > 0.05$)

CONCLUSIONES: Aunque los valores sericos de estradiol y progesterona se encuentren en valores normales en pacientes infértiles, estos correlacionan con un conteo exacerbado de células NK citotóxicas endometriales asociados a una mala calidad endometrial.

DESARROLLO DE UN MÉTODO NO SUBJETIVO PARA LA SELECCIÓN DE DONANTES A PARTIR DE CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS FACIALES Y OCULARES

AVENDAÑO CONRADO,1,2[*] CASTILLO LUCÍA,3 DE AZEVEDO SOLEDAD,3 GONZALEZ-JOSÉ ROLANDO 3

¹ LEBE, Puerto Madryn, Chubut, Argentina; ² Nascentis Medicina Reproductiva, Córdoba, Argentina; ³ Centro Nacional Patagónico, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Puerto Madryn, Chubut, Argentina.

OBJETIVO: la utilización de muestras de donantes para técnicas de reproducción asistida es una práctica común dentro de los tratamientos de la infertilidad. En muchos casos, y probablemente por motivos socio-culturales, la pareja indaga en relación a la similitud fenotípica del donante con el "receptor". En la actualidad, ésta semejanza es evaluada con un alto grado de subjetividad por el operario del banco de semen. Por otro lado, la utilización de métodos morfogeométricos ha permitido grandes avances en materia de reconocimiento y estimaciones de similitud facial. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es desarrollar, a partir de análisis estadístico de fenotipos faciales, un protocolo que permita establecer de forma precisa y contrastable, la similitud fenotípica entre un "receptor" y un conjunto de donantes pertenecientes a un banco de semen.

DISEÑO: descriptivo

MATERIALES Y MÉTODOS: a partir de fotografías de 150 participantes, y aplicando técnicas de fotogrametría, se digitalizaron puntos anatómicos faciales que permiten reconstruir la forma tridimensional de la cara de cada individuo. Además de las características faciales se relevaron otros parámetros fenotípicos (altura, peso, etc). El color de ojos fue estudiado a partir de relevar la pigmentación del iris. Un participante (PS) fue elegido al azar y se analizó el porcentaje de similitudes fenotípicas con los demás participantes. Las coordenadas tridimensionales de los puntos faciales fueron sometidas a un protocolo de análisis morfogeométrico consistente en un ajuste generalizado de Procrustes, seguido de un análisis de componentes principales. Las similitudes entre PS y los participantes se realizaron a partir de retículas de deformación morfogeométricas. Las otras variables fenotípicas (peso, estatura, color de ojos, etc.) fueron evaluadas mediante análisis de componentes principales y cálculo de distancias euclidianas.

RESULTADOS: el análisis estadístico de los fenotipos mostró gran variabilidad entre los participantes. PS (el individuo #52) mostró máxima similitud con el individuo #13 (similitud del 77%) y con el individuo #50 (similitud del 63%). Por otro lado, un 84% de los participantes tuvieron menos del 50% de similitud con el participante PS.

CONCLUSIONES: Por primera vez hemos desarrollado un método que permite ofrecer al receptor un mecanismo de selección de donantes con las características fenotípicas deseadas. Este protocolo proporciona una aproximación cuantitativa, estadística y no subjetiva de la semejanza fenotípica entre un posible receptor y un conjunto de donantes determinado. Es-

te método es factible de ser implementado para establecer la similitud fenotípica en procedimientos de selección de donantes de semen y no requiere grandes inversiones en infraestructura, equipamiento, tecnología o recursos humanos.

EFFECTO DE LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA SOBRE LA CALIDAD INMUNOLÓGICA ENDOMETRIAL

A. AZPIROZ [*]; G. JUNOVICH; C. FERRER; A. PASQUALINI; G. GUTIERREZ
Halitus Instituto Médico, Buenos Aires, Argentina.

Actualmente, se utilizan en forma convencional diferentes protocolos de estimulación ovárica controlada (EOC), aunque recientemente se demostró que los altos niveles de estradiol (E2) y progesterona (P4), producto de esta estimulación, podrían afectar la calidad endometrial al momento de la implantación. Hasta la fecha, no existen estudios clínicos que demuestren una asociación directa del efecto hormonal sobre la calidad inmunológica del endometrio. Objetivos: Considerando estos antecedentes, decidimos estudiar y comparar el efecto de la EOC sobre diferentes parámetros inmunológicos y angiogénicos a nivel endometrial y sistémico en mujeres fértiles.

DISEÑO: Analítico, experimental, prospectivo.

MATERIALES & MÉTODOS: Muestras de tejido endometrial y sangre periférica de 10 mujeres fértiles fueron obtenidas 5-8 días post-ovulación, durante 3 ciclos consecutivos: 1. agonista GnRH + FSHr, 2. ciclo natural y 3. agonista GnRH + hMG. La expresión de células NK fue determinada por citometría de flujo, mientras que las citoquinas VEGF, IL-15, IFN γ y TNF α ; fueron determinadas por QPCR. El análisis estadístico fue por ANOVA.

RESULTADOS: Ambos protocolos de EOC incrementan significativamente ($p < 0.05$) los niveles de E2 y P4 respecto a un ciclo natural (CN). La proporción de NK uterinas citotóxicas fue incrementada por ambos protocolos con respecto al CN ($p < 0.05$) en correlación positiva con los valores de E2 ($r = 0.4047$, $p = 0.0265$) y P4 ($r = 0.4323$, $p = 0.0170$). Si bien la proporción de NK angiogénicas se encontró disminuida en ambos casos, los índices de vascularización endometrial (VOCAL Doppler) y los niveles de VEGF no fueron modificados. Se observó un incremento en los niveles de ARNm de las citoquinas IL-15 e IFN γ en el endometrio de mujeres fértiles estimuladas con hMG, respecto a la misma mujer estimulada con FSHr o en un CN ($p < 0.05$).

CONCLUSIONES: Ambos protocolos de EOC muestran un impacto negativo a nivel endometrial que se ve reflejado en una alteración en la proporción de uNK citotóxicas producto de los exacerbados niveles de E2 y P4. La diferencia entre ambos radica en que el uso de hMG mostró niveles significativamente aumentados de una de las principales citoquinas activadoras de células NK (IL-15), así como en los niveles de la citoquina proinflamatoria IFN γ . Ésto podría indicar una mayor activación de ésta población y un real efecto deletéreo a nivel local con el uso de ésta gonadotropina. Son necesarios más estudios para confirmar éstos resultados preliminares.

LOCALIZACIÓN DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS E INVESTIGACIÓN DE OTROS GÉRMEENES EN PACIENTES ASINTOMÁTICOS QUE CONSULTAN POR INFERTILIDAD

ORDOÑEZ JOSE¹, FARFALLI VALERIA¹, TISSERA ANDREA², MOLINA ROSA²
GEORGIETT TERESITA¹

¹ORIGEN. Medicina Reproductiva² Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR).

El factor infeccioso es una de las causas de la infertilidad masculina. La infección bacteriana por Chlamydia trachomatis (Ctr.) se detecta en más de 90 millones de casos anuales en el mundo. Está asociada a uretritis no gonocócicas, posgonocócicas, epididimitis, prostatitis, estenosis de los conductos y orquitis. La influencia de Ctr. y otros agentes infecciosos en los parámetros seminales es controvertida.

DISEÑO: estudio prospectivo.

OBJETIVOS: 1- Evaluar en cual material de estudio hisopado uretral (HU)

o semen (S) es mas óptimo para la investigación de Ctr. en el tracto genital masculino. 2-Correlacionar la presencia de agentes infecciosos Ctr, Ureaplasma urealyticum (Uu), Mycoplasma hominis (Mh) y Gérmenes comunes (Gc) con los parámetros seminales.

MATERIALES Y MÉTODOS: Para la investigación de Gc se realizó cultivos en Agar chocolate (n: 193), Uu y Mh con el Kit comercial Mycofast Evolution II (n: 199); y Ctr. por aislamiento en cultivos celulares en HU y S por separado (n:239). Los parámetros seminales fueron evaluados según OMS 1999. Para contraste de parámetros seminales se utilizó la prueba t. Para diferencias de proporciones, Chi cuadrado y $p < 0.05$ fue estadísticamente significativa.

RESULTADOS: Se aisló Ctr. en HU en un 14.2% y en S en un 10,04%. La positividad conjunta en HU y S fue 16,7%. En éstos pacientes se observó un deterioro significativo en la concentración espermática (CE) ($p = 0.01$); una disminución en la morfología espermática (ME) en ambos materiales siendo significativo solo en los HU positivo ($p = 0.026$). Del total a los que se les hizo el cultivo celular para Ctr. en ambos materiales, el 6.7% fueron positivos solo en HU y negativo en S.

El 4.5 % de los pacientes presentó Mh y el 16,1% Uu, encontrándose en éste grupo mayor concentración de leucocitos /ml ($p = 0.05$). El 33% de los pacientes resultaron positivos en al menos un germen aislado y se observó un deterioro significativo en CE, ME y aumento de leucocitos. ($p = 0.012$; $p = 0.036$; $p = 0.013$ respectivamente).

CONCLUSIÓN: Nuestros resultados sugieren que los materiales de estudio ideales para investigar Ctr. serían HU y S; ya que investigando ambos sitios posibles de localización de Ctr., aumenta así la probabilidad de detección de la misma. La alta incidencia de gérmenes (33%) y el impacto negativo en los parámetros seminales resaltan la importancia de investigar infecciones y la indicación de un tratamiento específico.

ANOMALÍAS UTERINAS: CORRELACIÓN ENTRE HISTEROSALPINGOGRAFÍA VIRTUAL Y RESONANCIA MAGNÉTICA

P. CARRASCOSA [*], C. CAPUÑAY, M. BARONIO, J. VALLEJOS, M. BORGHI, A. VASCONCELOS, J. CARRASCOSA
Diagnóstico Maipú, Vicente López, Argentina.

OBJETIVO: Las anomalías uterinas consisten en variantes anatómicas que se presentan entre el 6.1 y 41.4% de mujeres infértiles. El objetivo de este trabajo es demostrar el rol de la histerosalpingografía virtual en la evaluación de anomalías en correlación con resonancia magnética.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se evaluaron 15 pacientes con diagnóstico de anomalías uterinas por histerosalpingografía virtual y resonancia magnética. Las histerosalpingografías virtuales fueron realizadas con un equipo de 64 filas y las resonancias magnéticas con un resonador cerrado de 1.5 T. Las histerosalpingografías virtuales fueron realizadas con cortes de 0.9 mm cada 0.45 mm de intervalo de reconstrucción, 100 mAs y 120 Kv. Se instiló un volumen de 10 a 20 mL de una solución de contraste diluido al 80% a través de la cánula la cual fue conectada una bomba inyectora. Las resonancias magnéticas se realizaron utilizando secuencias T1, T2 en planos axiales, coronales y sagitales. Las imágenes de histerosalpingografía virtual y resonancia magnética fueron evaluados por 2 radiólogos independientes. Las anomalías fueron clasificadas: 1) útero unicorne 2) útero bicorne: 2a) Unicolis 2b) Bicolis 3) útero septado: 3^a) completo 3b) incompleto 4) útero didelfo 5) útero arcuato.

RESULTADOS: Las histerosalpingografía virtuales fueron realizadas con una dosis de radiación media de 0.9 mSv sin evidenciar ninguna complicación. Dichos estudios detectaron 2 úteros unicorne, 5 úteros bicorne unicolis, 4 úteros bicorne bicolis, 2 úteros septados completos, 2 útero septados incompletos, 1 útero arcuato y 2 úteros didelfos. Los hallazgos de las histerosalpingografías virtuales correlacionaron todos los casos con los obtenidos con la resonancia magnética. La histerosalpingografía virtual así como la resonancia magnética permitió una correcta evaluación de la cavidad uterina y de la pared miometrial.

CONCLUSIONES: la histerosalpingografía virtual muestra excelente correlación con la resonancia magnética en la caracterización de anomalías uterinas, con la ventaja de poseer mayor resolución espacial así como también permitir la evaluación de las trompas de Falopio durante un mismo procedimiento.

IMPORTANCIA DE LA UBICACION EN DONDE SE DEPOSITAN LOS EMBRIONES DENTRO DEL UTERO DURANTE LA TRANSFERENCIA
 C. GRANADOS [¶], M. VIDAL, S. RAO, J. BLAQUIER, A. MARAZZI, C. SANJURJO
 FERTILAB, CABA, Argentina.

OBJETIVO: Comparar los resultados obtenidos cuando transferimos embriones en distintas localizaciones dentro del útero visualizadas por ecografía.

DISEÑO EXPERIMENTAL: Análisis retrospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se analizaron las transferencias uterinas visualizadas por ecografía de pacientes que realizaron 298 ciclos de reproducción asistida. Se distinguieron 3 segmentos: superior, medio e inferior y se observó donde estaba depositada la gota de medio conteniendo los embriones. Se analizaron las tasas de embarazo clínico e implantación según el segmento uterino. El análisis estadístico se realizó utilizando los tests de Student y Chi cuadrado.

RESULTADOS: Para el segmento superior, medio e inferior el número de casos fue: 87, 191, 20; edad materna (en años): 36.4, 35.8, 35.0; media de ovocitos MII recuperados: 5.1, 6.7, 6.4; porcentaje de pacientes que recibieron 2 buenos embriones: 62, 63, 70; media de embriones transferidos: 2.2, 2.0, 2.2; porcentaje de transferencias difíciles: 9.1, 10.4, 9.8; porcentaje de pacientes transferidas con cateter Frydman Soft: 18, 17, 15; No hubo diferencia en ninguno de los parámetros mencionados. Cuando analizamos la tasa de embarazos clínicos los resultados fueron: 32.2, 34.5, 10.0 habiendo diferencia significativa respecto de la ubicación en el segmento inferior. En el caso de la tasa de implantación: 17, 19, 7, hubo diferencia significativa entre el segmento medio y el inferior.

CONCLUSIÓN: La transferencia embrionaria es un paso crucial de las técnicas de reproducción asistida de alta complejidad. Nos interesó estudiar si la ubicación donde se depositaron los embriones dentro del útero influenciaba los resultados del procedimiento. Algunos autores sostienen que el mejor lugar es el tercio uterino superior, mientras que otros encuentran beneficioso realizar la transferencia en el tercio medio hacia la porción inferior. Según los datos expuestos se obtienen mejores resultados cuando la transferencia se realiza en el segmento uterino medio o superior.

UTILIDAD DE LA HORMONA ANTIMULLERIANA COMO PREDICTORA DE HIPERRESPUESTA EN PACIENTES JÓVENES SIN CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE PQO

TERRADO GIL GUILLERMO, OUBIÑA ALEJANDRO, MONTANARI CARLOS, GARCEA MARCELO, KANZEPOLSKY LAURA, DE ZÚÑIGA IGNACIO
 Pregna Medicina Reproductiva, caba, Argentina.

INTRODUCCIÓN: Una de las complicaciones más temidas en los tratamientos de alta complejidad es la hiperestimulación ovárica. Si bien ésta puede evitarse en la mayoría de los casos con acciones preventivas, el poder encontrar algún marcador hormonal que prediga dicho evento nos ayudaría a tal fin.

OBJETIVO: Evaluar que niveles de Hormona Antimulleriana (HAM) se asociaron a un desarrollo folicular múltiple (> de 18 ovocitos captados) con el consiguiente riesgo de hiperestimulación ovárica.

DISEÑO: Retrospectivo – observacional.

MATERIAL Y MÉTODO: Se analizaron retrospectivamente 746 ciclos consecutivos de FIV desde Marzo del 2008 a Marzo de 2010. La estimulación ovárica fue realizada con rFSH, agregando hMG en dosis ajustadas según criterio médico. La totalidad de las pacientes recibieron antagonistas del GnRH (0.25 mg/día) en esquema flexible comenzando entre el 5 y 7 día del ciclo. Todas las pacientes fueron punzadas bajo sedación anestésica y transferidas bajo control ecográfico. Se considero embarazo clínico la presencia de saco intrauterino por estudio ecográfico. Para nuestro análisis, dividimos a las pacientes en dos grupos: Grupo 1: pacientes con ≤ de 17 ovocitos captados en la punción y Grupo 2: pacientes con ≥ 18 ovocitos captados.

RESULTADOS: se compararon los resultados de 707 ciclos incluidos en el Grupo 1 vs 39 en el Grupo 2. La pacientes del Grupo 1 tenían 36.5 ± 4.3 años vs 32.8 ± 3.1 del Grupo 2 (p<0.001). Los valores de FSH basal no

mostraron diferencia significativa (8.4 ± 4.7 vs. 6.6 ± 1.7 pg/ml, p=0.043), pero si encontramos diferencia en la concentración de HAM (1.5 ± 1.2 vs 5.0 ± 1.9, p<0.001) y en el recuento de folículos antrales (7.5 ± 3.4 vs 12.6 ± 4.4, p<0.001). La dosis de inicio de gonadotropinas fue de 301.9 ± 133.8 U/d vs. 252.6 ± 41.7 (p=0.016) y la dosis total utilizada 2908.1 ± 851 U vs. 1702.5 ± 1018.4 (p=0.006).

Encontramos diferencias significativas en el nivel de Estradiol el día de la hCG (2349.2 ± 498.7 vs 2695.1 ± 776.5 pg/ml, p<0.001), la cantidad de ovocitos totales (7.2 ± 4.1 vs 21.5 ± 3.7, p<0.001), la cantidad de ovocitos M2 (5.7 ± 3.4 vs 15.5 ± 3.7, p<0.001), el porcentaje de fertilización (80.3 ± 18.2 vs 72.7 ± 15.8, p<0.05). No hubo diferencias en el número de embriones transferidos (2.2 ± 0.6 vs 2.1 ± 0.4, p=0.2), el porcentaje de casos con al menos un embrión de buena calidad (80.9% vs 92.3%, p=0.07), ni la tasa de embarazo (34.9% vs 39.5%, p=0.5). En ninguno de los 2 grupos se registraron casos de SHEO severo.

CONCLUSIONES: Observamos que los niveles de HAM cercanos a 5 ng/ml en pacientes jóvenes sin diagnóstico establecido de PQO tienen alta probabilidad de hiperrespuestas, con el consiguiente riesgo potencial. En estos casos se debe evaluar muy bien la dosis de inicio de estímulo para de evitar complicaciones.

VALOR PREDICTIVO POSITIVO DE LA ECOGRAFÍA Y LA HISTEROSALPINGOGRAFÍA EN EL ESTUDIO DE LA PAREJA ESTÉRIL

S. CIARMATORI; R. PESCE; M. TRUJILLO; A. SAAVEDRA;
 S. GIL; S. GOGORZA
 Hospital Italiano de Buenos Aires. CABA, Argentina.

INTRODUCCIÓN: La evaluación de la cavidad uterina mediante ecografía e histerosalpingografía (HSG) forma parte de la sistemática de estudio de la pareja estéril. Ante la presencia de imágenes "anormales" se realiza la histeroscopia, que constituye el gold standard para el diagnóstico de patología de la cavidad uterina. En ocasiones, las histeroscopías indicadas por dichas imágenes "anormales" muestran cavidades normales (falsos positivos, FP). **Objetivos:** determinar con qué frecuencia imágenes "anormales" por ecografía o HSG en pacientes con problemas reproductivos, se corresponden con cavidades uterinas normales en la histeroscopías (valor predictivo positivo, VPP) e identificar si esta situación se asocia a algún tipo de imagen particular.

DISEÑO: estudio retrospectivo descriptivo.

MATERIAL Y MÉTODO: se incluyeron todas las histeroscopías cuya indicación fuera el hallazgo de una imagen anormal de la cavidad uterina y/o del canal cervical en la ecografía y/o la HSG, durante la evaluación por esterilidad. Se definieron como imágenes ecográficas anormales los engrosamientos focales, imágenes hiperecogénicas en endometrio y miomas submucosos; y en la HSG, defectos de relleno de la cavidad uterina, irregularidades de la pared y los "stops" del canal cervical. En este grupo, se identificaron todas las histeroscopías que informaban cavidad normal y se analizaron las imágenes que habían dado origen a la indicación del procedimiento.

RESULTADOS: entre oct 1998 y nov 2010 se realizaron 693 histeroscopías a pacientes con problemas reproductivos, de las cuales 508 se indicaron por imágenes anormales en la ecografía y/o HSG. De ellas, 135 (26,5%) no presentaron alteraciones de la cavidad o del canal en la histeroscopia. El VPP de la ecografía y la HSG en forma combinada fue 73%. Las imágenes ecográficas que se asociaron más frecuentemente a FP correspondieron a engrosamiento focales < 10 mm y en la HSG, los defectos de relleno de cavidad.

