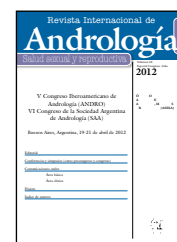


Revista Internacional de Andrología

www.elsevier.es/andrologia



PÓSTERS

V Congreso Iberoamericano de Andrología (ANDRO) VI Congreso de la Sociedad Argentina de Andrología (SAA)

Buenos Aires, Argentina, 19-21 de abril de 2012

CENTROBINA: BIOMARCADOR DEL ESPERMATOZOIDE DECAPITADO

J. Ariagno¹, G. Mendeluk¹, M. Sardi¹, F. Liska², L. Tres³
y A. Kierszenbaum³

¹Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA, INFIBIOC. Hospital de Clínicas "José de San Martín". Buenos Aires. Argentina. ²Instituto de Biología y Genética. Charles University. Praga. República Checa. ³Departamento de Biología Celular y Anatomía. Sophie Davis School of Biomedical Education. City University of New York. EE.UU.

La proteína centrobina (100 kDa) se localiza en los centriolos de células somáticas y en el aparato de acoplamiento cabeza-cola (AACC) de las espermátidas y espermatozoides. El AACC establece una conexión firme entre la cabeza y cola del espermatozoide. La rata mutante *hypodactyly* (*hd*) expresa una forma truncada de centrobina en su extremo C-terminal. Además de exhibir trastornos esqueléticos, una reducción en el número de dígitos en sus patas, los animales machos son estériles debido a la decapitación masiva de las espermátidas durante la etapa final de la espermiogénesis. Ovillos de colas decapitadas se encuentran en el epidídimo. La expresión génica y la localización de centrobina fueron analizadas por PCR e inmunocitoquímica en 22 muestras de espermatozoides, 16 provenientes de pacientes infértiles y 6 de donantes fértiles. Se determinó la ausencia de centrobina ARN mensajero en dos pacientes y una marcada disminución de ARN mensajero en 7 pacientes y en 2 donantes, en correlación con la observación de espermatozoides decapitados. El estudio inmunocitoquímico demuestra la acumulación anormal de centrobina en el AACC y la presencia de centrobina en el extremo libre de la cola donde la decapitación ha ocurrido. Nuestro análisis estructural, bioquímico y molecular de la espermatogénesis del mutante *hd* y de los espermatozoides humanos indica que centrobina es un biomarcador de interés para la evaluación del mecanismo de decapitación del espermatozoide y para la clasificación de las formas clínicas de pacientes con el síndrome de cuello frágil (*easily sperm decapitation syndrome*). Centrobina posee un componente espiralado (coiled-coil) que favorece la formación de homodímeros o heterodímeros. Nuestras observaciones

sugieren que la forma truncada de centrobina afecta la formación de homodímeros o la asociación de centrobina con otras proteínas que participarían en la formación del AACC. Consecuentemente, un defecto en la organización y estabilidad del AACC condiciona la decapitación del espermatozoide.

EFFECTO DEL PRETRATAMIENTO DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS SOBRE LA EFICIENCIA DE LA INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (ICSI)

M.E. Arias¹, R. Sánchez¹, J. Risopatrón¹ y R. Felmer^{1,2}

¹Centro de Biotecnología de la Reproducción (BIOREN-CEBIOR). Facultad de Medicina; ²Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Universidad de La Frontera. Temuco. Chile.

Introducción: El rendimiento de la técnica ICSI en la especie bovina es muy inferior al de otras especies, debido en parte al desconocimiento de las condiciones óptimas para su implementación, lo que ha impedido alcanzar altas tasas de desarrollo embrionario y el nacimiento de un mayor número de animales. El objetivo de este estudio básico fue evaluar el efecto en el desarrollo embrionario de la incubación de espermatozoides bovinos previo a su utilización en la técnica ICSI.

Metodología: Se incubaron espermatozoides con 0,1 mM de NaOH (ICSI-NaOH), tratamiento que había demostrado previamente una alta eficiencia en ratones, con 5 mM de DTT (ICSI-DTT), tratamiento ampliamente utilizado en bovinos y con medio de lavado de espermatozoides (ICSI-ST).