CONCLUSIONES: la ecografía y la HSG forman parte del screening inicial de la mujer en el estudio por esterilidad. La presencia de imágenes anormales obliga a la evaluación histeroscópica, para confirmar o descartar su existencia. Nuestros resultados encuentran un VPP (73%) más bajo que el reportado en otros estudios publicados (90 a 100%). Es importante considerar que nuestra casuística es 5 a 10 veces mayor que la de dichos estudios.

VARIABLES QUE PREDICEN LA RESERVA OVÁRICA EN TÉRMINOS DEL NÚMERO DE OVOCITOS CAPTADOS MEDIANTE UN MODELO MATEMÁTICO DE REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE

de ZÚÑIGA IGNACIO, HORTON MARCOS, OUBIÑA ALEJANDRO, SOBRAL FABIO, KOPCOW LAURA, COLACI DANIELA
Pregna Medicina Reproductiva, CABA, Argentina.

INTRODUCCIÓN: El objetivo de estos modelos es predecir el valor del Outcome a partir de otras variables. No hay una variable única de interés como en los modelos de ajuste. Todas las variables regresoras son importantes en la medida que aporten información adicional para predecir el valor del outcome. Intentamos que el modelo sea parsimonioso, es decir, que busquemos predecir el valor de Y (número de ovocitos captados) con el menor número posible de regresoras X (variables como edad, fsh, hormona antimulleriana, etc).

OBJETIVO: evaluar en un modelo matemático de regresión lineal múltiple, cuales fueron las variables que mejor predicen la respuesta ovárica en términos de número de ovocitos captados.

DISEÑO: Retrospectivo – observacional – Regresión lineal múltiple.

MATERIAL Y MÉTODO: Se analizaron retrospectivamente 350 ciclos consecutivos de FIV desde Enero del 2010 a Noviembre de 2010. Se estimuló a las pacientes con los esquemas de medicación habituales y se considero embarazo clínico la presencia de saco intrauterino por estudio ecográfico. Estudio estadístico: al ser un modelo predictivo, se busca predecir el outcome (en este caso números de ovocitos captados) a partir de otras variables, es decir NO hay una variable única de interés como en los modelos de ajuste. Acá, todas las variables regresoras son importantes en la medida que aportan información adicional para predecir el evento. Se intenta que el modelo sea parsimonioso, es decir buscamos predecir el número de ovocitos captados con el menor número de variables regresoras posibles.

Inicialmente realizamos un análisis univariado relacionando cada variable de interés (ej edad, fsh, amh, estradiol, recuento folicular antral, etc) una a una con el outcome (número de ovocitos captados). En segundo lugar, una vez seleccionadas las variables de mayor interés, ya sea por presentar coeficientes beta (test de t con una $p < 0.05$), por ejercer efecto confundidor, o por ser considerada biológicamente importantes, se pasó al tercer paso que fue el de evaluar el modelo final con el menor número de variables que mediante al coeficiente de determinación (R^2 ajustado) mejor capacidad de predicción tuviera. Finalmente se testeó en el modelo los diagnósticos de regresión lineal: exploración de supuestos, de observaciones atípicas (outliers y/o observaciones influyentes) y diagnóstico de multicolinealidad.

RESULTADOS: Observamos que el 41% de la variabilidad total de la variable Y (número de ovocitos captados) fue explicado por la edad, la hormona antimulleriana y por el recuento folicular antral. O sea estas tres variables en forma conjunta, explican aproximadamente el 41% de la variación de la respuesta ovárica.

El coeficiente de determinación (R-Squared) es una medida de la capacidad predictiva del modelo y representa la proporción de la variable Y explicada por el conjunto de covariables del modelo.

CONCLUSIONES: Si bien es imposible lograr en medicina un test matemático que prediga en un 100% un evento biológico, creemos que este tipo de análisis sirve para acercarnos a una probabilidad que un evento se dé. La edad como variable biológica y la HAM han sido los de mayor peso en la predicción de la respuesta ovárica, asimismo el control ecográfico de folículos antrales nos ha agregado mayor valor de predicción al modelo. Tal vez nuevos marcadores hormonales y ecográficos aparecieran en el futuro y de esta manera permitirán aumentar la predicción de respuesta, más allá de la edad de las pacientes.

HISTEROSALPINGOGRAFÍA VIRTUAL EN PACIENTES ALÉRGICOS CON EL USO DE GADOLINIO

P. CARRASCOSA [*]; C. CAPUÑAY; M. BARONIO; J. VALLEJOS; S. PAPIER; M. BORGHI; A. VASCONCELOS; J. CARRASCOSA
Diagnóstico Maipú, Vicente López, Argentina.

OBJETIVOS: Determinar la utilidad delgadolinio como agente de contraste para realizar histerosalpingografías virtuales y evaluar el realce intraluminal,

la calidad de imagen y el discomfórt de pacientes comparado con histerosalpingografía virtual realizada con contraste yodado.

MÉTODOS: Se evaluaron 50 pacientes con diagnóstico de infertilidad por tomografía computada multidetector de 64 filas. Veinticinco pacientes fueron realizados con contraste yodado y otros 25 pacientes con contraste de gadolinio. Los estudios realizados con contraste yodado se realizaron con una dilución al 15% en solución salina, mientras que los realizados con gadolinio se utilizó una dilución al 40%. Se efectuó un análisis cuantitativo para calidad de imagen por un radiólogo experimentado en donde se utilizó una escala del 0 al 10.

Cada paciente completó un cuestionario informando el discomfórt producido en el estudio.

RESULTADOS: El pico de atenuación media con los estudios realizados con contraste yodado a nivel cervical fue de 1090.15 UH (IC 99% 1005.52 a 1174.78) mientras que durante la realización con estudios con gadolinio el realce fue de 722 (IC 99% 552.78 a 891.22) ($p < 0.0001$). El pico medio de atenuación durante el contraste yodado en la cavidad uterina fue de 1127.2 UH (IC 99% 1058.51 a 1195.6) mientras que con gadolinio fue de 877.39 (IC 99% 812.81 a 941.96) ($p < 0.0001$). La calidad de imagen obtenida por los estudios realizados con contraste yodado fue de 9.28 mientras que con gadolinio fue de 8.83, con una diferencia de 0.46 ($p=0.07$, IC 95% -0.05 a 0.96). No se encontraron diferencias en cuanto al discomfórt en ambos grupos.

CONCLUSIÓN: En nuestra experiencia los estudios realizados con gadolinio mostraron menor atenuación intraluminal pero no existieron diferencias en cuanto a la calidad de imágenes y discomfórt del paciente comparado con estudios realizados con yodo. Esto sugiere una buena alternativa para pacientes que son alérgicos al yodo para utilizarlos con pronósticos diagnósticos.

HISTEROSALPINGOGRAFÍA VIRTUAL EN PACIENTES CON SINEQUIAS INTRAUTERINAS

P. CARRASCOSA [*]; C. CAPUÑAY; M. BARONIO; J. VALLEJOS; S. PAPIER; M. BORGHI; J. CARRASCOSA
Diagnóstico Maipú, Vicente López, Argentina.

OBJETIVOS: Demostrar el rol y las características imagenológicas de la histerosalpingografía virtual en la evaluación de sinequias intrauterinas.

MÉTODOS: 790 pacientes con diagnóstico de infertilidad fueron evaluados por tomografía computada de 64 filas con cortes 0.9 mm de espesor y 0.45 mm de intervalo de reconstrucción, 10 – 20 mL de solución diluida de contraste (3 mL de contraste yodado con 17 mL de solución salina). El contraste fue instilado dentro de la cavidad uterina a través de un catéter plástico de fino calibre. Las imágenes de tomografía fueron evaluadas en una estación de trabajo utilizando múltiples herramientas de post-procesado incluyendo imágenes bidimensional, tridimensionales y endoscópicas. Las imágenes de tomografía fueron evaluadas para detectar la presencia de imágenes intrauterinas lineales, defectos irregulares de llenado, que pudieran corresponder a adhesiones intrauterinas, las mismas fueron clasificadas en focales o difusas de acuerdo al área uterina comprometida.

RESULTADOS: Se observaron en 55 de los 790 pacientes estudiados sinequias intrauterinas (7%). De los 55 pacientes 12 presentaban historia de embarazos ectópicos, 27 antecedentes de abortos y 16 de tratamientos quirúrgicos. Se detectaron adhesiones focales en 35 de los 55 pacientes (63.7%) mientras que se identificaron adhesiones con sinequias difusas en 20 de los 55 pacientes (36.3%). Las imágenes de reconstrucción multiplanar y máxima intensidad de proyección fueron de utilidad en la evaluación de este tipo de patología. Sin embargo las sinequias fueron mejor visualizadas en las reconstrucciones tridimensionales con ventana de transparencias y en las vistas virtuales. Estas últimas brindaron un preciso diagnóstico así como también la localización y extensión de la enfermedad.

CONCLUSIONES: La histerosalpingografía virtual es una modalidad útil en el diagnóstico y caracterización de adhesiones intrauterinas. Tanto las reconstrucciones tridimensionales con ventana de transparencias como imágenes virtuales brindaron un diagnóstico preciso en la extensión y localización de este tipo de patología.

IMPACTO DEL USO DE ANTICONCEPTIVOS ORALES EN PACIENTES BAJAS RESPONDEDORAS

A. COSCIA [*]; S. MIASNIK; C. ALVAREZ SEDÓ; A. GRABIA; S. PAPIER
Cegyr, CABA, Argentina.

OBJETIVO: evaluar si la utilización de Anticonceptivos Orales Combinados (ACO) afecta la respuesta ovárica y/o la tasa de embarazo en pacientes bajas respondedoras durante tratamientos de reproducción asistida de alta complejidad.

DISEÑO: estudio retrospectivo caso – control.

MATERIALES Y MÉTODOS: análisis retrospectivo de 22 pacientes bajas respondedoras que realizaron un primer ciclo de estimulación ovárica (con esquema de baja respondedora) y anticonceptivos previos, sin lograr embarazo; y su comparación con los resultados de un segundo ciclo (utilizando el mismo esquema de estimulación) sin el uso de los anticonceptivos. El esquema de estimulación utilizado fue FSHr 412,5 UI, LHr 75 UI y Antagonistas en forma flexible. El anticonceptivo utilizado en el primer ciclo fue etinilestradiol 0.03 mg + desogestrel 75 mg.

Se evaluaron las siguientes variables: edad, días de estímulo, requerimiento de gonadotrofinas, tasa de cancelación, número de ovocitos obtenidos, tasa de fertilización, número de embriones transferidos, calidad embrionaria y tasa de embarazo.

Análisis estadísticos utilizados: X² y Test de Student.

RESULTADOS: la edad promedio de las pacientes fue de 37.65 años (rango 31 – 43).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el número de ciclos cancelados 5 vs. 0 respectivamente ($p=0.05^*$) y en la duración del estímulo 10.06 vs. 8.82 días ($p=0.0293^*$), si bien los requerimientos de gonadotrofinas fueron menores sin el uso de anticonceptivos, esta diferencia no alcanzó significancia estadística (3822.9 vs 3422.7 $p=0.1032$). No se encontraron diferencias en el número de ovocitos MII inyectados (3.11 vs 3.32 $p=0.7497$), la tasa de fertilización fue de 65% vs 70% ($p=0.6377$), el número de embriones transferidos fue de 1.75 vs 1.74 ($p=0.9540$), los embriones clase I/II fueron 19 vs 20 ($p=0.619$) y los embriones clase III/IV transferidos fueron 9 vs 13 ($p=0.619$) respectivamente. La tasa de embarazo global en el grupo que no uso aco fue del 15% y en aquellas menores de 35 años que no los utilizaron fue del 40%.

CONCLUSIÓN: las pacientes con baja respuesta que no utilizan anticonceptivos podrían beneficiarse logrando una menor duración del estímulo, un menor requerimiento de gonadotrofinas, una menor cancelación de sus ciclos y una mejor tasa de embarazo, sobre todo en aquellas pacientes menores de 35 años.

MODELO PREDICTIVO DE EMBARAZO

EN UN PROGRAMA DE FERTILIZACIÓN ASISTIDA

de ZÚÑIGA IGNACIO, HORTON MARCOS, OUBIÑA ALEJANDRO,
SOBRAL FABIO, KOPCOW LAURA, TERRADO GIL GUILLERMO
Pregna Medicina Reproductiva, CABA, Argentina.

INTRODUCCIÓN: El objetivo primario de un análisis multivariable en epidemiología es describir la relación entre una variable dependiente (outcome) y un grupo de variables independientes (predictoras o explicativas). Esto se consigue a través de un modelo que, no solo sea el más adecuado desde el punto de vista matemático, sino el más plausible desde el punto de vista biológico. Al ser un modelo predictivo, lo que trata de evaluar es la probabilidad de ocurrencia de un evento (embarazo) en función de una o varias variables. Al mismo tiempo se busca un modelo matemático parsimonioso, o sea que contenga la menor cantidad de variables posibles.

OBJETIVO: determinar un modelo diagnóstico (regla de predicción clínica) identificando la mejor combinación de variables asociadas a la probabilidad de tener un determinado evento, en este caso embarazo clínico en pacientes que realizaron una técnica de FIV

MATERIAL Y MÉTODO: Se analizaron 524 ciclos de FIV consecutivos desde Marzo de 2009 a Junio de 2010. Desde el punto de vista analítico, al ser un modelo predictivo, primariamente se analizó la muestra y se observa-

ron las diferentes variables continuas y dicotómicas en cuanto a su frecuencia. La variable edad fue tabulada en menores y mayores de 38 años. Luego se construyó el modelo analizando la relación de cada variable (independiente) con el evento de interés (outcome), en este caso logro de embarazo. De esta manera, se fueron obteniendo los Odds Ratio crudos mediante el Modelo de Regresión Logística, seleccionando inicialmente aquellas variables con una $p<0.25$, con criterio amplio. En tercer lugar se fueron seleccionando las variables para el modelo múltiple y para ello se tomaron aquellas que habían tenido una $p<0.25$ y se fueron agregando de una a una al modelo final. Para evaluar cuales de ellas permanecerían en el modelo final, se evaluó el valor del Z-Test, dejando aquellas con una $p<0.05$ (Tabla n°1). Al mismo tiempo, se evaluó la presencia o no de variables confundidoras así como modificadoras de efecto. También se chequeo en el modelo final, la calibración (Test de Hosmer- Lemeshow) y la capacidad de discriminación mediante la curva de ROC (Gráfico n°1).

Variables que se analizaron: Edad, FSH, HAM, Recuento Follicular Antral, Estradiol (hCG), dosis de gonadotrofina inicial, dosis total de hMG, cantidad de días de antagonistas y día de comienzo del antagonista, factores de esterilidad, tipo y grosor endometrial, número de ovocitos y madurez de los mismos, % de fertilización, cantidad de embriones transferidos, calidad embrionaria, calidad de transferencia y tipo de cateter utilizado.

RESULTADOS: En este modelo de Regresión Múltiple en una población que realizó una FIV se observó que las variables que mejor predijeron el logro de embarazo fueron: edad (<38 años) (OR:1.5 $p: 0.00$), haber utilizado ACO en el ciclo previo al estímulo (OR: 1.6 $p: 0.04$), haber utilizado antagonistas durante más de 4 días (OR: 1.4 $p: 0.06$). El modelo calibró globalmente en forma adecuada.

La capacidad de discriminación del modelo es aceptable, ya que el área bajo la curva es de 0.65. En el 65% de los casos el modelo le asignó mayor probabilidad de embarazo a los pacientes que realmente se embarazaron.

Gráficamente se analizaron la presencia de observaciones atípicas e influyentes.

CONCLUSIONES: El modelo de predicción mostró calibrar y discriminar globalmente bien. Si bien la n de la muestra puede hacer que se pierda algo de poder, los patrones de covariables no modificaron el modelo global. Este tipo de análisis sirve para ir encontrando variables que cada vez lo hagan más robusto y confiable.

USO DE ANTAGONISTA DEL GnRH EN FASE LUTEA PARA LA PREVENCIÓN DEL SÍNDROME DE HIPERESTIMULACION OVARICA

M. VIDAL; C. GRANADOS [*]; A. MARAZZI; J. BLAQUIER; F. RAFFO
Fertilab, CABA, Argentina.

OBJETIVO: Presentar nuestra experiencia en el uso de los antagonistas del GnRh luego de la aspiración folicular para la prevención del SHEO. **DISEÑO:** Observacional.

MATERIAL Y MÉTODOS: El SHEO severo aparece en algo más del 1% de los casos, requiriendo internación y poniendo en riesgo la vida de la mujer. Los especialistas coinciden en la prevención, identificando las pacientes con factores de riesgo, para ajustar los esquemas de estimulación en primera instancia. En los casos en los que la paciente responde de una manera exagerada y los niveles de estradiol son muy elevados, diferentes estrategias se han propuesto y aplicado, con resultados disímiles. Últimamente, se ha sugerido el uso de los antagonistas del GnRh en fase lutea en pacientes en riesgo. En nuestra práctica hemos utilizado diversos tratamientos preventivos, en pacientes en riesgo o con desarrollo temprano del síndrome. Es nuestra intención relatar nuestra experiencia en el uso de esta estrategia de prevención en dos pacientes con alto riesgo de SHEO. **RESULTADOS:** Caso 1: 25 años; perfil hormonal compatible con ovario poli-quístico; conteo de folículos antrales de 12; esquema con rFSH y antagonista; estradiol en el día de la HCG 1836 pg/ml, 23 folículos >15mm; descarga con leuprolide 1 mg, 27 ovocitos obtenidos. Se vitrifican todos los embriones evolutivos. Caso 2: 34 años; perfil hormonal normal; conteo de folículos antrales de 15; 3 ciclos de alta complejidad previos sin SHEO; esquema con agonista largo y rFSH ; estradiol en el día de la hCG 7100 pg/ml; 20 folículos >15mm; descarga con hCG 5000 UI; 31 ovo-

citos obtenidos. Se vitrifican 10 embriones y 9 ovocitos. En ambas se indica cabergolina 0.5mg/día por 8 días desde la descarga y se aplica cetorelix 0.5 mg/día por 4 días desde la aspiración. La evolución del cuadro fue muy rápido, disminución del tamaño ovárico, discomfórt abdominal, disminución de peso y la aparición de la menstruación dentro de las 72 HS luego de suspender el antagonista llevaron el cuadro a resolverse en su totalidad.

CONCLUSIÓN: dado el número limitado de pacientes no es posible establecer una conclusión. Sin embargo creemos que la utilización de antagonistas luego de la aspiración folicular en un grupo de pacientes en riesgo de SHEO podría evitar el desarrollo del mismo, aun en casos en los que deba descargarse con hCG. Se necesitan trabajos prospectivos y randomizados para demostrarlo.

EL CONSUMO FRECUENTE DE PESCADO MEJORA LA CALIDAD ESPERMÁTICA

MOLINA ROSA,¹ STUTZ GRACIELA,² RUIZ RUBÉN DANIEL,² FIOLE DE CU-NEO MARTA,² TISSERA ANDREA,² Y SANTILLÁN MARÍA EMILIA,²
¹Laboratorio de Andrología y Reproducción. ²Cátedra de Fisiología Humana, Facultad de Ciencias Médicas, UNC

OBJETIVO: entre los factores nutricionales que afectan la función reproductora, cobran importancia los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs). Los ácidos linoleico y alfa linolénico, son los precursores de los PUFAs de cadena larga: ácido araquidónico (ω6) y ácidos eicosapentanoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), ambos ω3 y presentes en pescados. La proporción de PUFAs de la membrana puede modificar sus funciones. La relación ω6/ω3 es mayor en astenozoospermicos que en normozoospermicos. En el presente trabajo evaluamos calidad espermática y marcadores de la función de glándulas accesorias en semen de hombres agrupados según su adecuación o no a las recomendaciones de la American Heart Association (AHA) para el consumo de PUFAs ω3.

DISEÑO: se analizaron 1196 muestras de pacientes pertenecientes a parejas con problemas de fertilidad, consultados sobre sus hábitos alimentarios en lo que respecta a la frecuencia de consumo de pescado.

MATERIALES Y MÉTODOS: se evaluó calidad espermática (concentración, motilidad, morfología, vitalidad, prueba de resistencia osmótica y madurez nuclear) y niveles de marcadores de la función de glándulas accesorias (fructosa y ácido cítrico), según OMS 2010. Estadística: ANOVA, post-hoc: Bonferroni. Los resultados se informan como TM ± ESM.