Resultados: La tasa de desarrollo embrionario a las 72 h de cultivo con los tratamientos ICSI-ST e ICSI-DTT (69 y 71% respectivamente) fue superior ($p < 0,05$) a lo observado con ICSI-NaOH (49%) y a los controles ICSI y SHAM (7 y 53%, respectivamente). Resultados similares se observaron en la tasa de generación de blastocistos al día 9, con un 29, 22 y 17% de blastocistos para ICSI-ST, ICSI-DTT e ICSI-NaOH, respectivamente, mientras que la tasa de formación de blastocistos de los controles fue de 0 y 12% (ICSI y SHAM, respectivamente). Adicionalmente, la evaluación de la fecundación exitosa, medido por la formación del pronúcleo masculino o la descondensa-

ción de la cabeza espermática, fue superior en los tratamientos ICSI-ST (77%) e ICSI-DTT (77%), comparado con ICSI-NaOH (57%).

Conclusiones: El pretratamiento de espermatozoides con NaOH y DTT previo a la ICSI, no es necesario para un adecuado desarrollo embrionario *in vitro* en la especie bovina.

OPTIMIZACIÓN DEL ENSAYO DE TUNEL PARA LA EVALUACIÓN DE FRAGMENTACIÓN DE ADN ESPERMÁTICO EN SEMEN

C. Avendaño^{1,2}, S. Bianconi^{3,4} y G. Stutz³

¹Nascentis Medicina Reproductiva. Córdoba. Argentina. ²LEBE. Puerto Madryn. Chubut. Argentina. ³Instituto de Fisiología. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. ⁴Becario SECYT-UNC.

El estudio de fragmentación del ADN espermático es utilizado como un parámetro predictivo de la capacidad fertilizante masculina. La técnica de TUNEL es frecuentemente empleada para evaluar la integridad del ADN de los espermatozoides en el semen humano. Sin embargo, en el semen coexisten dos tipos de sub-poblaciones de espermatozoides fragmentados: los necrosados/fragmentados y los vivos/fragmentados, por lo que la evaluación de la fragmentación de ADN en el total de los espermatozoides presentes en el semen implica una sobreestimación de células con ADN dañado si no se toma en cuenta la cantidad de espermatozoides muertos/fragmentados. En este trabajo presentamos una modificación a la técnica de TUNEL para la evaluación de espermatozoides vivos por microscopía de fluorescencia y contraste de fase. Se utilizaron 20 muestras de semen de hombres sub-fértiles. Los espermatozoides fueron incubados en medio hipo-osmótico (prueba de HOS) y posteriormente fijados para la realización del ensayo de TUNEL. Como control positivo se incubaron espermatozoides a 100 °C para provocar la muerte de las gametas. Los espermatozoides no reactivos a la prueba de HOS fueron 21,7% ± 10,9% (media ± desviación estándar; rango 8-45%) y en el 27,6% ± 12,8% (rango 10-59%) se detectó ADN fragmentado. Todos los espermatozoides a los cuales se les indujo la muerte mostraron HOS no reactivo y fragmentación de ADN positiva. Nuestros resultados ponen de manifiesto que el ensayo de TUNEL convencional no es un método preciso para el análisis de la capacidad funcional espermática. El problema puede ser reducido mediante incubación de los espermatozoides en medios hipo-osmóticos previo a la fijación. Esta modificación del método podría ser utilizada clínicamente ya que permite evaluar con mayor precisión los resultados de TUNEL sin incrementar el costo del ensayo de forma significativa.

HIPERVISCOSIDAD SEMINAL: LA PREINCUBACIÓN CON N-ACETILCISTEÍNA FACILITA EL ANÁLISIS DE SEMEN SIN AFECTAR LOS PARÁMETROS SEMINALES

C. Avendaño^{1,2} y M.E. Ávalar Orruño²

¹Nascentis Medicina Reproductiva. Córdoba. Argentina. ²LEBE. Puerto Madryn. Chubut. Argentina.

La hiperviscosidad seminal (HVS) puede afectar seriamente las características físicas del semen y por lo tanto tener un grave impacto en la capacidad reproductiva del hombre; reduciendo la movilidad, posiblemente debido a un "efecto de captura" que impide la progresión de los espermatozoides por el tracto genital de la mujer. Así mismo, la HVS puede interferir en la correcta homogenización de la muestra provocando errores de exactitud en el análisis de semen. El objetivo de este trabajo fue la utilización de N-acetilcisteína (NAC) *in vitro* en muestras de semen con HVS para la evaluación de los parámetros seminales (concentración, movilidad, vitalidad, morfología, fructosa, ácido cítrico y alfa-glucosidasa neu-