RESULTADOS: el 4% de los pacientes se adecuó a las recomendaciones de la AHA y presentaron menor porcentaje de formas inmóviles (27,2±2,1 vs 33,5±0,4; p<0,005) y muertos (13,2±1,4 vs 16,1±0,3; p<0,05); mayor porcentaje de formas normales (Kruger) (6,4±0,5 vs 5,1±0,1; p<0,05) y de gametas reactivas e íntegras a la prueba de resistencia osmótica (77,5±4,9 vs 65,9±1,0; p<0,05). Asimismo, se detectó una mayor concentración de espermatozoides (x10-6/ml) (61,9±6,3 vs 53,4±1,3) y una menor concentración de fructosa (mg%) (266,9±16,1 vs 294,3±3,5).

CONCLUSIONES: las mejoras observadas en las muestras de los pacientes que se adecuan a las recomendaciones para la ingesta de PUFAs ω3 coinciden con las de otros autores que encontraron un mayor contenido de DHA en semen normal, comparado con astenozoospermicos, oligozoospermicos u oligoastenozoospermicos. También se ha informado que el índice de ω3 (DHA+EPA) fue mayor en semen de hombres con fertilidad comprobada, en relación con el de infértiles. Nuestros resultados sugieren fuertemente que un consumo de pescado de al menos dos veces por semana contribuye a mejorar la calidad espermática.

EL USO DE LAS COMPUTADORAS TIPO LAPTOP PODRÍA DISMINUIR LA CALIDAD ESPERMÁTICA: ESTUDIO IN VITRO

AVENDAÑO CONRADO, MATA ARIELA, MARTÍNEZ VALERIA, NIEVAS MARÍA TERESA, JUÁREZ VILLANUEVA ANDRÉS, SÁNCHEZ SARMIENTO CESAR
Nascentis Medicina Reproductiva, Córdoba, Argentina.

OBJETIVO: El uso de computadoras tipo laptop conectadas a través de Wi-Fi se ha visto incrementado en los últimos años. Las laptop son comúnmente usadas en la falda cerca de los testículos y éstas producen un aumento de la temperatura escrotal que podría disminuir la calidad seminal. Sin embargo, poco se conoce sobre el efecto de la radiación que se genera cuando se conectan a internet a través del Wi-Fi mediante ondas electromagnéticas (OEM) sobre la reproducción masculina. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de las laptop conectadas via Wi-Fi sobre los espermatozoides mediante un estudio *in vitro*.

Diseño: estudio prospectivo *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS: se utilizaron muestras de semen de 29 donantes. Los parámetros seminales (volumen, concentración, movilidad y morfología) fueron evaluados luego de licuefacción completa. Se seleccionaron espermatozoides móviles por *swim up* y cada muestra fue alicuotada en dos fracciones (Grupo A y B) e incubada por 4 horas a 25 °C. El grupo A fue colocado bajo una laptop conectada a internet a través de Wi-Fi mientras que el grupo B fue incubado en otra habitación alejada de otras computadoras o aparatos electrónicos. Luego de la incubación se evaluó vitalidad, movilidad y fragmentación de ADN (TUNEL) espermática en todas las muestras. La radiación fue medida durante el tiempo de incubación en las dos condiciones mediante un *RF Field Strength Meter* (Alpha-lab). Se utilizó el *test t-Student* para comparar los grupos.

RESULTADOS: No hubo diferencias en la temperatura de incubación entre ambos grupos. La radiación fue 7 a 15 veces mayor bajo la laptop en comparación con las condiciones basales. Luego de 4 horas de incubación se evaluó la calidad espermática. La vitalidad no reflejó diferencias entre grupos (p>0,05). Se observó una disminución significativa de la movilidad progresiva y un aumento del porcentaje de espermatozoides inmóviles luego de 4 horas de exposición en comparación con el grupo B (68,7 % ± 8,8 % vs 80,9 % ± 7,5 % p<0.001 y 24,5 % ± 7,6 % vs 13,6 % ± 5,6 %, p<0,001 respectivamente). El porcentaje de espermatozoides fragmentados aumentó significativamente luego de la incubación bajo la laptop en comparación con el grupo no expuesto (8,6 % ± 6,6 % vs 3,3 % ± 6,0 % p<0.005).

DISCUSIÓN: la exposición a las laptops conectadas a internet via Wi-Fi disminuye la movilidad progresiva e induce fragmentación de ADN en espermatozoides *in vitro* por un efecto no térmico. Si bien este es un estudio *in vitro*, nosotros especulamos que el uso sobre la falda de computadoras tipo laptop conectadas a internet mediante Wi-Fi podría provocar una disminución de la fertilidad en el hombre. Es necesario nuevas investigaciones para confirmar estos hallazgos e identificar el causante y los mecanismos moleculares por los cuales los espermatozoides se ven afectados.

FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO: COMPARACIÓN ENTRE MUESTRAS DE SEMEN CON PARÁMETROS SEMINALES NORMALES Y ANORMALES

S. RAO [*]; C. ALVAREZ; J. BLAQUIER; A. MARAZZI; R. JAMES; F. RAFFO
FERTILAB - CEMIC, C.A.B.A., Argentina.

OBJETIVO: Determinar la importancia del estudio de la fragmentación del ADN Espermático en muestras de semen con parámetros seminales normales y anormales.

DISEÑO: Análisis retrospectivo.

MATERIALES Y METODOS: Se analizaron 210 muestras de pacientes de nuestro laboratorio de andrología entre Junio de 2008 y Septiembre de 2010. Se obtuvieron por masturbación en frasco estéril y se les realizó un espermograma, siguiendo los lineamientos del Manual de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2000). La determinación de la fragmentación se llevo a cabo en base al Sperm Chromatin Dispersion test modificado (SCD). Se evaluaron los halos de dispersión de la cromatina de 500 esper-

matozoides, diferenciando entre espermatozoides con halo (ADN no fragmentado) y sin halo (ADN fragmentado). El resultado se expresó en porcentaje de espermatozoides con ADN fragmentado, habiendo establecido como límite de valor normal el 24%. Análisis estadístico: Test no paramétrico Mann-Whitney U-statistic, y Chi-square test.

RESULTADOS: Se analizaron 74 muestras con parámetros seminales normales y 136 con parámetros alterados. El promedio de positividad del test SCD modificado fue 19% (SD 3,7) para las muestras con todos sus parámetros normales, y 28% (SD 17,8) para las anormales, ($p < 0,0001$). De las 74 muestras normales, 17 tuvieron un valor de fragmentación $>24\%$, correspondiente al 23% (17/74) de los casos. De las 136 muestras con al menos un parámetro anormal, 76 presentaron un valor $>24\%$ de ADN fragmentado, lo que corresponde al 56% (76/136) de los casos, ($p < 0,0001$).

CONCLUSIÓN: Dentro del grupo con espermograma normal, se observaron muestras que presentaron altos valores de fragmentación, siendo ésta una posible causa de esterilidad. Si bien las muestras anormales registraron un porcentaje mayor de pacientes con alta fragmentación, el 44% de estas muestras presentaron valores normales de fragmentación. Resultaría beneficioso, entonces, medir el grado de fragmentación del ADN espermático en todas las muestras de semen, permitiendo en caso de espermogramas alterados orientar acerca el tipo de tratamiento que la pareja debería realizar.

LA REGULACIÓN DEL EQUILIBRIO OSMÓTICO Y LOS CANALES DE K+ DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS

CALLE A.; ZUMOFFEN C.; GHERSEVICH S.; MUNUCE MJ
 Fac. de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

El espermatozoide (E) debe regular su volumen para migrar del plasma seminal (PS) al tracto femenino, por lo que debe contrarrestar el stress hipoosmótico.

OBJETIVO: determinar la participación de canales de K+ sensibles a quinina durante la regulación del equilibrio osmótico en espermatozoides humanos.

DISEÑO: estudio prospectivo, in Vitro.

MATERIALES Y MÉTODOS: se utilizaron 21 muestras normozoospermicas (OMS 2010). La osmolalidad de los PS se determinó con osmómetro de punto de congelamiento. Los E se seleccionaron mediante swim-up (Ham's F-10 con BSA 4mg/ml: C), en ausencia (control) o presencia del inhibidor de canales de K+ (C y Q respectivamente). Se evaluó viabilidad, movimiento por CASA, morfología e índice de anomalías múltiples (IAM) y reacción acrosomal (RA). Se determinó la concentración adecuada de Q (%E móviles y sobrevivida no diferentes a C), utilizando: Q1: 62,5µM y Q2: 125µM (n=8), resultando Q1. La reversibilidad del efecto inhibitorio se evaluó por lavado y resuspensión en medio C luego del tratamiento (C y Q1). Los datos expresados como media±ES se analizaron con tests de Tukey y Dunnett, significativo $p < 0,05$.

RESULTADOS: La osmolalidad de PS fue 386 ± 12 mOsm/kg. En presencia de Q1 las velocidades media y rectilínea y la linealidad de la trayectoria fueron inferiores a C ($p < 0,001$) sin afectar la viabilidad. El efecto se revirtió al eliminar Q1. El % de anomalías de flagelo en Q1 fue mayor que en C ($p < 0,01$), asociándose a diferencias en IAM (C: $1,46 \pm 0,04\%$ vs Q1: $1,56 \pm 0,04\%$; $p < 0,05$). La capacidad de responder al inductor de la RA fue significativa en todos los casos respecto de sus basales (n=6; $p < 0,01$). Los espermatozoides expuestos a Q1 y luego lavados presentaron mayor porcentaje de E reaccionados respecto de C y de los bloqueados (n=6; $p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente). **Conclusión:** Al menos in vitro, los espermatozoides funcionarían como un osmómetro perfecto, utilizando K+ para equilibrar su medio interno y regular su volumen al salir del PS. Considerando que la inhibición del canal de K+ disminuye la trayectoria progresiva del espermatozoide de modo específico y reversible, su utilización para fines contraceptivos podría ser estudiada.

RELACIÓN ENTRE EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL Y LOS PARÁMETROS SEMINALES

A. BERTONE UÑA [*]; M. RODRÍGUEZ; M. GONZÁLEZ; S. ASZPIS; E. MOR-MANDI; O. LEVALLE

Hospital Carlos G. Durand, Capital Federal, Argentina.

INTRODUCCIÓN: La investigación del impacto del índice de masa corporal (IMC) sobre la fertilidad en hombres en edad reproductiva, es muy limitada comparada con los estudios realizados en mujeres. A pesar de que en el 25-30% de los casos de infertilidad, el factor es exclusivamente masculino, los estudios sobre parámetros seminales e IMC son escasos y controvertidos.

OBJETIVO: Evaluar la asociación entre el IMC y parámetros del espermograma en una población argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS: Durante el período 2008-2010, fueron incorporados 168 pacientes que consultaron al servicio de Andrología. La media de edad fue de 35 años y a todos se les constató peso y altura para el cálculo de IMC. Criterios de exclusión: varicocele, leucospermia, antecedentes de orquitis urliana postpuberal, mal descenso o traumatismos testiculares y alteraciones hormonales. Los pacientes fueron divididos en 3 grupos según: IMC < 25 (normal; n=34), IMC 25-30 (sobrepeso; n=100) e IMC > 30 (obesos; n=34). A todos se les realizó un espermograma según normas OMS 1999.

RESULTADOS: Las medias de la concentración espermática, la movilidad total y de grado "a" y la morfología, respecto del IMC, no tuvieron diferencias significativas para estos parámetros entre los grupos. Tampoco se hallaron diferencias significativas en los análisis de regresión lineal para los mismos parámetros.

CONCLUSIONES: Debido a las publicaciones con resultados contradictorios respecto al efecto del IMC y las consecuencias de su elevación sobre la fertilidad masculina, evaluamos la asociación de estos parámetros. En concordancia con el metaanálisis publicado por MacDonald et. al., no encontramos diferencias significativas entre los grupos según su IMC y las medias de los diferentes parámetros del espermograma. Tampoco se encontraron coeficientes de correlación significativos. Consideramos que, las diferencias en aquellas publicaciones en las que se demuestran significativas, el criterio de selección de los pacientes fue inadecuado y que pueden atribuirse a patologías que alteren el examen seminal. En nuestro estudio solo consideramos las variables seminales convencionales por lo que, en lo que respecta al potencial de fertilidad de individuos con sobrepeso u obesidad, deberían evaluarse parámetros complementarios de capacidad fecundante. Estos resultados sugieren que, la indicación de la disminución de peso, se fundamenta más en la salud general de estos pacientes que en su potencial reproductivo.

CONTROVERSIA DE LOS NUEVOS VALORES DE REFERENCIA PARA LA EVALUACION DE LOS PARÁMETROS SEMINALES

F. BELTRAMONE [*]; R. MOLINA; G. ESTOFAN; N. KUPERMAN; K. MAERO; D. ESTOFAN

CIGOR Centro Integral de Ginecología Obstetricia y Reproducción, Cordoba, Argentina.

INTRODUCCIÓN: Alrededor del 15% de las parejas en edad reproductiva tendrán dificultad para concebir dentro del primer año de búsqueda, y en la mitad de los casos el factor causal será masculino. Es un tema de debate mundial los valores de referencia (VR) del semen de una población fértil. Por este motivo en el nuevo manual que publica la Organización Mundial de la Salud 2010 (OMS 2010), incorpora los valores publicados por Cooper y col (2009). Siguen los debates con estos nuevos VR ya que para establecerlos no se tuvieron en cuenta factores importantes. Hay una gran reticencia a adoptar los nuevos VR en la clínica.

OBJETIVO: Comparar a un mismo grupo de pacientes, clasificados por dos criterios de normalidad diferentes: según criterio OMS 1999 (anterior) vs OMS 2010 (actuales). Obtener datos preliminares de una población fértil local.

DISEÑO: Retrospectivo. Para los valores de referencia de una población

fértil local: Prospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se analizaron 23.642 muestras de semen de pacientes que consultaban por infertilidad. Todos los procedimientos de laboratorio se encontraron sometidos a sistemas de Control de Calidad Interno (cartas de control mensual, Coeficientes de variación intra e interoperador) y Externo (Programa de Evaluación Externa- PEEC), para optimizar la calidad de los procesos de evaluación de las muestras. Los datos fueron procesados con el test de Mc Nemar. Un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativa. Para la determinación de los valores de referencia local se estudiaron 72 voluntarios fértiles cuyas mujeres cursaban con un embarazo no mayor a 24 semanas.

RESULTADOS: Al comparar ambos criterios de clasificación de normalidad (OMS 1999 y OMS 2010) se observó una diferencia significativa al clasificar como normal o alterado el semen de los mismos pacientes, en todos los parámetros seminales. Esta diferencia fue más notoria en la morfología espermática, ya que según OMS 1999, el 22.8% de los pacientes se clasifica como normal, vs el 80% según OMS 2010 ($p = 0.003$). Los valores de referencia de una población fértil local discrepan con los dados por la OMS 2010.

CONCLUSIÓN: Con los nuevos VR dado por la OMS 2010 se podría estar subdiagnosticando el factor masculino, según los resultados preliminares de valores de referencia local, demorando la aplicación de tratamientos adecuados y perdiendo años de fertilidad en la mujer, la cual comienza a decaer luego de los 35 años.

EFFECTO DEL CELULAR SOBRE LOS PARÁMETROS SEMINALES Y SU RELACION CON EL INDICE DE MASA CORPORAL (IMC) EN PACIENTES QUE CONSULTAN POR INFERTILIDAD

SAD LARCHER JOSE^{1,3}, MOLINA ROSA², COLLA RAUL², SOSA ALEJANDRO², METREBIAN SERGIO¹, ESTOFAN DANIEL^{1,3}

¹Hospital Privado de Córdoba

²Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR)

³Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción (CIGOR)

INTRODUCCIÓN: Varios trabajos han tratado de dilucidar la relación entre fertilidad masculina y el uso del Teléfonos Celulares, tanto in vivo como in vitro.

OBJETIVO: Evaluar el efecto adverso del uso de celular (horas de portar, años de portar y minutos de hablar) en los parámetros seminales y su posible interacción con el IMC en un grupo de pacientes que consultan por infertilidad.

DISEÑO: estudio prospectivo.

MATERIAL Y MÉTODO: Se realizó la investigación prospectiva desde Enero hasta Diciembre 2009 en 2.609 pacientes. Se completó para cada paciente un cuestionario específico a tal fin. Los parámetros seminales fueron evaluados según normas OMS 1999. Se excluyeron los pacientes que presentaban varicocele, hábitos tóxicos (fumar/beber), antecedentes de trabajar con agroquímicos, tomar medicación crónica, criptorquidia, orquitis urleana, alteraciones hormonales y cirugías genitourinarias. Se estudiaron 1.831 pacientes, los cuales fueron divididos para el estudio en horas diarias de portar celular en la cintura, tiempo de hablar por celular, años que portan el celular en la cintura e IMC.

Para el análisis estadístico se realizaron Análisis de la Covarianza (AnCova). Se utilizó prueba de Tukey como post-hoc ($\alpha < 0,05$).

RESULTADOS: A mayor años de portar celular en la cintura se afecta negativamente la morfología espermática ($p=0.039$) y aumenta la concentración de leucocitos ($p=0.025$). Cuando se incorporó IMC se observó deterioro de la morfología espermática ($p=0.05$) y aumento de la concentración de leucocitos ($p=0.05$) a medida que aumenta el IMC, pero NO se observa interacción entre obesidad y años de portar celular.

CONCLUSIÓN: Se observa un deterioro de los parámetros seminales con los años de portar celular en la cintura, mayor a más años de portación. Según nuestros resultados podríamos sugerir a los pacientes que buscan fertilidad, no portar el celular en la cintura y mantener un peso saludable.

IMPACTO DEL VARICOCELE

EN LA MADUREZ NUCLEAR ESPERMÁTICA

ALLENDE PINTO BENJAMIN¹, VALERIA FARFALLI², ANDREA TISSERA³, LOPEZ SEOANE MANUEL¹, MOLINA ROSA³

¹Sanatorio Allende - Córdoba, ²ORIGEN - Medicina Reproductiva,

³Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR) - Córdoba, Argentina.

INTRODUCCIÓN: El núcleo espermático esta formado por ADN y proteínas nucleares, las que cumplen una función estructural (compactación del ADN) y otra enzimática (reparación).

La estructura y/o composición de la cromatina en el núcleo de los espermatozoides humanos puede ser muy variable, como lo son otras características del semen (concentración, movilidad, morfología, etc.).

Las proteínas nucleares son importantes en la condensación de la cromatina espermática y en la activación del genoma paterno en el huevo fertilizado.

Durante la espermatogénesis se produce el recambio de proteínas nucleares: "histonas" por proteínas más básicas, llamadas "protaminas". Cuya función principal, es empaquetar el ADN en una cromatina muy condensada, proporcionando al núcleo estabilidad mecánica y química.

La técnica de Azul de Anilina (AA) se usa para detectar defectos en el contenido núcleo proteico asociado con inmadurez nuclear.

Trabajos recientes sugieren que espermatozoides vivos con cromatina anormal, tienen una capacidad de fertilización disminuída y se correlaciona con aneuploidias de los mismos.

DISEÑO: Retrospectivo.

OBJETIVO: Evaluar la correlación entre los distintos grados de Varicocele y la madurez nuclear.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se evaluaron 815 pacientes, los cuales fueron divididos para el estudio en: Voluntarios Fértiles "GF" (n=44) cuyas parejas cursaban con un embarazo menor a 12 semanas (Espermatogénesis que dió origen a ese embarazo) y Pacientes con varicocele "CV" (n=771). El grupo CV fue dividido de acuerdo al grado de varicocele en: Varicocele grado 1 "CV1" (n=558), Varicocele grado 2 "CV2" (n=115) y Varicocele grado 3 "CV3" (n=56).

Los parámetros seminales fueron evaluados según los criterios de la OMS 1999.

AA: se evalúa el % de núcleos espermáticos maduros ricos en protaminas. Valor de referencia: > 70 % núcleo no teñido, núcleo maduros y estables. Para el análisis estadístico se utilizó Coeficiente de correlación de Pearson (r) y test de Mann-Whitney para comparación de los grupos. Un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativa.

RESULTADOS: No se encontró diferencia significativa en el valor medio de AA entre los grupos.

Se observó una diferencia significativa en la morfología de criterio estricto "CE" y concentración espermática entre CV1, CV2, CV3 y el GF.

Se encontró una correlación positiva y significativa entre AA-CE en todos los grupos. GF: $r = 0.37$, $p = 0.0148$; GV: $r = 0.35$, $p = 0.0001$; GV1: $r = 0.36$, $p = 0.0001$; CV2: $r = 0.28$, $p = 0.0056$ y CV3: $r = 0.23$, $p = 0.0076$.

CONCLUSIÓN: De acuerdo a éstos resultados podemos inferir que el varicocele no afectaría el reemplazo de proteínas nucleares Histonas por Protaminas en testículo. La correlación positiva entre la morfología de CE y AA sugiere que anomalías en la cromatina nuclear sería probablemente una de las causas de aberraciones morfológicas de la cabeza del espermatozoide.

VARIACIÓN DEL VALOR DE FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO EN EL SEMEN FRESCO, POST GRADIENTE DE DENSIDAD Y 2 HORAS POST GRADIENTE DE DENSIDAD: RESULTADOS PRELIMINARES.

S. RAO [*]; C. ALVAREZ; C. SANJURJO; N. PAUL; R. JAMES; F. RAFFO; FERTILAB - CEMIC, C.A.B.A., Argentina.

OBJETIVO: Determinar en semen si el grado de fragmentación del ADN espermático se modifica con la selección por Gradiente de densidad y si se mantiene estable luego de 2 horas.

MATERIALES Y METODOS: Estudio prospectivo de 25 pacientes (pac).

Se les realizó espermograma según el Manual de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2000) y estudio de fragmentación del ADN espermático en semen, muestra post gradiente de densidad 90/50% y a las 2 horas (hs) de incubación post gradiente. Se determinó la fragmentación con Sperm Chromatin Dispersion test modificado (SCD). Se evaluaron los halos de dispersión de la cromatina de 500 espermatozoides diferenciando entre espermatozoides con halo (ADN intacto) y sin halo (ADN fragmentado).

Valor normal fragmentación (frag) \leq 24%. Análisis estadístico: Test Mann-Whitney y ANOVA.

RESULTADOS: Comparando los distintos parámetros seminales de las muestras con fragmentación normal vs fragmentación aumentada (volumen en ml: 3,41 vs 3,46; densidad millon /ml: 90 vs 76; motilidad: 42% vs 33,6%; necrosados: 16% vs 19,3%; morfología normal: 8,8% vs 6,4%) solo encontramos una leve diferencia con significancia estadística en la motilidad ($p=0,01$). Con respecto a la media de fragmentación en los mismos grupos: 16,5% vs 32,1% la significancia es muy alta ($p<0,0001$). Medimos diferentes

comportamientos de las muestras en cuanto a los valores de frag del ADN. Pacientes con $>24\%$ de ADN frag, no disminuyeron los valores luego del Gradiente de densidad, y aumentan la fragmentación luego de 2 hs: el 84% de las muestras empeoran su índice de fragmentación. Los pacientes con $\leq 24\%$ de ADN frag se dividen en: Grupo 1: El gradiente disminuye la fragmentación y esta se mantiene a las 2 hs. Grupo 2: El Gradiente no produce mejora y la incubación por 2 hs aumenta la fragmentación: el 22% pasa a tener $>24\%$ de fragmentación. Valores de las medias de fragmentación en cada grupo mencionado: pacientes con fragmentación anormal: semen 31%, gradiente 27% y 2hs post gradiente 33%. Pacientes con fragmentación normal: Grupo1 semen 16%, gradiente 6%, 2hs post gradiente 7% ($p<0,0001$); Grupo2: semen 16%, gradiente 13% y 2hs post gradiente 17%.

CONCLUSIÓN: Es importante conocer la fragmentación en el semen: si es alta, la muestra continuará deteriorandose tanto durante la espera para ser inseminada como en el tracto femenino. Si es baja, nos ayudará saber si mejora con el gradiente para tomar una decisión sobre la terapéutica a seguir.

EVALUACION DE LA CALIDAD EMBRIONARIA: VALOR DE LA MULTINUCLEACION EN DIA 2

M. HERNÁNDEZ [*]; A. DEMATTEIS; C. MUSSIN; G. ESTOFAN
CIGOR, Córdoba, Argentina.

OBJETIVO: Evaluar la correlación entre el status nuclear en día 2 de los embriones transferidos y los resultados en ICSI.

DISEÑO: prospectivo de cohorte

MATERIALES Y MÉTODOS: Se analizaron ciclos de ICSI realizados entre enero de 2008 y octubre 2010. Criterios de inclusión: edad <40 , FSH <20 pg/ml, espermatozoides de eyaculado, endometrio >7 mm, 2 embriones transferidos ($<25\%$ fragmentos). En día 2 se contaron los núcleos visibles en cada blastómera, y se clasificaron los embriones como: mononucleados (blastómeras mononucleadas), ON (blastómeras sin núcleos visibles, o mezcla de éstas con mononucleadas), multinucleados (al menos una blastómera con >1 núcleo visible). De acuerdo al status nuclear de los embriones transferidos, se delimitaron cinco grupos: 2-monoN (2 embriones mononucleados, n=172), monoN/otro (1 embrión mononucleado + otro de cualquier status, n=139), 2-ON (2 embriones ON, n=66), ON/uN (1 embrión ON + 1 multinucleado, n=37), 2-uN (2 embriones multinucleados, n=19) Se compararon tasas de embarazo e implantación (X2).

RESULTADOS: La población de estudio incluyó 433 pacientes que se transfirieron 866 embriones. Se obtuvieron 190 embarazos clínicos (44%/transferencia), de los que 38 fueron gemelares (20%), implantando 228 embriones (TI 26%). Las tasas de embarazo clínico e implantación fueron significativamente diferentes entre los grupos 2-monoN (57%, 37%), monoN/otro (42%, 23%), 2-ON (36%, 24%), ON/uN (22%, 11%), 2-uN (11%, 5%); TEC: X2 29.8, $p<0,001$; TI: X2 38, $p<0,001$

CONCLUSIÓN: Las tasas de implantación y embarazo fueron significativamente mayores al transferir embriones mononucleados en día 2.

EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PCDC2 (Y15) DURANTE LA MADURACIÓN OVOCITARIA Y SU IMPLICANCIA EN FALLAS DE FERTILIZACIÓN LUEGO DE ICSI

C. ALVAREZ SEDÓ [*]; H. URIONDO; M. LAVOLPE; F. NOBLIA;
A. TEJEIRA; F. NODAR

CEGyR (Centro de Estudios en Ginecología y Reproducción), Capital Federal, Argentina.

OBJETIVO: Evaluar la expresión de la proteína Cdc2 fosforilada durante la maduración ovocitaria y en fallas de fertilización luego de ICSI.

DISEÑO: Descriptivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se evaluaron 71 ovocitos excedentes de tratamientos de alta complejidad y 102 ovocitos no fertilizados luego de ICSI. Los ovocitos fueron agrupados según su estado de maduración (profase-GV, metafase I y metafase II) y procesados para inmunocitoquímica y western blot (en condiciones de desnaturalización). Los ovocitos con falla de fertilización fueron evaluados por inmunocitoquímica para la detección de la proteína Cdc2 fosforilada (Y15) y tubulinas. El ADN fue teñido con Hoechst 33342 y TOTO-3. Las imágenes fueron capturadas bajo microscopía de epifluorescencia y confocal. En los ovocitos con falla de fertilización se designó a los ovocitos con presencia de pCdc2 como inmaduros y en aquellos que tenían ausencia del marcador como maduros desde el punto de vista de su citoplasma. El análisis estadístico empleado fue ANOVA. **RESULTADOS:** La expresión relativa de pCdc2 evidenció tener diferencias significativas entre los tres estadios evaluados. Así, el estadio de GV presentó niveles intermedios (20805 ± 1165), MI (Telofase I) presentó mayores niveles de expresión (90033 ± 9689) y MII presentó un nivel significativamente menor (1683 ± 840) ($p<0,05$), resultados igualmente validados por la técnica de western blot. Los ovocitos con falla de fertilización luego de ICSI presentaron un 60.2% de falla de activación/condensación prematura de cromosomas (PCC), 44.7% presentaron niveles elevados de pCdc2 y 15.5% presentaron niveles disminuidos de la proteína. El 31.6% presentó falla de activación/falla en la descondensación del material genético paterno y dentro de este grupo el 6.7% presentó altos niveles de pCdc2. Por el contrario el 21.9% presentó niveles disminuidos de la proteína. Finalmente se pudo detectar en tres casos la ausencia del espermatozoide en el citoplasma ovocitario (2.9%), mientras que en el 5.3% de los casos de observó detención en la primera metafase.

CONCLUSIÓN: Existe un aumento significativo de pCdc2 durante la transición entre los estadios de MI a MII y se encuentra significativamente disminuida o ausente en el ovocito detenido en MII. La falla de activación/PCC se encuentra altamente influenciada por la inmadurez citoplasmática del ovocito.

LA TASA DE FERTILIZACIÓN COMO MARCADOR INDIRECTO PARA PREDECIR LOS RESULTADOS CLÍNICOS DE ICSI

C. ALVAREZ SEDÓ; V. GIL [*]; H. URIONDO; M. LAVOLPE; F. NOBLIA; F. NODAR
CEGyR (Centro de Estudios en Ginecología y Reproducción),
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

OBJETIVO: Evaluar el efecto de la tasa de fertilización sobre las tasas de implantación y embarazo clínico en ciclos de ICSI. **DISEÑO:** Estudio retrospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: La población comprendió el análisis de casos de ICSI entre los años 2006-2010. Se designaron dos grupos: A (N=1358 casos) (ciclos con ovocitos propios) y B (N=1710) (ciclos con ovocitos donados). Los criterios de exclusión para el grupo A fueron mujeres $>$ a 36 años, y en ambos grupos fueron excluidos casos de IMSI, columnas de Anexina V, uso de espermatozoides de biopsia testicular, casos con falla total de fertilización y realización de "hatching" asistido. Ambos grupos fueron divididos según la tasa de fertilización en: $<50\%$, 51-59%, 60-79% y $> 80\%$. Se analizaron las siguientes variables: % de ovocitos maduros, promedio de embriones transferidos, tasa de implantación y tasa de embarazo clínico/transferencia. El análisis estadístico empleado fue t-student y chi-cuadrado según corresponda.

RESULTADOS: Dentro de cada de los grupos A y B, y de acuerdo a la tasa de fertilización, no se evidenciaron diferencias significativas en el porcen-

taje de ovocitos maduros así como en el promedio de embriones transferidos. En el grupo A se observó que cuando la tasa de fertilización se encuentra por encima del 60%, tanto la tasas de implantación (<50%=14%, 51-59%=15%, 60-79%= 22% y >80%=21%) y de embarazos clínicos-/transferencia (<50%=23%, 51-59%=22.6%, 60-79%= 35.6% y >80%=34.4%) aumentan significativamente (p<0.05). Sin embargo, el grupo B no presenta diferencias significativas para las mismas variables: tasa de implantación (<50%=25%, 51-59%=23%, 60-79%= 30% y >80%=30%), tasa de embarazo clínico/transferencia (<50%=43%, 51-59%=39%, 60-79%= 46.6% y >80%=46%).

CONCLUSIÓN: Nuestros resultados sugieren que los pacientes con bajas tasas de fertilización podrían llegar a tener resultados de pobre pronóstico en ciclos con ovocitos propios. La tasa de fertilización podría ser considerada como un factor pronóstico indirecto para evaluar el éxito reproductivo de las parejas que realizan tratamientos de ICSI. Sin embargo, en los casos de ovodonación no se podría considerar de la misma manera.

RESULTADOS AL REALIZAR ACTIVACION CON ESTRONCIO EN CICLOS DE ICSI CON BIOPSIA DE TESTICULO EN CASOS DE AZOOSPERMIA SECRETORA.

QUINTANS CARLOS *, URQUIZA FERNANDA, CARRETERO INÉS, ROLANDO ROMINA, PASQUALINI AGUSTÍN, PASQUALINI SERGIO.
*Halitus Instituto Médico, Buenos Aires, Argentina.
 Fundación REPRO, Buenos Aires, Argentina.*

OBJETIVO: Presentar los resultados obtenidos al realizar activación con estroncio en casos de azoospermia secretora tratados con fertilización in vitro por ICSI.

DISEÑO: Estudio retrospectivo.

Pacientes: Se incluyó en el estudio a parejas que realizaron ciclos de fertilización in vitro por ICSI en casos con azoospermia secretora y en los cuales los espermatozoides debieron obtenerse a partir de biopsias de testículo.

MÉTODOS: Treinta minutos post ICSI los ovocitos fueron incubados durante una hora en un medio en que el Calcio que fue reemplazado por Estroncio (Sr++), luego los ovocitos inyectados se pasaron a medio de cultivo normal conteniendo Calcio, luego de sucesivos lavados para eliminar restos de Sr++. Se completó el cultivo, y resto del tratamiento de la manera estándar.

RESULTADOS: En total se trataron con Sr++ 21 ciclos con biopsia de testículo, en todos los casos se obtuvieron embriones, en 20 ciclos se realizó transferencia en fresco, en el restante se criopreservaron todos los embriones siendo transferidos en un ciclo posterior. Se observaron 10 embarazos en los ciclos con transferencia en fresco, y uno más en el ciclo con embriones criopreservados. De estos 6 llegaron a término (4 simples y 2 dobles) y otro doble se encuentra en curso. Se produjeron 3 pérdidas espontáneas y una interrupción voluntaria por aneuploidia del feto. Otros 55 ciclos de ICSI con biopsia de testículo que no fueron tratados con Sr++ sirvieron como grupo control. En los 55 del grupo control se obtuvieron 13 embarazos. De estos, 8 llegaron a término, se produjeron 4 pérdidas y en un caso se perdió contacto con el paciente.

Las edades no diferían entre ambos grupos (control: 32,8± 4,9 años, tratado: 31,87 ± 5 años P=0,442), tampoco el número de ovocitos maduros (control: 12,77 ± 6, tratado 11,36 ± 4,8, P=0,283) ni la tasa de fertilización (control 52,5%, tratado 48,4%). La tasa de embarazos mostró diferencia significativa entre grupos (control = 23,6 %, tratado = 52 % (P=0,023)).

CONCLUSIONES: El tratamiento de activación con Sr++ en los ciclos de ICSI con biopsia de testículo mostró una mejor en la tasa de embarazo. Esto no se debe a un efecto en la tasa de fertilización, pues a diferencia con lo descrito para espermatozoides eyaculados, no se observaron mejoras en este parámetro. Si bien el poder estadístico de un estudio como el aquí presentado limita su validez, los resultados obtenidos son promisorios y sugieren la conveniencia de ampliarlo.

Estroncio

Hasta ahora los resultados dan así:

Para biopsias de testículo, dos poblaciones comparables en edad y número de ovocitos los resultados indican que no cambia la tasa de fertilización pero aumenta de forma significativa la tasa de embarazo.

Ciclos	Sr++	Edad ± sd	Ovocitos ± sd	Tasa fertilización	embarazo/ciclo
45	No	33,4 ± 4,2	10,6 ± 4,9	0,42	11/45 (24,4%)
19	Sí	32,8 ± 5,3	11,9 ± 5	0,48	10/19 (52,6%)
P	---	ns	ns	ns	P = 0,04

Para semen eyaculado de factor masculino severo (morfología ≤ 4%) también en poblaciones comparables en edad y número de ovocitos, si bien aumenta significativamente la tasa de fertilización no cambia los resultados en términos de tasa de embarazo.

Ciclos	Sr++	Edad ± sd	Ovocitos ± sd	Tasa fertilización	embarazo/ciclo
355	No	33,4 ± 4	10,8 ± 6	0,50	32,7
47	Sí	32,9 ± 4,9	11 ± 5,8	0,67	30,4
P	---	ns	ns	P = 0,007	ns

RESULTADOS EN CICLOS DE ICSI AL SELECCIONAR LOS ESPERMATOZOIDES A INYECTAR MEDIANTE SU UNION A ZONA PELUCIDA

URQUIZA FERNANDA, QUINTANS CARLOS*, CARRETERO INÉS, ALONSO ANDREA, DONALDSON MONICA, PASQUALINI SERGIO
*Halitus Instituto Médico, Buenos Aires, Argentina
 Fundación REPRO, Buenos Aires*, Argentina*

OBJETIVO: Describir los resultados obtenidos en ciclos de fertilización in vitro por ICSI luego de inyectar espermatozoides seleccionados por previa unión a zona pelúcida.

DISEÑO: Estudio descriptivo. **Pacientes:** Se incluyó en el estudio a parejas que realizaron ciclos de fertilización in vitro por ICSI, en casos con factor masculino severo, o fragmentación nuclear elevada.

MÉTODOS: Se utilizaron ovocitos no fertilizables homólogos o heterólogos, que fueron colocados de 4 a 8 por paciente en placas con medio de fertilización in vitro previamente equilibrado a 37o C y 5% CO2. Esos ovocitos se co incubaron durante 3 a 6 horas con una preparación de espermatozoides de la pareja a tratar. Luego se aspiraron con una pipeta de un diámetro interno de aproximadamente 0,3 mm y se lavaron suavemente por 5 gotas sucesivas de medio fresco preequilibrado para separar los espermatozoides sueltos. Finalmente se transfirió los ovocitos con los espermatozoides adheridos a una gota de 5 µl en la placa de inyección, y se procedió a aspirarlos y expelerlos repetidas veces con una micro pipeta de diámetro interno muy ajustado al ovocitario, para así separar los espermatozoides unidos. A continuación se realizó ICSI de manera habitual, utilizando los espermatozoides así seleccionados. El tratamiento se completó siguiendo el protocolo estándar.

RESULTADOS: La técnica de selección se utilizó en 11 ciclos, la tasa de fertilización fue del 67%, se lograron 5 embarazos, 4 por transferencia en fresco y 1 por transferencia de criopreservados. Quedan criopreservados embriones de cinco ciclos. Todos los embarazos siguen en curso.

CONCLUSIONES: Es sabido que las poblaciones de espermatozoides unidos a la zona pelúcida muestran mejores características en cuanto a morfología e integridad nuclear que la población general de la misma muestra. La utilización de estos espermatozoides para microinyección podría permitir realizar una selección más fisiológica que la resultante de elegir al azar o por morfología en fresco, o por algunos de los otros métodos de selección posibles. El material usado es accesible, no implica problemas éticos ni costos extra, y en nuestra escasa experiencia dio buenos resultados y la técnica pudo usarse aún en casos en que no hubiera resultado posible utilizar otros métodos debido al escaso número de espermatozoides disponible.

ASESORAMIENTO Y ESTUDIOS GENÉTICOS PRENATALES EN EMBARAZOS LOGRADOS POR FERTILIZACIÓN IN VITRO
 KOPCOW LAURA; MONTANARI CARLOS; BIANCHI MARIANO;
 MARCELLI MARINA; BISIOLI CLAUDIO; TERRADO GIL GUILLERMO
Pregna Medicina Reproductiva, CABA, Argentina.

INTRODUCCIÓN: Durante el embarazo se pueden realizar estudios genéticos no invasivos (NT Plus) y/o estudios invasivos (punción de vellosidades coriales -BVC- y amnioscentesis). Los primeros no representan riesgo y estiman una probabilidad de anomalías cromosómicas. Los últimos diagnostican anomalías cromosómicas, pero implican un riesgo de aborto. La edad es uno de los factores que más influyen la decisión del estudio a realizar. La forma de concepción también es un factor que afecta esta decisión. No existen publicaciones en nuestro país que describan la frecuencia con la que pacientes embarazadas por tratamientos de fertilización in vitro (FIV) realizan estudios genéticos. Ellas podrían dudar de realizar estudios invasivos por el riesgo que implica su realización. En contraposición, podrían buscar la seguridad que les daría estos estudios de que sus embarazos sean cariotípicamente normales, luego de su historia de esterilidad. No se conoce como estos factores contrapuestos pueden afectar la toma de decisión de las parejas.

OBJETIVO: Describir la frecuencia con la que pacientes que lograron embarazos evolutivos por medio de FIV realizaron asesoramiento genético, NT Plus o estudios prenatales invasivos y discriminarlo según la edad de la paciente, con ovocitos propios u ovocitos donados.

DISEÑO: retrospectivo descriptivo.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se consideraron 147 embarazos evolutivos de más de 12 semanas logrados por FIV y 29 embarazos por ovodonación entre enero y diciembre 2009. Se analizó si las pacientes realizaron asesoramiento genético, NT Plus o estudio genético invasivo. Las pacientes que usaron ovocitos propios se dividieron por edad en 3 grupos: Grupo A (n 62): < 35 años, Grupo B (n 69): 35 a 39 años y Grupo C (n 17): ≥ 40 años). Se incluyó un 4to grupo conformado por pacientes que recibieron ovocitos donados, Grupo D (n 29).