tral). Se utilizaron 40 muestras de semen con HVS. Los parámetros seminales fueron evaluados por duplicado. Cada muestra fue separada en dos fracciones. La fracción 2 (F2) fue incubada con NAC (20 µM, concentración final), mientras que la fracción 1 (F1) fue utilizada como control. Ambas fracciones fueron incubadas por 20 minutos a temperatura ambiente y luego se evaluaron los parámetros seminales. Todas las muestras tratadas con NAC redujeron su viscosidad hasta condiciones normales. Una clara variabilidad se observó en la concentración y movilidad espermática entre los duplicados en F1, mientras que en F2 las diferencias fueron aceptables de acuerdo a las especificaciones de la OMS 2010. Un incremento significativo de la movilidad fue observado luego de la incubación con NAC. Todos los parámetros bioquímicos evaluados mostraron gran variabilidad entre los duplicados del grupo F1, sin embargo no hubo diferencias en F2. No se observaron diferencias significativas en la vitalidad y la morfología entre ambas fracciones ni en los duplicados. Nuestros resultados demuestran que la incubación con NAC de muestras con HVS es un tratamiento que puede facilitar significativamente la manipulación y análisis de muestras seminales con viscosidad aumentada.

HERMAFRODITISMO VERDADERO EN UN ADULTO

G. Rodríguez Baigorri¹, D. Antola¹, S. Charytoniuk¹, G. Noya¹, C. Dosvaldo, G. Labate¹, G. Ferreyra Camacho¹, G. Ens¹, J. Camean¹, D. Dehollain¹, A. Pedernera² y L. Alba³

¹Área de Sexología y Medicina Sexual. Servicio de Urología;

²Servicio de Anatomía Patológica. Hospital General de Agudos

"Enrique Tornu". Argentina. ³Genética. Hospital Bernardino Rivadavia. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: Se presenta el caso de un varón de 20 años que consulta por micropene, y ginecomastia, oriundo de zona rural y criado como campesino. Al examen físico se constatan genitales ambiguos.

Objetivos: Realizar diagnóstico diferencial, evaluando correspondencia entre genotipo, fenotipo, rol e identidad de género, para adecuar el tratamiento médico y quirúrgico.

Metodología: Evaluación uro-andrológica, sexológica y psiquiátrica. Métodos complementarios: Laboratorio: ejes hipófiso-gonadal/suprarrenal/tiroideo. RMN, ecografía de abdomen y pelvis. Uretrofibrocistoscopia. Doppler dinámico de cuerpos cavernosos. Anatomía patológica. Cariotipo/gen SRY. MINI: Entrevista Neuropsiquiátrica Internacional.

Resultados: 47 Kg, 155 cm. Genitales externos: escroto transpuesto y bífido con aspecto de labios mayores, pene con glande sin meato, con prepucio. Meato urinario hipospádico en periné. Sin caracteres sexuales secundarios masculinos. Ginecomastia, vello púbico con distribución ginecoide. Laboratorio: estradiol, LH, FSH en valores normales para mujer. Testosterona: total 2,10 (2,5-9,0); libre 3,6 (9,0-55); Biodisponible 0,45 (2,0-4,0). RMN/Ecografía: hemiútero izquierdo, gónada en hemiabdomen derecho, sin próstata, ni vesículas seminales, gónada en hemiescroto izquierdo. Uretra femenina sin verumontanum. Doppler dinámico normal. Anatomía patológica: ovotestis en gónada intrabdominal e intra escrotal izquierda. Cariotipo XX, sin SRY. Cirugía: exéresis de ovotestis intrabdominal derecho e intraescrotal izquierdo. Corrección de: hernia inguinal derecha, transposición penoescrotal (Glenn-Anderson); incurvación ventral con resección y plicatura de albugínea (Nesbit-Modificada); MINI: trastorno distímico.

Conclusiones: Se realizó diagnóstico de hermafroditismo verdadero, confirmado por imágenes, histopatología y cariotipo. El rol y la identidad de género asumidos por el paciente corresponden a el sexo de crianza y no al genotipo (XX). El Tratamiento médico y quirúrgico fue adecuado a la identidad y rol de género (varón). Se realizó adecuación quirúrgica de genitales externos a masculinos, y

reposición androgénica por hipogonadismo postquirúrgico. Ausente trastorno de la identidad sexual. Presenta trastorno distímico de inicio temprano (síntomas depresivos desde la adolescencia).