RESULTADOS: de 147 pacientes que lograron el embarazo mediante FIV, 48 (32.6%) no realizaron asesoramiento genético y 99 si (67.34%). Del total, 85 pacientes (57.8%) realizaron NT Plus y 11 tuvieron un resultado de riesgo > 1:300, por lo que 10 decidieron realizar BVC y en 1 caso se confirmó una trisomía 18. Catorce pacientes (4.76%) realizaron BVC directamente y en un caso se constató una trisomía X.

Al discriminarlas por edad no realizó asesoramiento genético el 35.5% del Grupo A (22/62), el 39.1% (27/69) del Grupo B, 0% en el Grupo C y 34.5% (10/29) del Grupo D (C vs A, B y D p<0.05). Realizaron NT Plus 62.9% (39/62) del Grupo A, 46.4% (32/69) del Grupo B, 47.1% (8/19) del Grupo C y 62.1% (18/29) del Grupo D (p NS). Optaron directamente por BVC 1.6% (1/62) del Grupo A, 5.8% (4/69) del Grupo B, 52.9% (9/19) del Grupo C y 3.4% (1/29) del Grupo D (C vs A, B y D p<0.001).

CONCLUSIÓN: Se muestra el comportamiento de pacientes embarazadas por FIV con relación a los estudios genéticos. En estas pacientes que realizan tratamientos de alta complejidad, la edad sigue siendo un factor decisivo en la toma de decisión para realizar estudios genéticos.

PATOLOGÍA INTRALUMINAL DETECTADA POR HISTEROSALPINGOGRAFÍA VIRTUAL EN PACIENTES CON ANOMALÍAS UTERINAS Y ESTUDIOS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NORMALES

P. CARRASCOSA [*]; C. CAPUÑAY; M. BARONIO; J. VALLEJOS; S. PAPIER;
 M. BORGHI; A. VASCONCELOS; J. CARRASCOSA
Diagnóstico Maipú, Vicente López, Argentina.

INTRODUCCIÓN: La resonancia magnética es el método Gold Standard para evaluar las anomalías uterinas. Frecuentemente estas anomalías se presentan en mujeres infértiles. Los ginecólogos necesitan saber el tipo de anomalías así como también la patología asociada que pueda presentarse para decidir la mejor conducta terapéutica. La resonancia magnética posee limitaciones en la evaluación intraluminal. El objetivo de este trabajo es demostrar la utilidad de la histerosalpingografía virtual en la detección de patología

endoluminal asociada a anomalías uterinas en pacientes con resonancia magnética uterina sin patología de la cavidad endometrial.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se evaluaron 18 pacientes con anomalías uterinas conocidas por histerosalpingografía virtual y resonancia magnética. Las histerosalpingografías virtuales fueron realizadas con un equipo de 64 filas y las resonancias magnéticas con un equipo cerrado de 1.5 T. Los parámetros técnicos de la histerosalpingografía virtual fueron cortes de 0.9 mm de espesor cada 0.45 mm de intervalo de reconstrucción, 100 mAs y 120Kv. Luego de la higienización de la región vaginal con pervinox, se introdujo un espéculo posterior al cual se posicionó una cánula plástica en el orificio cervical externo. Se instiló un volumen de 20 mL de una dilución hiposmolar al 80% con una bomba inyectora. La resonancias magnéticas fueron realizadas utilizando secuencias T1 y T2 en planos axiales, sagitales y coronales. **RESULTADOS:** 10 de los 18 pacientes (55%) presentaban patología endoluminal asociada detectada por histerosalpingografía virtual en donde la resonancia mostraba hallazgos normales. La histerosalpingografía virtual fue realizada con una dosis media de radiación de 0.9 mSv sin complicaciones. Los hallazgos detectados por histerosalpingografía virtual consistieron en 2 pólipos cervicales, 14 pólipos endometriales y 1 sinequia intrauterina.

CONCLUSIÓN: A pesar de que la resonancia es una excelente modalidad para caracterizar las anomalías uterinas esta tiene importantes limitaciones en la evaluación de la cavidad uterina. En mujeres infértiles es obligatoria la caracterización de las anomalías así como también determinar la presencia de patologías intraluminal asociada para definir la mejor conducta terapéutica.

PRESERVACIÓN DE LA FERTILIDAD EN PACIENTES ONCOLÓGICAS. 4 AÑOS DE EXPERIENCIA EN EL GRUPO IVI

G. DE LA FUENTE [*]; M. MARTINEZ; S. RABADAN;
 J. DOMINGO; J. GARCÍA VELASCO
IVI Madrid, Madrid, España.

OBJETIVO: La mejora de los tratamientos oncológicos ha aumentado las tasas de curación en el cáncer. Esto ha determinado una mayor preocupación por la calidad de vida del paciente y por las consecuencias del tratamiento sobre la fertilidad. Diversas opciones se han propuesto para preservar la fertilidad en las pacientes oncológicas. La congelación de ovocitos mediante el método cryotop de vitrificación presenta una tasa de supervivencia de un 93% y tasas de fertilización e implantación similares a las de los ovocitos fecundados en fresco. Presentamos nuestra experiencia con esta técnica como una herramienta útil para preservar la fertilidad en pacientes con cáncer.

MATERIALES Y MÉTODOS: En los últimos 4 años (2007- 2010) con el auspicio de Fundación IVI realizamos 169 ciclos de preservación de la fertilidad. El inicio de tratamiento debió contar con la aprobación del oncólogo. El 67% de las pacientes presentaban cáncer de mama, seguido por el linfoma de Hodgkin en un 15%. En pacientes con cánceres hormonodependientes la estimulación ovárica se realizó con letrozol 5 mg desde la regla hasta la regla siguiente lo que disminuyó los niveles de estradiol un 90%. Se utilizó 150 IU de rFSH en un protocolo con antagonistas de la GnRH, realizando la maduración final ovocitaria con 0.2 mg de triptorelina. En pacientes con tumores no hormonodependientes se estimuló con un protocolo habitual. Si bien el empleo del letrozol en reproducción es controvertido los embriones derivados de los ovocitos vitrificados nunca estarían expuestos al medicamento. La demora en el inicio de el tratamiento oncológico puede tener implicancias pronósticas. Si la paciente consultaba con la menstruación se iniciaba la estimulación y de presentarse con un folículo cercano a 15 mm se aceleraba su crecimiento con dosis baja de FSH. Tras la punción se administró antagonistas de la GnRH hasta que el estradiol descendiera de 60 pg/ml y se iniciaba la estimulación ovárica.

RESULTADOS: La edad media de las pacientes fue 30,2 y el 11% contaba con fertilidad probada. Se recuperaron en total 1610 ovocitos de los cuales 1190 (74%) fueron vitrificados. El pico de estradiol medio en pacientes tratados con letrozol fue de 341 pg/ml, similar a un ciclo natural. El promedio de ovocitos vitrificados por ciclo fue de 7,4. La media de días transcurridos entre la primera cita y el inicio de la estimulación fue de 7,8 días.

CONCLUSIONES: La preservación de la fertilidad es un aspecto importante de la calidad de vida de pacientes jóvenes que sobreviven al cáncer. La mujer debe ser informada sobre los efectos del tratamiento oncológico sobre su fertilidad y se le debe ofrecer medidas para la preservación de ésta. La vitrificación de ovocitos se presenta como un método auspicioso para conservar el poder reproductivo una vez curado el cáncer.

SUPLEMENTACION CON ESTROGENOS EN FASE LUTEA EN TECNICAS DE REPRODUCCION ASISTIDA

C. PALENA [*]; L. GANZER; K. MAERO BAEZ; M. HERNADEZ; D. ESTOFAN CIGOR, Córdoba, Argentina.

OBJETIVO: Evaluar tasa de embarazo en pacientes que realizaron estimulación ovárica controlada suplementando fase lútea con Progesterona (Crinone vía vaginal / día) más Valerato de Estradiol (2 mg/día vía oral) versus pacientes que utilizaron sólo Progesterona en protocolos de estimulación ovárica controlada. **DISEÑO:** Retrospectivo. **MATERIALES Y MÉTODOS:** de 869 pacientes que realizaron ICSI con espermatozoides de eyaculado en el período comprendido entre 1/1/08 hasta 1/11/10 se seleccionaron 64 que reunían las siguientes características: menores de 40 años, FSH menor a 20, Estradiol máximo 600 pg/ml el día de la aplicación de HCG, dos o mas ovocitos MII obtenidos, uno o dos embriones transferidos, al menos con transferencia de un embrión de buena calidad. Se compararon dos grupos: Grupo con Ronfase: 21 pacientes recibieron progesterona vaginal (crinone) más valerato de estradiol (Ronfase) 2mg/día inmediatamente posterior a la aspiración folicular; Grupo sin Ronfase: 43 pacientes solo recibieron progesterona vaginal. Se compararon las tasas de embarazo clínico e implantación. Se utilizaron x2 para proporciones y t de Student y Test F para media y varianza.

RESULTADOS: Los grupos CON y SIN RONFASE fueron comparables en cuanto a edad (35.3±3.4, 33.9±), días de estimulación (7.1±2.1, 7.8±1.8), MII inyectados (3.3±1.7, 4.1±2), tasa de fertilización norman (80%, 82%), embriones transferidos (1.8±0.4, 1.9±0.3), embriones de buena calidad transferidos (1.4±0.5, 1.5±0.5). Los valores de E2 máximo fueron mayores en el grupo sin Ronfase (414±131, 471±94, p<0.05) Las tasas de embarazo clínico fueron significativamente diferentes entre los grupos con y sin Ronfase (67% y 35%, p=0.016), mientras que no se encontraron diferencias significativas entre las tasas de implantación obtenidas (38 embriones, 37%; 81 embriones, 22%).

CONCLUSIONES: La suplementación con estrógenos en fase lútea ha sido motivo de varios estudios sin arrojar resultados concluyentes acerca de él beneficio en términos de tasa de implantación y embarazo. En nuestro grupo seleccionado de pacientes, hemos encontrado beneficios en su uso en términos de tasa de embarazo, lo que motiva seguir incorporando pacientes al estudio.

EVALUACIÓN DE MIOMAS UTERINOS POR HISTEROSALPINGOGRAFÍA VIRTUAL

P. CARRASCOSA [*]; C. CAPUÑAY; M. BARONIO; J. VALLEJOS; S. PAPIER; M. BORGHI; A. VASCONCELOS; J. CARRASCOSA
Diagnóstico Maipú, Vicente López, Argentina.

OBJETIVOS: Evaluar el rol de la histerosalpingografía virtual en el diagnóstico de miomas uterinos utilizando la ecografía intravaginal como método de referencia.

MATERIAL Y MÉTODOS: Evaluar retrospectivamente 94 pacientes que se les realice histerosalpingografía virtual con diagnóstico de infertilidad y también tenían una ecografía transvaginal dentro de los 2 meses de realizado el estudio. Los estudios de histerosalpingografía virtual fueron realizados con un equipo de 64 filas con cortes de 0.9 mm de espesor cada 0.45 mm de intervalo de reconstrucción, 120 Kv y 100 – 150 mAs. Se utilizaron 10 a 20 mL de solución de contraste diluida a través de una cánula

la posicionada en el orificio cervical externo. Las imágenes fueron enviadas a una estación de trabajo para su análisis utilizando reconstrucciones multiplanares, tridimensionales y vistas endoscópicas. Las imágenes de histerosalpingografía virtual fueron analizadas en forma ciega sin conocer los resultados de la ecografía transvaginal. La histerosalpingografía virtual clasificó a los miomas en submucosos, subserosos e intramurales.

RESULTADOS: La histerosalpingografía virtual detectó correctamente 40 de los 60 miomas detectados por la ecografía transvaginal. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo para la detección de miomas submucosos fue de 97%, 100%, 100%, 98,9%, para los subserosos fue de 81.8%, 97.4%, 90% y 95% y para los intramurales fue de 65.4%, 92.6%, 73.9% y 89.3% respectivamente.

CONCLUSIÓN: La histerosalpingografía virtual permitió una buena detección de los miomas submucosos y subserosos. La limitación del método radica en la identificación de miomas intramurales ya que algunos de ellos poseen densimetrías similar a la pared endometrial normal.

IMPACTO DE LA TÉCNICA DE VITRIFICACIÓN EN LA SOBREVIDA DE EMBRIONES DE REGULAR CALIDAD

KOPCOW LAURA, TERRADO GIL GUILLERMO, HORTON MARCOS, de ZÚÑIGA IGNACIO, GOMEZ PEÑA MARIANA, BISIOLI CLAUDIO
Pregna Medicina Reproductiva, CABA, Argentina.

INTRODUCCIÓN: Los embriones de regular calidad tienen una baja tasa de implantación. Esta tasa es más baja aún si estos embriones son criopreservados y descongelados con la técnica de criopreservación lenta, ya que la pérdida de blastómeras afecta la viabilidad embrionaria. Habitualmente los embriones de regular calidad se dejan evolucionar en cultivo y se criopreservan solo si llegan al estadio de blastocisto. Algunas parejas, a pesar del consejo médico, prefieren criopreservar los embriones de regular calidad sin extender el cultivo, basados en distintas circunstancias, en la relación cantidad/calidad embrionaria, principios filosóficos y creencias religiosas. El objetivo de este trabajo es evaluar el impacto de la técnica de vitrificación sobre esos embriones y compararlo con el método tradicional. **DISEÑO:** Retrospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Desde enero de 2009 hasta septiembre de 2010 se realizaron transferencias de embriones criopreservados. En 41 de estas transferencias solo se incluyeron embriones de mala calidad al momento de la criopreservación en día 3 (utilizando criterios de clasificación convencional). Estos ciclos fueron divididos en dos grupos: Grupo 1 (n:8) incluyó embriones criopreservados (criopreservación lenta según el protocolo de Testart) y Grupo 2 (n:33) incluyó embriones vitrificados (Kit de vitrificación y desvitrificación, Kitazato biopharma, Japón). Se evaluó sobrevida embrionaria, pérdida de blastómeras, tasa de embarazo y tasa de implantación en los dos grupos. La evaluación estadística se realizó utilizando el test de student y chi cuadrado. Se consideró un p significativa cuando fue menor a 0.05.

RESULTADOS: Los grupos fueron similares en relación a edad, tipo y espesor endometrial y número de embriones transferidos. En el grupo 1 se realizaron 8 transferencias ya que en un ciclo de descongelación los 3 embriones criopreservados degeneraron. La sobrevida embrionaria fue del 84,4% (27/32) en el grupo 1 vs. 92.59% (100/108) en el Grupo 2 (p=0.15). La pérdida de blastómeras en embriones viables fue del 31,49% (75/181) vs. 12.97% (75/578) (p<0.001). La tasa de implantación fue 0% (0/21) en el Grupo 1 vs. 16.27% (14/86) en el Grupo 2 (p=0.04) y la tasa de embarazo fue 0% (0/8) vs. 39,39% (13/33) (p=0.05). La tasa de aborto en el grupo 2 fue del 38.46%.

CONCLUSIONES: La vitrificación resultaría ser menos deletérea que la criopreservación lenta sobre la capacidad implantatoria de embriones criopreservados de mala calidad. Se necesitan estudios de mayor tamaño que confirmen estos resultados y que podrían ayudar en la toma de decisión cuando se considera el destino de embriones de mala calidad.

INFLUENCIA DE LA OBESIDAD MASCULINA EN LA TASA DE EMBARAZO EN PAREJAS QUE REALIZAN TRATAMIENTOS DE DONACIÓN DE ÓVULOS

DE LA FUENTE GABRIEL, LOTTI BÁRBARA, INSUA FERNANDA, GIORDANA SANTIAGO, FERNANDEZ PERI NATALIA, NEUSPILLER FERNANDO

INTRODUCCIÓN: el objetivo de nuestro trabajo es evaluar el efecto de la obesidad masculina en la tasa de embarazo de pacientes estériles que realizan tratamientos de donación de óvulos.

DISEÑO: estudio retrospectivo, comparativo, observacional y transversal. **MATERIALES Y MÉTODOS:** se incluyeron 1931 parejas que realizaron ciclos de ovodonación en nuestras clínicas IVI Buenos Aires e IVI Madrid entre 2007 y 2009. El grado de obesidad fue calculado usando el índice de masa corporal (IMC). Categorizamos el IMC (Kg/m²) como normal (20-24), sobrepeso (25-29) y obesidad (>30). Las tasas de embarazo e implantación fueron divididas en tres grupos de acuerdo al IMC masculino. Los parámetros seminales también fueron analizados para evaluar la relación entre IMC y calidad seminal. Los óvulos donados fueron provenientes de mujeres fértiles y jóvenes. Las receptoras con factores reproductivos desfavorables como edad mayor de 45 años, fumadoras de más de 15 cigarrillos diarios, IMC >30 y patología uterina fueron excluidas del estudio, permitiendo una mejor evaluación del papel del semen en las tasa de embarazo.

RESULTADOS: la tasa de embarazo (TE) e implantación (TI) en el grupo de peso normal fue de 49,9% y 31,4%, 52,8% y 31,5% en el grupo de sobrepeso y 51,1% y 33,8 % en el grupo de obesos. Luego el análisis covariado el riesgo relativo (RR) para TE asociado al grupo de sobrepeso y obesidad fue 1,06 (IC95%= 0,96-1,18) y 1,03 (IC95%= 0,87-1,21) respectivamente, comparado con hombres de peso normal. El RR para TI en el grupo de sobrepeso y obesidad fue 1.00 (IC95%=0.85-1.17) y 1.07 (IC95%=0.84-1.36), comparado con grupo de hombres con peso normal. Estos resultados indican que no hay diferencia en la tasa de embarazo ni implantación entre los tres grupos. Sin embargo, en el análisis de las características del semen de hombres obesos encontramos una disminución en la concentración de espermatozoides comparada con aquellos con peso normal y sobrepeso. No hubo relación entre el incremento del IMC y el porcentaje de espermatozoides móviles ni el de espermatozoides morfológicamente anormales.

CONCLUSIÓN: nuestro estudio encontró una asociación entre obesidad y calidad espermática, pero no pudo demostrar una disminución en los resultados de fecundación in-vitro en tratamientos de ovodonación. Estos resultados pueden sugerir que la obesidad masculina no es una variable independiente importante en términos de probabilidad de embarazo.

LA VITRIFICACIÓN ES UN MÉTODO SUPERIOR A LOS PROTOCOLOS DE DESCENSO LENTO Y PROGRAMADO DE LA TEMPERATURA PARA LA CRIOPRESERVACIÓN DE EMBRIONES

GOMEZ PEÑA MARIANA, BOUZAS NORA, HORTON MARCOS, OUBIÑA ALEJANDRO, KOPCOW LAURA, BISIOLI CLAUDIO
Pregna Medicina Reproductiva, CABA, Argentina.

INTRODUCCIÓN: La vitrificación es un método alternativo a los protocolos de criopreservación mediante descenso lento de la temperatura, que implica una muy corta exposición del material a altas concentraciones de una solución crioprotectora a temperatura ambiente y su inmediata inmersión en nitrógeno líquido. Estudios en número creciente informan que este método es superior en términos de sobrevida y calidad del material almacenado, como así también en la tasa de embarazo que se logra con la transferencia de embriones u ovocitos descongelados. El propósito de este trabajo fue confirmar esta información en nuestro programa de reproducción asistida mediante el análisis de resultados mediante vitrificación comparados con el método de descenso lento de temperatura.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se compararon 57 procedimientos de criopreservación, descongelación y transferencia de 177 embriones en D3 de desarrollo, congelados mediante vitrificación utilizando dos diferentes métodos (Cryotop (Cryotech) y McGill Cryoleaf (Medicult)) contra 125 procedi-

mientos simultáneos de criopreservación de embriones en el mismo estadio de desarrollo, según el protocolo de congelamiento por descenso lento y programado de la temperatura. Los parámetros comparados fueron los siguientes: sobrevida (>50% de blastómeros intactos post descongelación), número de casos que llegaron a la transferencia, calidad embrionaria y tasas de embarazo clínico e implantación por transferencia. Los grupos de estudio fueron comparables con respecto a todos los parámetros reproductivos de relevancia: edad de las pacientes, tipo de infertilidad, protocolo de estimulación ovárica, número de ovocitos maduros captados, tipo de procedimiento de reproducción asistida, calidad embrionaria y número de embriones transferidos.