RELACIÓN DE LAS INFECCIONES POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* Y *UREAPLASMA UREALYTICUM* CON LA MOTILIDAD Y MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA

G. Bastidas, M. Oñate, N. Oñate, Z. Laurentin, A. Sanoja, L.P. Escovar y D.P. Escovar

Centro Valenciano de Fertilidad y Esterilidad (CEVALFES). Instituto Docente de Urología. Valencia. Venezuela.

Introducción: La infertilidad conyugal es actualmente un problema de distribución mundial y magnitud creciente. El factor masculino es responsable de un 30 a un 50% de esos casos cuyo origen en muchas ocasiones no está bien identificado, refiriéndose a una gran cantidad de factores entre ellos la patología infecciosa de tipo inespecífico de la vía seminífera, generalmente asintomática y cuya relación con la infertilidad conyugal aun es génesis de controversia.

Objetivos: Analizar la relación entre las infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* con la motilidad y morfología espermática.

Metodología: Se realizó una investigación de tipo descriptiva, transversal, en la cual se revisaron los archivos clínicos de 157 pacientes que acudieron a Cevalfes entre diciembre del 2010 y diciembre del 2011, cuyos análisis microbiológicos resultaron positivos para *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*, relacionándolos con los parámetros de motilidad y morfología espermática. Los datos fueron analizados con el apoyo del SPSS statistics versión 20.0.

Resultados: La motilidad espermática no se ve afectada por la infección de *Chlamydia trachomatis* y no se encontró diferencia significativa entre los valores normales y los valores alterados de la motilidad espermática en los pacientes positivos para *Ureaplasma urealyticum*. Así mismo, se encontró que la morfología espermática se ve alterada en un 82% en pacientes positivos para *Chlamydia trachomatis* y en un 81% en pacientes positivos para *Ureaplasma urealyticum*.

Conclusiones: Con los datos obtenidos se puede concluir que el parámetro afectado por la infección con *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma spp.* es la morfología más no la motilidad.

FRACTURA DE PENE: INCIDENCIA, EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA, CONDUCTA TERAPÉUTICA Y SEGUIMIENTO

R.A. Belén, J. Gracia Salord y R. Argenti

Servicio de Urología. Hospital Nacional de Clínicas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

Introducción: La fractura de pene es una ruptura traumática de la albugínea, debido a un traumatismo cerrado en un pene erecto.

Objetivos: Evaluar incidencia, metodología diagnóstica, conducta terapéutica y el seguimiento para determinar la calidad de respuesta sexual.

Metodología: Desde el año 1995 al 2009 efectuamos tratamiento quirúrgico en 47 pacientes con fractura de pene. Entre marzo del 2009 y marzo del 2011 en el Hospital Nacional de Clínicas, Universidad Nacional de Córdoba se realizó cirugía de 12 pacientes con fractura de pene, que son los pacientes incluidos en este trabajo prospectivo, con una edad media de 28,6 años (19 a 39 años) con un seguimiento medio de 8,9 meses (6 a 12 meses). Se evaluó la incidencia en nuestra ciudad con la población masculina de 15 a 49 años. Todos fueron sometidos a anamnesis, examen físico, análisis de orina y una ecografía del pene. Se efectuó tratamiento conser-

vador de 12h previo a la cirugía en 10 pacientes y dos pacientes no fueron intervenidos quirúrgicamente. Un seguimiento durante 90 días para la actividad sexual y las quejas asociadas, además del examen local.

Resultados: Todos los casos se presentaron con lesión unilateral, y la principal causa de fractura de pene fue la relación sexual. No hubo complicaciones intraoperatorias o postoperatorias. Ellos recuperaron su actividad sexual a las 4 semanas después de la reparación con IIEF-5 de 25 puntos.

Conclusiones: La fractura de cuerpos cavernosos es una urgencia urológica. La incidencia en Córdoba capital es de 5/318.303 (0,0019%). La anamnesis y el examen físico en la mayoría de los casos permiten arribar al diagnóstico. El reposo, frío local y medicación durante 12h previo a la cirugía facilitan la localización del traumatismo y decidir la vía de abordaje, cuando no hay compromiso uretral. El seguimiento no debería ser menor a 3 meses. La calidad de respuesta sexual post tratamiento es excelente.