RESULTADOS: La sobrevida post descongelación fue superior con el método de vitrificación que con el lento {85.8% (152/177) vs. 57.2% (370/647), p=0.0001}. La tasa de embarazo clínico por transferencia fue también superior en el grupo que criopreservó mediante vitrificación {32% (17/53) vs 21.6% (27/125)}, aunque sin alcanzar significancia estadística (p=0.2). La tasa de implantación embrionaria por transferencia fue superior mediante el método de vitrificación {16% (20/125) vs. 9.1% (27/298), p=0.04}.

CONCLUSIONES: La vitrificación es un método superior al de descenso lento de la temperatura en relación al desempeño reproductivo que se logra con su aplicación. Un mínimo costo de equipamiento hace que la relación beneficio/costo sea máxima para la vitrificación comparada con los métodos tradicionales de criopreservación.

NÚMERO ÓPTIMO DE OVOCITOS A FERTILIZAR EN UN PRIMER CICLO DE TRA

PETTOROSI HERNAN, DE ZUÑIGA IGNACIO, SOBRAL FABIO, OUBIÑA ALEJANDRO, BISIOLI CLAUDIO, HORTON MARCOS
Pregna Medicina Reproductiva, CABA, Argentina.

INTRODUCCIÓN: Durante los últimos años, diversos autores llegaron a determinar que la transferencia de dos embriones por ciclo es una estrategia válida ya que ofrece una tasa de embarazo por ciclo aceptable disminuyendo el riesgo de embarazo múltiple. Así mismo existe una tendencia en los diferentes centros de reproducción asistida a disminuir la cantidad de embriones criopreservados. Resulta entonces de buena práctica clínica formular estrategias que permitan mermar la cantidad de embriones remanentes criopreservados, sin alterar los resultados de los tratamientos de reproducción asistida.

OBJETIVOS: Determinar cuál sería el número óptimo de ovocitos a fertilizar en un primer ciclo de FIV/ICSI, con el fin de lograr una tasa de embarazo por ciclo aceptable sin aumentar la tasa de embriones remanentes criopreservados, en pacientes jóvenes con factor tuboperitoneal, ESCA o factor masculino leve/moderado.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se analizaron 193 pacientes que realizaron su primer ciclo de FIV/ICSI entre octubre 2007 y octubre 2010. Se incluyeron mujeres menores a 37 años con diagnóstico de infertilidad debido a: factor tuboperitoneal, EDT I, ESCA y factor masculino leve a moderado, divididas en tres grupos según la cantidad de ovocitos que fueron inseminados: entre 5 a 7, 8 a 15 y mayor a 15. El resultado principal fue determinar la media de embriones criopreservados según cada grupo de pacientes. Como resultados secundarios se calcularon la tasa de embarazo clínico en fresco, en ciclos con embriones criopreservados y la tasa acumulada de embarazo. Para el cálculo estadístico se utilizó el programa Graphpad Prism 5.04. En la comparación de los tres grupos se utilizó un análisis univariado ANOVA y para el análisis entre dos grupos el test exacto de Fischer. **RESULTADOS:** De las 193 pacientes, 70 recuperaron entre 5-7 ovocitos MI en la punción (36,3%), 104 entre 8-15 (53,8%) y 19 > a 15 (9,9%). La tasa de fertilización fue semejante en los tres grupos, lo mismo que la media de embriones que evolucionaron a D3. La tasa de embarazo clínico en fresco entre los tres grupos (28%, 33% y 29% respectivamente) fue similar. La diferencia en la tasa de embarazo luego de la transferencia de embriones criopreservados no fue significativa entre el grupo 8-15 y >15 (p > 0,05). La tasa acumulada de embarazo no mostró una diferencia significativa entre los tres grupos (p 0,098). Finalmente la diferencia entre la cantidad de embriones criopreservados fue estadísticamente significativa en-

tre los tres grupos ($p < 0,0001$).

CONCLUSIONES: Consideramos que fertilizar más de 15 ovocitos en pacientes de buen pronóstico determina una mayor cantidad de embriones remanentes en el laboratorio. Fertilizar entre 5-15 ovocitos vs. >15 ovocitos podría constituir una opción más válida ya que disminuiría la cantidad de embriones remanentes criopreservados sin modificar significativamente la tasa acumulada de embarazo.

PREVALENCIA DE PATOLOGÍA INTRAUTERINA (CANAL CERVICAL Y/O CAVITARIA) EN PACIENTES RECEPTORAS DE OVODONACIÓN

R. PESCE [*], S. GIL, A. SAAVEDRA, G. PERMAN, S. GOGORZA, R. TESTA
Hospital Italiano de Buenos Aires, CABA, Argentina.

OBJETIVOS: Es poco conocida la prevalencia de patología intrauterina en pacientes ovorreceptoras. Nuestro objetivo fue evaluar dicha prevalencia y describir los hallazgos y características salientes de una población de pacientes receptoras de ovodonación en nuestro medio.

DISEÑO: Estudio descriptivo de corte transversal.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se evaluaron en forma consecutiva 56 pacientes receptoras del Programa de Ovodonación del Hospital Italiano de Buenos Aires en el primer cuatrimestre de 2010. A todas se les realizó una histeroscopia mediante un único operador ciego a otros estudios complementarios. Se utilizó un histeroscopio rígido Karl Storz de 2,9 mm con óptica de 30° y medio de distensión acuosa. Se evaluaron la edad, historia gestacional previa, porcentaje de intervenciones quirúrgicas realizadas en el mismo procedimiento histeroscópico y diagnóstico anatomopatológico. Las variables continuas se describen como media y desvío estándar y las categóricas como porcentaje e intervalo de confianza 95% (IC95). Se evalúa la asociación mediante el test de χ^2 . Los cálculos fueron realizados con Stata 10.0 (StataCorp LP).

RESULTADOS: La edad media fue de 42,7 años (DS 4,3), con una edad mínima de 36 y máxima de 52. El 39,3% era nuligesta (IC95 26,1%-52,5%) y el 92,9% era nulípara (IC95 85,9%-99,8%). La prevalencia de patología intrauterina fue de 62,5% (IC95 49,4%-75,6%): 26,8% para canal cervical (IC95 14,8%-38,8%) y 42,9% en intracavitaria (IC95 29,5%-56,2%). Los diagnósticos fueron: sinequias 21,4% (IC95 10,3-32,5), pólipos 23,2% (IC95 11,8-34,6), miomas 3,6% (IC95 0-8,6%). Un 10,7% presentó más de un hallazgo (IC95 2,4-19,1), otros 3,6% (IC95 0-8,6%). Fueron normales un 37,5% (IC95 24,2-50,6%). No hubo asociación entre hallazgos patológicos y edad o historia gestacional previa. En todos los casos patológicos (35) se pudo resolver el problema por vía transhisteroscópica.

CONCLUSIÓN: En esta población de pacientes, la prevalencia de patología cervical y cavitaria es alta. Sin embargo, no se encontró asociación entre patología y otras variables que pudiesen modificar la probabilidad previa de un hallazgo. Hasta no contar con este tipo de información, se debería considerar la realización de histeroscopia de rutina en el estudio de pacientes receptoras de ovodonación.

FERTILIZACIÓN IN VITRO: RESULTADOS REPRODUCTIVOS DE LA TRANSFERENCIA DE BLASTOCISTOS SEGÚN LA CALIDAD DE LOS MISMOS.

YOUNG (H) EDGARDO, ZAPPACOSTA MARÍA PÍA, VALCARCEL ALBERTO, VILELA MARTÍN, LORENZO FABIÁN, YOUNG EDGARDO
Instituto de Ginecología y Fertilidad - IFER, CABA, Argentina

OBJETIVO: Comparar resultados reproductivos de la transferencia de blastocistos teniendo en cuenta la calidad de los mismos.

Diseño: análisis retrospectivo de la transferencia de blastocistos durante el periodo comprendido entre enero de 2008 y diciembre de 2009 en un centro de reproducción asistida de alta complejidad.

Materiales y métodos: 59 pacientes que realizaron tratamiento de fertilización asistida de alta complejidad fueron transferidas en estadio de blas-

tocisto (día 5). El criterio para transferencia embrionaria en día 5 fue basado en la buena calidad de los embriones en día 3, según criterio morfológico. Los blastocistos fueron graduados teniendo en cuenta la clasificación de Gardner modificada (A-D), y fueron divididos en 3 grupos según la calidad de los mismos: (1) Alta (A), (2) Intermedia (B-C), (3) Regular (D). El análisis estadístico fue desarrollado con el test exacto de Fisher y ANOVA.

RESULTADOS: Grupo 1: n:30; edad promedio: 34,2(+/-3,7DS). Grupo 2: n:23; edad promedio 34,6(+/-4,3DS). Grupo 3: n:6; edad promedio 37,5(+/-3,3DS). Sin diferencias significativas en cuanto a la edad. Promedio de embriones formados (+/-DS): grupo 1:10 (+/-3); grupo 2:8,9 (+/-2,9); grupo 3:10,8 (+/-3,5). Sin diferencias significativas. Promedio de blastocistos formados (+/-DS): grupo 1:4 (+/-1,4); grupo 2:3(+/-1,2); grupo 3:2,2 (+/-1,2). Grupo 1 vs 2 $p < 0,05$; 2 vs 3 $p < 0,01$; 1 vs 3 $p < 0,05$. Promedio de blastocistos transferidos (+/-DS): grupo 1:2,5(+/-1); grupo 2: 2,5 (+/-0,6); grupo 3: 2 (+/-0,9). Sin diferencias significativas entre los grupos. Tasa de embarazo (%): grupo 1: 63,33(19/30); grupo 2: 34,8 (8/56); grupo 3: 0(0/12). Grupo 1 vs 2 $p < 0,05$; 2 vs 3 $p < 0,05$; 1 vs 3 $p < 0,05$. Tasa de Implantación (%): grupo 1:35,2 (25/71); grupo 2: 14,3 (8/56); grupo 3: 0(0/12). Grupo 1 vs 2 $p < 0,05$; 2 vs 3 $p < 0,01$; 1 vs 3 $p < 0,05$. Tasa de aborto (%): grupo 1:15,7(3/19); grupo 2:25(2/8); grupo 3:0. Sin diferencias significativas.

CONCLUSIÓN: La tasa de embarazo se correlaciona con la calidad de los blastocistos transferidos. Blastocistos de muy buena calidad presentan tasas de embarazo e implantación altas, por lo cual es importante mantener un criterio estricto del número de embriones a transferir para evitar embarazos múltiples.

OPTIMIZACIÓN DEL NÚMERO DE EMBRIONES A TRANSFERIR EN EL ESTADIO DE BLASTOCITO

L. MOLINA [*], A. G. MARTINEZ, L. TESSARI, D. GNOCCHI, A. CATTANEO, C. RUHLMANN
Fertilidad San Isidro, San Isidro, Argentina.

Es sabido que el embarazo múltiple acarrea una serie de riesgos tanto en la evolución del embarazo como en el desarrollo fetal. Es por ello que la tendencia mundial es disminuir el número de embriones a transferir. Con el objetivo de encontrar el número adecuado de blastocistos para realizar la transferencia se realizó un análisis retrospectivo de 436 transferencias en estadio de blastocisto. El análisis se realizó agrupando las transferencias en tres grupos: Pacientes que recibieron los 2 únicos embriones que alcanzaron el estadio de blastocisto (grupo A); pacientes que recibieron 2 blastocistos seleccionados entre varios embriones que alcanzaron ese estadio (grupo B), y pacientes que recibieron 3 blastocistos (grupo C). Se tomaron las tasas de embarazo, implantación, embarazo múltiple y nacimientos como medida de éxito para comparar la eficacia de cada grupo. El análisis estadístico se realizó empleando un test de T no pareado o un χ^2 según correspondiera. Resultados: Los 3 grupos fueron comparables en cuanto al promedio de edad, el número de intento y la proporción de FIV/ICSI realizados. El grupo A reunió pacientes con respuesta más pobre que las de los grupos B y C, siendo estos similares entre sí. Esto se manifestó en el número de oocitos totales y maduros recuperados, la tasa de fertilización y de llegada al estadio de blastocisto, y las tasas de embarazo clínico e Implantación. Al comparar los grupos B y C se observa que son similares exceptuando que el grupo C mostró una tasa de embarazo múltiple ≈ 3 fetos significativamente mayor que la del grupo B. Grupo A Grupo B Grupo C Número de transferencias 17089177 Edad promedio 34,1 \pm 3,933,9 \pm 3,034,5 \pm 4,0 Número de intentos 2,2 \pm 1,91,9 \pm 1,12,4 \pm 1,7 Proporción FIV/ICSI 76/170 (45%) 46/89 (52%) 79/177 (%) Número de oocitos recuperados 10,7 \pm 5,6 a 14,7 \pm 8,0 b 13,8 \pm 6,6 b Número de oocitos maduros recuperados 7,8 \pm 3,3 a 10,8 \pm 5,9 b 10,4 \pm 4,4 b Tasa fecundación 925/1188 (78%) a 686/817 (83%) b 1186/1450 (82%) b Tasa de llegada a blastocisto 340/925 (37%) a 415/686 (60%) b 676/1186 (57%) b Tasa de embarazo clínico 71/170 (42%) a 51/89 (57%) b 92/177 (52%) b Tasa de implantación 85/340 (25%) a 73/178 (41%) b 191/531 (36%) b Tasa de embarazo múltiple ≈ 2 13/71 (18%) a 20/51 (40%) b 33/92

(36%) b Tasa de embarazo múltiple (≥3) 1/71 (1%) a2/51 (4%) a 16/92 (17%) b Tasa de aborto 11/71 (15%) 5/51 (10%) 12/92 (13%) Tasa de embarazo ectópico 1/71 (1,5%) 1/51 (2%) 1/92 (1,5%) Tasa de nacimientos 59/170 (35%) a 45/89 (51%) b 79/177 (45%) ab (a,b) Valores con diferente letra dentro del renglón difieren significativamente (P<0,05)

CONCLUSIONES: En aquellas pacientes con 3 o más blastocistos disponibles para transferir las tasas de éxito son similares si se transfieren 2 ó 3 embriones. Pero debido a que la transferencia de 3 blastocistos produce un incremento significativo de los embarazos múltiples ≥3 fetos, es recomendable reducir a 2 el número de embriones a transferir.

RESULTADOS LUEGO DE TRANSFERENCIAS DE EMBRIONES VITRIFICADOS ELECTIVAMENTE EN UN ÚNICO CICLO DE FIV: PUEDEN SER REEMPLAZADAS LAS TRANSFERENCIAS EN FRESCO

ZABALA [*], L. BLANCO, G. REY VALZACCHI, T. PESSINO, A. AHUMADA PROCREATE, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

OBJETIVOS: evaluar la tasa acumulativa de embarazo e implantación luego de transferencias embrionarias de embriones vitrificados/desvitrificados de único ciclo de FIV.

DISEÑO: serie de casos.

MATERIALES Y MÉTODOS: se analizaron 44 pacientes (rango de edad 23 a 43 años) que realizaron tratamiento de alta complejidad en un periodo de 12 meses (diciembre 2008 a 2009) sin transferencia en fresco por distintos motivos: riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO) = 32 pacientes o factor uterino (FU) = 12 pacientes (Dificultad en Transferencia o Endometrio inapropiado). El principal resultado buscado fue tasa de embarazo clínico definido como saco gestacional con evidencia de latido embrionario 30 días posteriores a la transferencia embrionaria y el secundario fue tasa de implantación definida como presencia de saco gestacional por ultrasonografía/ embriones transferidos. La estimulación ovárica se realizó con esquema de antagonistas. La preparación endometrial para transferencia de embriones desvitrificados se utilizó ciclo natural así como reemplazo hormonal en esquema flexible. Se vitrificaron un total de 369 embriones con técnica de Kuwayama (Theriogenology 67:73,2007) en estado de 8 células o de blastocito. 208 embriones fueron posteriormente desvitrificados de los cuales 169 fueron transferidos en un total de 73 ciclos con un promedio de 2,5 embriones transferidos por ciclo. La tasa de sobrevivencia embrionaria a la desvitrificación definida como más 80% de los blastómeros intactos fue del 94%.

RESULTADOS: 30 embarazos clínicos fueron alcanzados, 17 recién nacidos vivos y 11 embarazos evolutivos a la fecha de esta presentación. La tasa de embarazo por paciente fue 66% y por ciclo de embrio-transferencia del 41 %. La tasa de implantación fue 21%. Los resultados fueron similares en ambos grupos de pacientes.

CONCLUSIONES: los resultados presentados apoyan el rol de la vitrificación en los programas de reproducción asistida en los casos en que la transferencia en fresco no es posible o no es conveniente y nos plantea que diferir la transferencia a un ciclo sin hiperestimulación hormonal podría ser una opción para evitar los posibles efectos que ella tiene sobre el endometrio mejorando los resultados.

RESULTADOS REPRODUCTIVOS EN PACIENTES CON RIESGO DE DESARROLLAR SÍNDROME DE HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA (SHO), LUEGO DE LA MADURACIÓN OVOCITARIA CON AGONISTAS DE GnRH VS GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA (HCG)

ALVAREZ PLETA MARÍA EUGENIA, TERRADO GIL GUILLERMO, HORTON MARCOS, de ZÚÑIGA IGNACIO, SOBRAL FABIO, BOUZAS NORA Pregna Medicina Reproductiva, CABA, Argentina.

OBJETIVO: Comparar el desarrollo embrionario y la evolución clínica de un grupo de pacientes con riesgo de desarrollar SHO al realizar la maduración ovocitaria con agonistas de GnRH vs. hCG.

DISEÑO: Análisis retrospectivo sobre una base de datos prospectiva

MATERIAL Y MÉTODO: De los ciclos realizados en el período octubre 2007 y octubre 2010, se analizaron únicamente aquellos que no fueron transferidos en fresco por decisión y criterio médico por el riesgo de presentar SHO (53 ciclos). Su descarga fue realizada en 18 (34%) casos con agonista de GnRH (acetato de leuprolide 1mg, grupo A) y en los 35 (66%) restantes con hCG (5000-10000 UI, grupo B). Se analizó en forma retrospectiva la base de datos electrónica evaluando características demográficas, embriológicas y clínicas.

RESULTADOS: Al analizar ambos grupos, no se hallaron diferencias significativas en relación a sus características demográficas, parámetros clínicos de la estimulación ovárica ni reserva ovárica. El número de ovocitos totales en el grupo A fue de 25.7 ± 7.9 con 18.6 ± 8.3 de ellos en metafase II ($71.9\% \pm 17.6$); y en el grupo B observamos un número de ovocitos totales de 22.3 ± 6.7 con 16.7 ± 5.1 de ellos metafase II ($76\% \pm 12.8$). Las tasas de fertilización (77.4 ± 19.4) en el grupo A y (76.0 ± 12.8) en el grupo B y desarrollo embrionario, fueron similares en ambos grupos.

Respecto a la evolución clínica, si bien no se halló una diferencia estadísticamente significativa, se observó que un 11,4 % (4/35) de las pacientes del grupo B presentaron sintomatología de SHO grave requiriendo internación a diferencia de las pacientes del grupo descargadas con agonistas (grupo A) en el que ninguna paciente presentó dicha complicación.

CONCLUSIONES: El uso de agonistas de GnRH en reemplazo de hCG para la maduración ovocitaria en pacientes con riesgo de desarrollar un SHO constituye una opción que permite obtener resultados similares en relación a parámetros reproductivos pero con una evolución clínica más favorable y menor incidencia de la forma severa de SHO, mostrando una tendencia que deberá ser reevaluada con un mayor número de casos.

COLUMNAS DE ANEXINA O HIALURONATO (PICSI) PARA SELECCIÓN ESPERMÁTICA EN PACIENTES CON INCREMENTO EN LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN. CUÁL ES MEJOR ?

REY VALZACCHI GASTÓN, MENACHO MARÍA LAURA, ETCHEGOYEN ORLANDO, LEOCATA FRANCO, MAGGIOTTO GISELA, CARRERE CARLOS Procreate, Red de Medicina Reproductiva y Molecular

OBJETIVO: Comparar los resultados de fertilización in Vitro utilizando dos técnicas de selección espermática (columnas de anexina o PICSI) en pacientes con una fragmentación del ADN espermático mayor al 20%.

DISEÑO: Estudio retrospectivo de grupos de casos comparativo

MATERIALES Y MÉTODOS: Se seleccionaron 100 parejas que realizaron un tratamiento de reproducción asistida con los siguientes criterios de inclusión: mujer hasta 40 años, niveles séricos de FSH basal normal, 4 ó más ovocitos metafase II recuperados en la punción folicular y nivel de fragmentación del ADN espermático mayor al 20% evaluado por técnica de TUNEL. En 59 pacientes la muestra espermática fue preparada con columnas de anexina (grupo A) y en 41 con técnica de PICSI (grupo P). El uso de una u otra técnica fue determinado por el médico tratante. Las columnas de anexina se fundamentan en la utilización de complejos de microesferas metálicas unidas a anexina, que permiten separar los espermatozoides con ADN fragmentado al pasarlos por tubos con sus paredes imantadas. Para la técnica de PICSI se incuban los espermatozoides en una placa que posee una capa de hialuronato, utilizándose los espermatozoides que quedan unidos a la misma; estos presentan un menor índice de fragmentación de ADN. Se evaluó en cada grupo la tasa de embarazo, tasa de implantación y tasa de aborto. El tratamiento estadístico fue realizado con pruebas de t de student y chi cuadrado.

RESULTADOS: No hubo diferencias en ambos grupos en las edades de la mujer, del hombre, los niveles de FSH y estradiol basal, los parámetros espermáticos, el número de tratamientos previos y el porcentaje de fragmentación de ADN espermático. Las tasas de embarazo, implantación y aborto no mostraron diferencias significativas en ambos grupos.

	Anexina	PICSI	p
Tasa de embarazo (%)	37	34	0,783
Tasa de implantación(%)	21	16	0,334
Tasa de aborto (%)	30	38	0,710

CONCLUSIONES: En este grupo poblacional los resultados utilizando columnas de anexina o PICSI son equivalentes. Se observa una tasa de aborto mayor a la tasa habitual, posiblemente relacionado al tamaño de la muestra estudiada o a que estas técnicas no puedan seleccionar aquellos espermatozoides con un grado menor de fragmentación o con inicio del proceso del mismo.

EMBARAZO EXITOSO LUEGO DE ACTIVACIÓN OVOCITARIA CON IONOFORMO DE CALCIO, EN PACIENTES CON FALLA COMPLETA DE FERTILIZACIÓN POST ICSI PRESENTACION DE 2 CASOS

F. LORENZO [*], E. YOUNG OBEJERO, M. TIBERON, C. LOMBARDI, G. MERCEDES, M. VILLAMAYOR

Instituto de Ginecología e Infertilidad (IFER), CABA, Argentina.

La falla completa de fertilización, post ICSI, se debe fundamentalmente a alteraciones estructurales, asociadas generalmente a espermatozoide y su incapacidad de activar al ovocito.

Presentamos, 2 casos de falla completa de fertilización post ICSI.

En el ciclo posterior se realizó activación ovocitaria con ionoformo de calcio, teniendo tasa de fertilización de entre 70 y 100%, y posterior embarazo en ambos casos, con nacido vivo sano en uno, y embarazo normal en curso en el otro.

CONCLUSION: Queremos remarcar la importancia de pensar en esta alternativa a emplear, en casos severos como los presentados.

"EMBRIONES CON CLIVAJE "LENTO": RESULTADOS REPRODUCTIVOS CON TRANSFERENCIA UTERINA Y TUBARIA"

VIGLIERCHIO INÉS, VILELA MARTÍN, TIVERON MARISA, GUIDOBONO MERCEDES, KENNY ALBERTO, VALCARCEL ALBERTO
IFER, Departamento de Ginecología, Buenos Aires, Argentina.

OBJETIVO: Evaluar los resultados reproductivos de la transferencia de embriones "lentos" y compararlos con transferencias que incluían embriones de clivaje "normal", a su vez, comparar los resultados de la transferencia embrionaria en día 2 o 3 de desarrollo y los obtenidos para la transferencia tubaria en día 2 de embriones con clivaje "lento". Diseño: Estudio comparativo, retrospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Incluimos los ciclos de Alta Complejidad realizados entre 2001 y 2007. El Grupo Embriones Lentos (GEL, n=541) incluyó a transferencias en las que sólo se transfirieron embriones "lentos", mientras que el Grupo Embriones Normales (GEN, n=1106), en las que se transfirió al menos un embrión con clivaje "normal". Se analizaron las tasas de fecundación, embarazo clínico, aborto y nacidos vivos y se agregaron los mismos análisis para tres grupos de transferencia del sólo embriones lentos:

- a) tubárica en día 2 (Grupo TET, n=112)
- b) uterina en día 2 (Grupo ET D2, n=70)
- c) uterina en día 3 (Grupo ET D3, n=359).

Los análisis estadísticos utilizados: χ^2 test y test de Student.

RESULTADOS: La edad promedio de los pacientes, el número de oocitos MII, la tasa de fecundación y el número de embriones transferidos no mostraron diferencias significativas para los grupos GEL y GEN, respectivamente.

	Embriones Lentos	Embriones Normales	Significancia
Embarazo Clínico	26,6% (144/541)	55,4 % (613/1106)	p<0,0001
Tasa de Aborto	20,8% (30/144)	13,5% (83/613)	p<0,01
Tasa de Nacidos	21,1% (114/541)	47,9% (530/1106)	p<0,0001

	Grupo TET	Grupo ET D2	Grupo ET D3	Significancia
Edad	35,0 +/- 2,7	35,9 +/- 2,3	34,8 +/- 3,5	NS
Oocitos MII	6,5 +/- 3,5	5,7 +/- 3,7	6,1 +/- 3,6	NS
Tasa de Fecundación	81,4 +/- 18,8	88,6 +/- 17,2	79,3 +/- 18,5	p<0,01
Número de Embriones Transferidos	3,5 +/- 0,6	3,2 +/- 1,0	3,3 +/- 0,8	NS
Embarazo Clínico	62,5 (70/112)	29,6 (16/54)	20,0 (72/359)	p<0,0001
Tasa de Aborto	17,1 (12/70)	18,7 (3/16)	20,8 (15/72)	NS
Tasa de Nacidos	51,7 (58/112)	24,1 (13/54)	15,9 (57/359)	p<0,0001

CONCLUSIONES: La tasa de embarazo clínico mostró ser significativamente menor y la tasa de aborto significativamente mayor que en los ciclos que presentaron al menos algún embrión con clivaje "lento". La transferencia tubárica en día 2 mostró tasas de embarazo clínico y nacimiento significativamente mayores comparadas con las obtenidas por la transferencia uterina en día 2 o 3 en pacientes con embriones de clivaje "lento".

LA PROGRAMACIÓN DE CICLOS DE FERTILIZACIÓN ASISTIDA CON ANTICONCEPTIVOS ORALES NO AFECTA SUS RESULTADOS

PORRATI L., VILELA M., ZAPPACOSTA M.P., MARCONI, M., VALCARCEL A., MARCONI G

OBJETIVO: Evaluar la tasa de embarazo en ciclos de estímulo con antagonistas de GnRH con y sin tratamiento previo con anticonceptivos orales (ACO) (Objetivos secundarios: días de estímulo, dosis de gonadotropinas, número de ovocitos MII, tasa de fertilización, embriones de buena calidad y tasa de implantación).

DISEÑO: Estudio prospectivo, randomizado. Análisis estadístico: χ^2 test (datos categóricos), t test (datos paramétricos).

MATERIALES Y MÉTODOS: Se randomizaron 210 pacientes con indicación de FIV (fertilización in Vitro). Criterios de inclusión: <39 años, FIV primer intento, FSH <12 mUI/ml. Pacientes con PCO (poliquistosis ovárica), cirugía ovárica previa o realización de TESE fueron excluidos. Grupo A (N=101): pretratamiento con 0.02 mg etinilestradiol 0.1 mg levonorgestrel durante 21 días en el ciclo previo. Estimulación: FSH recombinante (rFSH) 200 UI/día desde el día 2-3 del ciclo. Grupo B (N=104): Igual esquema de estímulo, sin pretratamiento. Ambos grupos recibieron antagonistas de GnRH (Cetrorelix 0.25 mg subcutáneo-protocolo flexible), comenzando con folículo de 14 mm, continuando diariamente hasta el día de aplicación de la hCG (250 μ g rec).

RESULTADOS: Se asignaron 105 pacientes a cada grupo. Se cancelaron 5 ciclos (4 grupo A y 1 grupo B). No se observó diferencia significativa en la dosis de gonadotropinas (2411,61 +/- 774,13 UI vs 2251,43 +/- 524,82 UI, NS), Nº días de estímulo (10,35 +/- 1,94 vs. 10,57 +/- 1,47 NS), tasa de fertilización (72,16 % vs 77,77%, NS), tasa de implantación (23,13% vs. 19,98%, NS).

El N° ovocitos captados fue menor en el grupo A (8,93+/-5,41 vs 11,85+/-8,23 S), igual que el N° de ovos MII (6,96+/-4,12 vs 8,99+/-6,29 S), el N° de embriones (4,71+/-2,89 vs 6,17+/-3,93 S) y la tasa de embriones de buena calidad (52,12% vs 67,21%, S).

La tasa de embarazo fue significativamente mayor en el grupo A (61% grupo A vs 43% grupo B, p<0.05).

CONCLUSIÓN: A pesar de que en pacientes tratadas previamente con ACO en ciclos de estimulación con antagonistas de GnRH, se obtuvo menor número de ovocitos, la proporción de ovos MII y embriones, se mantuvo constante en ambos grupos. En nuestra experiencia, aumentó significativamente la tasa de embarazo.

Dado que además, permite programar el ciclo sin interferir con la respuesta ovárica, constituye una herramienta valiosa en este tipo de protocolos de estimulación ovárica.

RESULTADOS CLÍNICOS DE ICSI MEDIANTE EL USO DE COLUMNAS DE ANEXINA V EN OVODONACIÓN

C. ALVAREZ SEDÓ [*], H. URIONDO, V. GIL, A. COSCIA, M. LAVOLPE, F. NODAR

CEGyR (Centro de Estudios en Ginecología y Reproducción), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

OBJETIVO: Evaluar los resultados clínicos del uso de columnas de Anexina V en pacientes con apoptosis espermática en ciclos de ovodonación. Diseño: Estudio retrospectivo controlado.

MATERIALES Y MÉTODOS: La población comprendió el análisis de casos de ICSI en ciclos de ovodonación. Los varones fueron estudiados previamente para conocer el índice de apoptosis espermática: fragmentación del ADN (TUNEL) y caspasa 3 activa (C3A). Los valores de normalidad para TUNEL y C3A fue ≤ 20% y ≤ 11% respectivamente. Se designaron tres grupos: A) TUNEL y/o C3A alterada que realizaron columnas de Anexina V (Tratamiento, N= 76 casos), B) TUNEL y/o C3A alterada que no realizaron columnas de Anexina V (Control 1, N=35 casos) y C) TUNEL y/o C3A normal que no realizaron columnas de Anexina V (Control 2, N=44 casos). Se comparó en los tres grupos el N° de ovocitos MII asignados, tasa de fertilización, _HCG positiva, embarazo evolutivo, implantación y abortos pre-clínicos y clínicos. El análisis estadístico se realizó mediante las pruebas de t-student y chi-cuadrado según corresponda.

RESULTADOS: La edad de los conyugues, receptoras y donantes no mostraron diferencias significativas entre los grupos. De igual manera el número de ovocitos asignados por paciente (A=6.4, B=6.1 y C=6.6) y la tasa de fertilización (A=79.6%, B=80.1% y C=75.1%) no presentaron diferencias significativas. El valor promedio de TUNEL y C3A en el grupo A fueron de: 21.8% y 13.1%, B: 20.2% y 16.7%, C: 9.6% y 5.3% respectivamente. Los resultados clínicos entre los grupos A (Tratamiento) y B (Control 1) mostraron tener diferencias significativas en el número de embarazos evolutivos (43% vs 23%), tasa de implantación (29% vs 14%) y abortos pre-clínicos (5.5% vs 17%) (p<0.05). No se encontraron diferencias significativas en los resultados clínicos entre los grupos A y C (Control 2).

CONCLUSIÓN: El uso de columnas de Anexina V en pacientes con niveles alterados de apoptosis espermática permitió obtener resultados clínicos similares a los pacientes con niveles normales de apoptosis. La no utilización de columnas de Anexina V en pacientes con apoptosis espermática podría provocar la disminución significativa de las tasas de implantación y embarazos evolutivos, aumentando significativamente la probabilidad de abortos.

¿ES EL ARN EN ESPERMATOZOIDES EYACULADOS UN RESIDUO DE LA ESPERMATOGÉNESIS O TIENE UN ROL FUNCIONAL?

AVENDAÑO CONRADO^{1,2,3} [*] Y OEHNINGER SERGIO³

¹LEBE, Puerto Madryn, Chubut, Argentina; ²Nascentis Medicina Reproductiva, Córdoba, Argentina; ³The Jones Institute for Reproductive Medicine, Norfolk, Virginia, USA

OBJETIVO: El núcleo del espermatozoide contiene una cantidad variada de moléculas de ARNm que podrían ser potencialmente transmitidas al ovo-

cito en el momento de la fertilización. El rol funcional de estos transcritos no está claro; se ha especulado que podrían constituir un vestigio residual no funcional de la etapa final de la expresión génica espermática, contribuir activamente a la embriogénesis y/o al silenciamiento de genes. Este estudio evaluó el perfil de los ARNm en espermatozoides eyaculados, su correlación con las características seminales, y su rol potencial luego de la fertilización.

DISEÑO: Colección prospectiva de muestras de semen, análisis seminal y de ARNm en espermatozoides.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se estudiaron 25 muestras de semen. Los parámetros seminales (volumen, concentración, movilidad y morfología) fueron evaluados luego de licuefacción completa. Se realizó *swim up* con el fin de recuperar espermatozoides libres de células somáticas y contaminantes. Un total de 1 X 10⁶ espermatozoides por muestra fue utilizado para la extracción de ARN. Para la cuantificación de ARNm se utilizó RT-PCR en tiempo real, utilizando beta actina para obtener valores normalizados. Tres transcritos fueron evaluados, protamina 2 (PRM2), glicoproteína 1 específica de embarazo (PSG1), y el antígeno de histocompatibilidad HLA-E. Se utilizó un modelo ICSI heterólogo (espermatozoides humanos-ovocitos de hamster) para evaluar la permanencia de los transcritos luego de 12 horas post fertilización a través de RT-PCR en cada cigoto. El coeficiente de correlación Pearson fue utilizado para comparar parámetros.

RESULTADOS: PRM2, PSG1 y HLA-E fueron detectados por RT-PCR en todas las muestras de semen. La comparación entre grupos y los coeficientes de correlación son resumidos en la tabla.

		PRM2	PSG1	HLA-E
Volumen (mL)	Coef. de correlación	-0,159	0,130	0,103
	p value	0,447	0,535	0,626
Concentración (X 10 ⁶ /mL)	Coef. de correlación	0,198	0,204	-0,153
	p value	0,344	0,327	0,466
Movilidad (%)	Coef. de correlación	0,093	-0,140	-0,162
	p value	0,657	0,504	0,438
Morfología (%)	Coef. de correlación	0,324	0,151	-0,339
	p value	0,114	0,472	0,097

Transcritos de HLA-E y PSG-1 permanecieron detectables en los cigotos por lo menos por 12 horas luego de la fertilización, mientras que PRM2 no fue detectada.

CONCLUSIONES: El perfil de ARNm en espermatozoides eyaculados no muestra correlación con los parámetros seminales. La presencia diferencial de transcritos de HLA-E y PSG-1 provenientes del espermatozoide fue encontrada en ovocitos fecundados. Ambos resultados, descartan la teoría de una presencia residual de los transcritos sin ninguna función posterior y, por el contrario, su permanencia en cigotos apoya el concepto de una posible implicancia en el desarrollo del embrión.

CONTEO FOLICULAR Y DETECCIÓN DE GENES VINCULADOS A LA APOPTOSIS EN TEJIDO OVÁRICO HUMANO DESTINADO A VITRIFICACIÓN DE PACIENTES CON CÁNCER

M. I. ALBAMONTE [*], A. MEILERMAN, M. S. ALBAMONTE, L. ZUCCARDI, R. QUINTANA, A. VITULLO

Centro de Estudios Biomédicos, Biotecnológicos, Ambientales y Diagnóstico (CEBBAD), Universidad Maimónides

La quimioterapia y la radioterapia, presentan como daño colateral la depleción de la reserva gonadal, causando infertilidad femenina. Es por ello que la criopreservación de tejido ovárico es una alternativa para preservar la fertilidad en pacientes prepúberes e infantiles. Algunos trabajos focalizan el análisis en el estudio morfológico del tejido antes y después de la congelación evaluando la posible injuria y daño ultraestructural del ovario con posible incremento en la tasa de apoptosis. La muerte celular progra-

mada es el mecanismo responsable de la pérdida masiva germinal. En ella participan genes de la familia BCL-2, como BCL-2 y MCL-1 (antiapoptóticos) y BAX y BID (proapoptóticos).

Otros análisis estiman la importancia del conteo folicular como representación de la masa germinal a pesar que la distribución anatómica folicular es heterogénea y al azar. El objetivo del trabajo fue analizar simultáneamente el conteo folicular y la evaluación morfológica por hematoxilina-eosina en fragmentos de tejido ovárico de pacientes que ingresan al programa de criopreservación. A su vez, analizar por inmunohistoquímica y Western Blot las proteínas BCL-2, BAX, BID y MCL-1 y apoptosis por TUNEL.

Este trabajo ha sido autorizado por el Comité de Ética de la Universidad Maimónides. Se analizaron fragmentos de ovario de pacientes infantiles, puberales y adultas que han ingresado al programa de criopreservación de tejido para preservación de la fertilidad, antes o durante el tratamiento oncológico. Se incluyeron 7 muestras de las siguientes edades (años): 12, 13, 16, 18 (n=2), 19 (n=2). Todas presentaron diagnóstico histológico normal realizado por el Servicio de Anatomía Patológica. En todas las muestras se registró foliculogénesis activa. Las proteínas analizadas fueron detectables en todas las muestras. Se registró TUNEL positivo solo en folículos antrales. El valor absoluto del conteo folicular primordial ofreció una estimación de la reserva ovárica. Los resultados obtenidos para BAX, MCL-1, BID y TUNEL están en concordancia con los resultados previos obtenidos de pacientes infantiles, juveniles y adultas normales. La proteína antiapoptótica BCL-2 se detectó en todos los estadios foliculares. Esto se contraponen a los resultados obtenidos en estudios previos en ovarios normales. Pero está en concordancia con lo observado en un ovario de 4 años con carcinoma de saco vitelino.

NIVELES DE CORRELACIÓN ENTRE LA EXTERNALIZACIÓN DE FOSFATIDILSERINA Y APOPTOSIS ESPERMÁTICA EN PACIENTES CON INFERTILIDAD MASCULINA

C. ALVAREZ SEDÓ, H. URIONDO [*], V. GIL, P. FRAZER, J. SERNA, F. NODAR
CEGyR (Centro de Estudios en Ginecología y Reproducción)

OBJETIVO: Evaluar los niveles de externalización de fosfatidilserina-PS (apoptosis temprana) y los eventos de apoptosis tardías (caspasa-3 activa y fragmentación del ADN) en pacientes con infertilidad masculina.

DISEÑO: Estudio retrospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Cincuenta y dos pacientes fueron evaluados para cuantificar los niveles de PS, caspasa-3 activa (C3A) y fragmentación del ADN. Los pacientes fueron agrupados según el criterio de morfología de Kruger en: $K \leq 4\%$ (A), $5\% \leq K \leq 13\%$ (B) y $K \geq 14\%$ (C). Así mismo, se evaluó el impacto de la edad en la población considerándose pacientes ≤ 35 años (I), entre 35- 45 años (II) y aquellos ≥ 45 años (III). La fracción móvil de espermatozoides fue obtenida mediante el uso de un gradiente de dos capas (45-90). Una fracción del pellet fue incubada con una alícuota de Anexina V (AnV) para evaluar la externalización de PS. La fracción restante fue fijada y procesada para la evaluación de C3A por inmunocitoquímica y fragmentación del ADN por TUNEL. Los tres marcadores fueron evaluados por microscopía de fluorescencia contando 500 espermatozoides por marcador. El análisis estadístico se realizó con ANOVA y correlación de Pearson.