SIGNOS DE DISGENESIA Y EXPRESIÓN ATÍPICA DE MARCADOR OCT-3/4 EN GÓNADAS DE PACIENTES PREPÚBERES CON SÍNDROME DE INSENSIBILIDAD A LOS ANDRÓGENOS

E. Berensztein¹, M. Costanzo¹, M. Warman¹, M. Ciaccio¹, E. Vaiani¹, G. Guercio¹, S. Gil¹, I. Di Palma¹, N. Saraco¹, R. Marino¹, P. Ramírez¹, N. Pérez Garrido¹, R. Ponzio², M. Bailez³, M.A. Rivarola¹ y A. Belgorosky¹

¹Laboratorio de Cultivo Celular y Biología Molecular. Servicio de Endocrinología; ²Servicio de Cirugía. Hospital de Pediatría Garrahan. Argentina. ³Instituto de Investigaciones en Reproducción. Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Introducción: En testículo humano (TES) prepúber (PP), el receptor de andrógenos (AR) se expresa en células peritubulares (CP) e intersticiales (CI), incluyendo células de Leydig (CL) pero no en células de Sertoli (CS). El tipo más grave de insensibilidad a los andrógenos (CAIS) presenta TES disgenéticos, con ausencia de células germinales (CG) maduras. OCT-3/4 es un factor de transcripción específico de células embrionarias que se expresa en carcinoma in situ (CIS) y gonadoblastoma. OCT-3/4 está ausente en CG de TES normales PP.

Objetivos: Caracterizar el grado de alteración de TES de pacientes PP con CAIS o insensibilidad parcial (PAIS). Se estudiaron 9 pacientes PP (CAIS: n = 7, PAIS: n = 2) orquidectomizados entre 0.25 y 6.3 años de edad, diagnosticados por fenotipo clínico, estudios hormonales, falta de respuesta de SHBG al estímulo con testosterona (n = 9) (Belgorosky. JCEM. 1987) y por análisis molecular del gen AR (n = 5) (4 mutaciones M749V, R631X, E603X, L621P y una delección, del1550-1569ex1). Se estudió H&E, inmunoexpresión de OCT-3/4, AR y ER (n = 9) y secreción de testosterona en cultivo primario (n = 3). TES PP sin patología endocrina fueron utilizados como control (C, n = 10). Se observó disgenesia testicular en 7/9 casos; CIS y/o OCT-3/4 en 5/9; hiperplasia de CL 4/9. Expresión de AR en 3/9 únicamente en CL, localización citoplasmática diferente al C (nuclear). Expresión citoplasmática de ER en CL, diferente a C (ER negativo). La secreción de testosterona en cultivo confirmó presencia de células esteroideogénicamente activas, pero no respuesta a hCG, diferente a C. Las alteraciones encontradas no son consecuencia de la posición intraabdominal/inguinal de las gónadas ya que no se observaron en TES PP con igual localización (Berensztein. ENDO. 2010). OCT-3/4, marcador de elección para predecir posible riesgo de gonadoblastoma, se encuentra en los CAIS y PAIS en TES PP. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren la necesidad de realizar biopsia testicular para definir conducta terapéutica en PP.

EFFECTO DE DIFERENTES CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* UROPATÓGENA SOBRE LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL Y LA MOTILIDAD DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS

R. Boguen^{1,3}, P. Uribe^{1,3}, F. Treulen^{1,3} y J. Villegas^{1,2}

¹Centro de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN).

²Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina.

Temuco. Chile. ³Programa de Doctorado en Ciencias, Mención Biología Celular y Molecular Aplicada. Universidad de La Frontera. Temuco. Chile.

El 15% de los casos de infertilidad masculina se debe a infecciones urogenitales, siendo mayormente aislada la bacteria *Escherichia coli* de serogrupos causantes de infecciones al tracto urinario. Esta bacteria altera la viabilidad y motilidad espermática y disminuye el potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$). La disminución del $\Delta\psi_m$ se ha relacionado con la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (PTPm) y con el aumento del anión superóxido (O_2^-) intracelular. Los factores solubles o sobrenadantes de la bacteria también disminuyen la motilidad y el $\Delta\psi_m$. El objetivo de este trabajo fue comparar el efecto *in vitro* de diferentes cepas de *Escherichia coli* sobre la función mitocondrial y la motilidad de espermatozoides humanos. En una primera serie de experimentos, se incubaron separadamente espermatozoides humanos con 3 cepas de *Escherichia coli* y con sus sobrenadantes. Se evaluó la motilidad progresiva, la apertura del PTPm, el $\Delta\psi_m$, la viabilidad y la producción de O_2^- intracelular de los espermatozoides. En una segunda serie de experimentos se expusieron espermatozoides a otras 6 cepas de *Escherichia coli* y se les evaluó motilidad, $\Delta\psi_m$ y viabilidad. Los sobrenadantes de las 3 cepas de la primera serie de experimentos disminuyeron la motilidad progresiva. Ninguna de las 3 cepas fue capaz de abrir el PTPm, alterar el $\Delta\psi_m$ ni la viabilidad. Sólo el sobrenadante de una de las 3 cepas aumentó el O_2^- intracelular. En la segunda serie de experimentos se observó que cinco de las seis cepas disminuyeron la motilidad aunque ninguna de ellas redujo el $\Delta\psi_m$ ni la viabilidad espermática. En conclusión, los efectos negativos observados en los espermatozoides humanos dependen de la cepa de *Escherichia coli* que esté actuando sobre el game-to masculino.