RESULTADOS: En la población estudiada, los niveles de AnV, C3A y TUNEL fueron 18.9%, 10.4% y 16.3% respectivamente. La correlación entre AnV vs. C3A y TUNEL fue de 0.54 y 0.55 ($p < 0.05$). En los grupos A, B y C los valores promedio de AnV fueron 24.8%, 17% y 13.3% respectivamente ($p < 0.05$). Los valores de AnV por grupo etario fueron 15.4% (I), 19% (II) y 29.3% (III) ($p < 0.05$). Sin embargo, los valores de C3A no mostraron tener diferencias significativas en los grupos estudiados. Los valores de TUNEL fueron significativamente superiores tanto en el grupo A (22.2%) así como en el grupo III (20.3%) ($p < 0.05$). Finalmente, la correlación (R2) entre la AnV vs C3A y TUNEL fue superior en los grupo A (0.90 y 0.77) y III (0.94 y 0.81), $p < 0.05$.

CONCLUSIÓN: Existe correlación positiva entre la externalización de PS (AnV) y los marcadores de apoptosis tardía. En la población estudiada, los niveles de externalización de PS y TUNEL son significativamente superiores en los casos con teratozoospermia severa ($K \leq 4\%$) y edad ≥ 45 años.

PROLIFERACION Y APOPTOSIS DE LA GONADA FEMENINA HUMANA EN DESARROLLO: ANALISIS DE LA EXPRESION DE PCNA, BID CLIVADO Y CASPASA-3 ACTIVA

MEILERMAN ABUELAFIA ANALIA¹, ALBAMONTE MARÍA ITATI¹, ALBAMONTE MIRTA¹, STELLA INÉS^{1,2}, GALLIANOSILVIA³, VITULLOALFREDO¹

¹Centro de Estudios Biomédicos, Biotecnológicos, Ambientales y Diagnóstico –CEBBAD- Universidad Maimónides.

²Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Rivadavia.

³Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de Merlo.

Analizar la dinámica proliferativa y apoptótica de la célula germinal durante el desarrollo del ovario fetal humano. En el periodo fetal se originan 7 millones de oogonias, el 85% de éstas serán eliminadas al nacimiento por apoptosis mediada por genes de la familia BCL-2 (B-cell lymphoma 2). El balance entre BCL-2 y BAX (Bcl-2-like protein4) determina sobrevida o muerte de la célula germinal. Se analizó la expresión temporoespacial del marcador de proliferación celular PCNA (Proliferating cell nuclear antigen), gen pro apoptótico BID (BH3-interacting domain death agonist) CLIVADO y marcador de apoptosis CASPASA-3 ACTIVA. Se estudiaron 23 ovarios fetales entre 7 y 38 semanas de gestación (7s-38s), mediante inmunohistoquímica e inmunofluorescencia, utilizando microscopía óptica y confocal. PCNA se detecta intensamente desde la 7s hasta la 20s en núcleo de oogonias, disminuyendo de manera sostenida hacia el final de la gestación. BID CLIVADO se detecta débilmente a partir de la 16s aumentando su expresión durante el segundo trimestre y disminuyendo al final de la gestación en citoplasma de oogonia, folículos primordiales y primarios. CASPASA-3 ACTIVA se detecta desde la 12s aumentando su expresión hacia la 20s y disminuyendo hacia el final de la gestación, con localización citoplasmática en oogonias y en folículos en distintos estadios. En conclusión, la intensa inmunodetección de PCNA en oogonias desde la 7s hasta la 20s coincide con el periodo proliferativo del ovario fetal en desarrollo. La máxima inmunodetección de BID CLIVADO y CASPASA-3 ACTIVA en oogonias y en folículos primordiales es observada a la mitad de la gestación (20s), coincidiendo con la mayor tasa de apoptosis, para disminuir hacia el tercer trimestre. Estos resultados sustentan la existencia de intensa proliferación hacia la 20s en oogonias que disminuye hacia el final de la gestación, a partir de este punto la inmunomarcación de marcadores apoptóticos se ve aumentada tanto en oogonias como en folículos primordiales. Estos resultados sugieren la existencia de una acción concertada entre la proliferación (PCNA) y la apoptosis (BID CLIVADO y CASPASA-3 ACTIVA) con un patrón específico de manifestación temporoespacial en el ovario fetal humano en desarrollo. El trabajo fue revisado y autorizado por el Comité de Ética de la Universidad Maimónides.

UTILIZACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA CON TRANSFORMADA DE FOURIER Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO MULTIVARIADO

PARA ESTIMAR EL POTENCIAL REPRODUCTIVO EMBRIONARIO
GARCEA MARCELO, BISIOLI CLAUDIO, GOMEZ PEÑA MARIANA, CALDEROLI PRISCILLA, YANTORNO OSVALDO, BOSCH ALEJANDRA
Pregna Medicina Reproductiva, CABA, Argentina.

DISEÑO: Experimental, Descriptivo.

OBJETIVO: Estudiar el *fingerprinting* metabólico obtenido de espectros FT-IR de sobrenadantes de cultivo de embriones para evaluar la posibilidad de desarrollar un modelo estadístico multivariante que permita discriminar el potencial reproductivo de los embriones. Para este propósito se analizaron las posibles interferencias espectrales que pudieran enmascarar dicha discriminación.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se analizaron 30 muestras de sobrenadante del cultivo de embriones provenientes de 15 pacientes cuyo resultado de FIV-ET fue luego conocido. Treinta microlitos de cada sobrenadante de cultivo fueron transferidos a ventanas de ZnSe y secados a temperatura ambiente por 20 minutos. Los espectros FT-IR fueron registrados en el rango 4000 y 650 cm^{-1} con 6cm^{-1} de resolución espectral empleando un espectrómetro FT-IR Spectrum One de Perkin Elmer. Se calculó la derivada pri-

mera y segunda de los espectros registrados a fin de aumentar la resolución de los mismos. Las derivadas fueron normalizadas vectorialmente en todo el rango espectral. El análisis de los espectros se llevó a cabo mediante métodos multivariantes calculando las distancias espectrales empleando el coeficiente de Pearson y los dendrogramas construidos empleando el algoritmo de Ward. El pre-tratamiento y análisis espectral fueron realizados utilizando el software OPUS, version 4 (Bruker Optics).
RESULTADOS: En primer lugar se estandarizaron las condiciones de toma de muestra y registro de espectros de manera de reducir la varianza espectral a niveles que permitieran la discriminación. Analizando y combinando las diferentes ventanas espectrales (3000-2800 cm^{-1} región asignada a absorción de lípidos, 1200-900 cm^{-1} región mixta, y 1200-900 cm^{-1} región asignada a absorción de carbohidratos) en las derivadas primeras de los espectros de los sobrenadantes de los cultivos de embriones, se encontró que el patrón espectroscópico de los sobrenadantes de los cultivos de embrionarios que resultaron en embarazo fue diferente al patrón espectroscópico encontrado para los sobrenadantes de embriones que no resultaron en embarazo. Aplicando un análisis estadístico multivariante en una combinación apropiada de estas ventanas, se logró clasificar los espectros en aquellos que desarrollaron embarazo de los que no.
CONCLUSIONES: Este estudio preliminar permitió demostrar que FTIR representa una herramienta de valor para discriminar el potencial reproductivo embrionario.

ESTUDIO DE LA CALIDAD INMUNOLOGICA DEL ENDOMETRIO EN MUJERES CON ESTERILIDAD SIN CAUSA APARENTE

G. JUNOVICH [*], A. AZPIROZ, C. LUCINI, M. INCERA, S. PASQUALINI, G. GUTIERREZ

Halitus Instituto Médico, Ciudad Autonoma de Buenos Aires, Argentina.

OBJETIVO: Cuando se han descartado las causas mas comunes asociadas a la esterilidad, se considera que el 80% del fracaso reproductivo se encuentra asociado a un desbalance inmunológico. Dentro de este enfoque se postula que debe existir un delicado equilibrio entre la expresión de citoquinas y las subpoblaciones de células asesinas naturales (NK) propias del endometrio. Si bien existe suficiente evidencia científica del papel que juegan estos marcadores en la etiología del aborto recurrente, aun faltan estudios de su implicancia en la falla implantatoria. En base a estos datos decidimos estudiar la capacidad diagnóstica de las células NK y las citoquinas IL-6 y VEGF, como posibles marcadores bioquímicos endometriales de infertilidad.

DISEÑO: Analítico, observacional, prospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Muestras de tejido endometrial y sangre periférica de de 14 mujeres fértiles y 27 pacientes con esterilidad sin causa aparente y fallas de implantación (ESCA-FI), fueron obtenidas 5-8 días post-ovulación. La expresión de células NK fue determinada por citometría de flujo, mientras que las citoquinas VEGF, IL-6, fueron determinadas por ELISA en los sobrenadantes de cultivos de 48hs de células endometriales y en mononucleares de sangre periférica. El análisis estadístico fue por la prueba t no apareada y cuvas ROC.

RESULTADOS: Las pacientes ESCA-FI tienen el recuento total de células NK citotóxicas (CD9+CD56+CD16+) incrementado respecto del grupo control ($p < 0,05$) y presentan valores disminuidos de IL-6 ($p < 0,05$) y VEGF ($p < 0,01$) en el cultivo correspondiente. Estos datos no se correlacionan con los valores obtenidos en las muestras de sangre periférica ($p < 0,05$). El análisis de curva ROC muestra que tanto el recuento total de NK citotóxicas como los niveles de IL-6 y VEGF endometriales, constituyen buenos parámetros diagnósticos para discriminar entre un endometrio fértil y otro infértil ($p < 0,01$).

CONCLUSIONES: Las pacientes ESCA-FI presentan en su endometrio niveles deficientes de IL-6 y VEGF, así como un recuento exacerbado de células NK CD16+ Estos marcadores de buena capacidad diagnóstica, podrían ser utilizados como criterio de decisión terapéutica, o como blanco de nuevas drogas. Más estudios deberán realizarse para explicar los posibles mecanismos implicados en la deficiencia de estas citoquinas y la falla implantatoria, así como para investigar la actividad de las células NK.

LA MORFOLOGÍA OVOCITARIA AFECTA LOS RESULTADOS EN UN PROGRAMA DE OVODONACIÓN?

C. BOGGINO, A. COSCIA, V. GIL, C. ALVAREZ SEDÓ [*], F. NODAR, G. FISZBAJN CEGyR, Capital Federal, Argentina.

INTRODUCCIÓN: Los resultados en los tratamientos de ovodonación se ven afectados por diferentes variables. La morfología ovocitaria es un factor poco estudiado en estos casos, ya que provienen de mujeres jóvenes sin patología y por ende con calidad ovocitaria supuestamente adecuada. Sin embargo, su evaluación podría alentar en la búsqueda de los factores que implican una menor tasa de fertilización y calidad embrionaria y resultados en tasas de embarazo en un programa de ovodonación.

OBJETIVO: Evaluar los resultados de ICSI en cuanto a tasa de fertilización, calidad embrionaria y tasa de embarazo en los distintos patrones de morfología ovocitaria.

DISEÑO: Análisis retrospectivo controlado de ciclos de ovodonación compartida realizados en CEGyR desde enero hasta octubre de 2010.

MATERIALES Y MÉTODOS: se compararon los resultados de aquellos ovocitos que presentaron patrones de morfología ovocitaria alterada (citoplasma granulado, presencia de vacuolas, espacio perivitelino (epv) aumentado y zona pelúcida (zp) engrosada) versus ovocitos con morfología normal. Se analizó la tasa de fertilización, calidad embrionaria y tasa de embarazo clínica. Se excluyó factor masculino severo, semen de donante y técnicas complementarias de selección.

Método estadístico: Test de Anova y Chi cuadrado.

RESULTADOS: Se inyectaron en ICSI 762 ovocitos donados de morfología normal, 1069 granulados, 90 vacuolados, 711 con epv aumentado y 69 con zp engrosada. La tasa de fertilización fue 76,01% (564/762) en ovocitos normales, 70,72% (756/1069) en granulados, 80% (72/90) en vacuolados, 71,02% (505/711) en epv aumentado y 69,62% (52/69) en zp engrosada, $p=0,5128$. La calidad embrionaria para ovocitos normales versus anormales en su conjunto arrojó un valor de $p=0,9633$. La tasa de embarazo en receptoras en las que se transfirieron embriones provenientes de ovocitos normales fue de 45,21% y en las receptoras cuyos embriones provenían de ovocitos con morfología alterada en su conjunto fue 48,92%, $p=0,5755$.

Conclusión: La calidad ovocitaria no parece afectar los resultados en tasa de fertilización, calidad embrionaria y tasa de embarazo cuando se compararon ovocitos normales en relación con ovocitos que presentaron alguna alteración en su morfología.

NUESTRA EXPERIENCIA EN PROCEDIMIENTOS DE REPRODUCCION ASISTIDA CON OVOCITOS VITRIFICADOS

F. RAFFO [*], S. RAO, C. GRANADOS, J. SINGLA, G. TOLOSA, J. BLAQUIER FERTILAB, CABA, Argentina.

OBJETIVO: Describir nuestra experiencia en ciclos de ICSI realizados con ovocitos vitrificados.

DISEÑO: Análisis retrospectivo.

MATERIALES Y METODOS: Estudio realizado en 13 pacientes sometidas a estimulo ovárico y punción ovárica transvaginal. De los ovocitos maduros recuperados, parte se utilizó para ICSI y el resto se vitrificaron y descongelaron según la técnica de Kitazato. Para lograr receptividad uterina recibieron Valerianato de estradiol (6 mg/día, vía oral) y como soporte de la fase lútea se utilizó progesterona micronizada vía vaginal (600mg/día). A los ovocitos descongelados se les realizó en 7 casos ICSI, 4 casos PICS y a 2 casos ICSI con espermatozoides testiculares congelados. Se transfirieron por vía vaginal 2 ó 3 embriones de día 3. Se compararon los resultados con los obtenidos de 220 ciclos de ICSI con ovocitos frescos. Análisis estadístico: Fisher's exacta test.

RESULTADOS: No encontramos diferencia estadística en el grupo que utilizó ovocitos vitrificados (vitri) con respecto al programa de reproducción asistida utilizando ovocitos frescos: fertilización (82% vs 83%), división embrionaria (98% vs 92%), calidad embrionaria (embriones de buena morfología: 56% vs 47%), media de embriones transferidos (2,4 vs 2,2). También la tasa de embarazo clínico fue similar (46% ovocitos vitri vs

40,45% con ovocitos frescos). Datos generales de los procedimientos con ovocitos vitrificados: N° de pacientes: 13, media de edad: 33,7 años, n° ovocitos vitrificados: 94, sobrevida al descongelar: 76% (71/94), media ovocitos por pac 7,2, tasa fertilización: 82% (58/71), división embrionaria: 98,2% (57/58), tasa de embriones de buena calidad (T4+T3): 56% (40/57), media de embriones transferidos: 2,4. Análisis de los embarazos obtenidos luego del procedimiento con ovocitos vitrificados: de las 13 transferencias se obtuvieron 6 embarazos clínicos y 2 bioquímicos. De los 6 embarazos clínicos dos fueron dobles. Ya han ocurrido 2 nacimientos dando origen a 3 niños sanos. Quedan 4 embarazos restantes en curso. Si observamos la técnica utilizada para realizar el procedimiento, vemos que el PICSÍ dió mejor tasa de embarazo clínico que el ICSI convencional (75% vs 43%). Con el empleo de espermatozoides de biopsia testicular solo se obtuvo un embarazo bioquímico.

CONCLUSIÓN: Son muy pocos los datos pero no dejan de ser prometedoros para mejorar las chances de embarazo sin criopreservar embriones ni realizar un nuevo ciclo de inducción ovárica.

OVOCITOS DISMÓRFICOS MÁS ESPERMATOZOIDES APOPTÓTICOS: LAS COLUMNAS DE ANEXINA V MEJORAN LA CALIDAD ESPERMÁTICA PERO NO ASÍ LOS RESULTADOS GLOBALES

BISIOLI CLAUDIO, HORTON MARCOS, de ZÚÑIGA IGNACIO, SOBRAL FABIO, GOMEZ PEÑA MARIANA, COLACI DANIELA
Pregna Medicina Reproductiva, CABA, Argentina.

INTRODUCCIÓN: La clasificación celular por activación magnética utilizando columnas de anexina V es una técnica novedosa con eficiencia probada para separar los espermatozoides no apoptóticos de aquellos que ya iniciaron el proceso de apoptosis externalizando residuos de fosfatidil-serina. Sin embargo, aún no es claro si esta técnica es útil en reproducción asistida cuando otras causas de infertilidad, aparte del factor masculino, están presentes en la pareja infértil. El objetivo del presente estudio fue comparar un grupo de pacientes de mal pronóstico reproductivo tratados con anexinas V, contra otro grupo simultáneo de pacientes con tratamiento convencional del semen, ambos con factor masculino severo y en cuyas parejas se recuperaron un 100% de ovocitos dismórficos.

MATERIALES Y MÉTODOS: Entre Mayo de 2009 y Octubre de 2010 se llevaron a cabo 31 procedimientos de filtración de semen mediante columnas de anexina V e ICSI en 28 parejas con factor masculino severo (fragmentación del ADN > 20%) y una cohorte completa de ovocitos dismórficos. Se analizaron los valores de calidad embrionaria, tasas de fertilización, clivaje y embarazo de este grupo de pacientes comparándolas con un grupo similar de pacientes donde el semen se trató convencionalmente mediante gradientes de densidad, en el mismo período de tiempo.

RESULTADOS: Los grupos de estudio (con anexinas vs. sin anexinas) fueron comparables respecto a la edad de las mujeres (36.2 vs 36.7 años), el protocolo de hiperestimulación ovárica controlada utilizado y el número de embriones transferidos (2.19 vs 2.21). Todas las transferencias analizadas fueron realizadas en fresco. El promedio de ADN fragmentado en el grupo de pacientes tratados con anexinas V fue del 27% (rango 20-46%). No encontramos diferencias significativas entre los pacientes tratados con anexinas V y los del grupo control en relación al número promedio de ovocitos recuperados {8.5 (rango 1-22) vs. 9.1 (rango 3-19)}, la tasa de fertilización (80.2% vs. 69.8%), la de clivaje (100.0% vs. 95.5%), el porcentaje de embriones de buena calidad {43% (65/151) vs. 42.8% (51/119)}, la tasa de embarazo clínico por transferencia {22.5% (7/31) vs. 24.2% (8/33)} y la de nacidos vivos por transferencia {12.9% (4/31) vs. 12.1% (4/33)}.

CONCLUSIONES: La selección de espermatozoides no apoptóticos mediante columnas de anexina V no parecen mejorar el desempeño global de la fecundación in vitro en parejas con factor femenino y masculino asociados. En estos casos de muy mal pronóstico, el tratamiento con columnas de anexina V no parece suficiente para mejorar la calidad embrionaria o las tasas de fertilización, clivaje o embarazo mediante la sola mejora de la calidad espermática.

PRIMER EMBARAZO EN LATINOAMÉRICA UTILIZANDO EL MONITOREO CONTINUO COMO MÉTODO DE SELECCIÓN

P. FRAZER [*], M. LAVOLPE, A. TEIJEIRA, S. PAPIER, A. GRABIA, F. NODAR
Cegyr, CABA, Argentina.

OBJETIVO: Reportar el primer embarazo en Latinoamérica utilizando el monitoreo continuo como método de selección embrionaria. **Materiales y Métodos:** Paciente de 32 años con indicación de ICSI (Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides) por factor masculino severo que fue estimulada con esquema largo supresor y FSHr (hormona foliculo estimulante recombinante) 225 unidades internacionales (UI) por día. La aspiración folicular fue programada a las 35 horas de la administración de 250 mcg (microgramos) de hCGr (gonadotropina coriónica humana recombinante) cuando al menos 2 folículos alcanzaron un diámetro de 18 mm (milímetros). Para seleccionar los embriones a transferir se utilizó un sistema de monitoreo continuo, el cual consta de un microscopio invertido colocado dentro de la incubadora y un sistema digital, programando la cámara para obtener una foto cada 10 minutos.

RESULTADOS: Se obtuvieron 21 ovocitos, se inyectaron 17 y 13 fertilizaron normalmente. Cuatro de ellos fueron colocados en el sistema de monitoreo continuo para su evaluación, los restantes se cultivaron según el protocolo de rutina. En día 3 de desarrollo se evaluó en forma retrospectiva la morfología y la curva de clivaje de los embriones colocados en el sistema de monitoreo continuo, escogiendo de esta manera, los 2 embriones a transferir. Los embriones restantes fueron clasificados según los criterios habituales del laboratorio, 3 se criopreservaron y el resto se cultivaron hasta el estadio de blastocisto. La primer ecografía evidenció un saco gestacional con embrión único y actividad cardíaca positiva.

CONCLUSIÓN: Este es el primer reporte de un embarazo en Latinoamérica luego de seleccionar los embriones a transferir utilizando un sistema de monitoreo continuo.