EVIDENCIAS SOBRE LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE FACTORES DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO (FGFRS) EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS Y EL EFECTO DEL FGF2 EN LA FUNCIONALIDAD ESPERMÁTICA

G.N. Buffa¹, T. Guillardoy¹, M.M. Calamera², A. Gogorza¹, M.H. Vázquez-Levin¹ y C.I. Marín Briggiler¹

¹Instituto de Biología y Medicina Experimental. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (IBYME-CONICET).

²Laboratorio de Estudios en Reproducción (LER). Buenos Aires. Argentina.

Introducción: Los receptores de factores de crecimiento fibroblástico (FGFRs) se encuentran presentes en diversos tipos celulares y su interacción con el ligando FGF2 desencadena la activación de varias vías de transducción de señales que regulan la funcionalidad celular. En la literatura existen evidencias escasas sobre la expresión y función de estos receptores en espermatozoides.

Objetivos: Analizar la expresión de FGFRs en espermatozoides humanos y evaluar el efecto del FGF2 sobre la funcionalidad espermática.

Metodología: Se evaluó la expresión proteica de los FGFR tipo 1, 2, 3 y 4 en espermatozoides mediante "Western immunoblotting" y se determinó su localización por inmunocitoquímica utilizando anticuerpos policlonales (Santa Cruz Biotech). Se analizó el efecto del FGF2 sobre la motilidad espermática utilizando un sistema computarizado (Hamilton-Thorne Research) y sobre la ocurrencia de la

exocitosis acrosomal (EA) mediante uso de la aglutinina de *Pisum sativum* acoplada a FITC.

Resultados: En extractos de espermatozoides humanos se detectaron formas proteicas del peso molecular esperado para los FGFRs 1, 2, 3 y 4. Los receptores fueron inmunolocalizados en el flagelo y en la región acrosomal de espermatozoides no capacitados (en más del 70% de las células, $n \geq 4$), presentando una localización similar luego de la incubación en condiciones capacitantes. La incubación de espermatozoides con FGF2 (1, 10 o 100 ng/ml) no modificó el porcentaje de espermatozoides móviles ni parámetros cinemáticos de la motilidad. Sin embargo, el FGF2 inhibió la ocurrencia de EA inducida por progesterona 5 μM (inducibilidad: $20 \pm 5\%$, $12 \pm 1\%$, $4 \pm 2\%$, $2 \pm 1\%$ para control, FGF2 1, 10 y 100 ng/ml, respectivamente; media \pm EEM, * $p < 0,05$ vs control, $n = 5$).

Conclusiones: Los FGFR tipo 1, 2, 3 y 4 se expresan en los espermatozoides humanos y se localizan en el flagelo y en la región acrosomal. El FGF2 ejercería un efecto modulador de la EA inducida por agentes fisiológicos.

NIVELES DE PROTAMINACIÓN E HISTONAS TESTICULARES COMO HERRAMIENTA PARA EL ESTUDIO DE LA COMPACTACIÓN CROMATÍNICA

N.E. Cabral, M.A. González Torres, M. Faut, P. Naveira y V.Y. Rawe

REPROTEC. Patología de Gametas y Embriones. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: El remodelamiento de la cromatina durante la espermatogénesis implica una serie de pasos consecutivos que terminan por reemplazar las *histonas* presentes en el núcleo espermático por proteínas fuertemente básicas denominadas *protaminas*. La remanencia de histonas y/o la disminución en el contenido de protaminas está ligada a una condensación incompleta o aberrante de la cromatina y a una pobre integridad del ADN. Estos núcleos "inmaduros" serían más susceptibles al daño en el material genético, repercutiendo negativamente en las técnicas de reproducción asistida.

Objetivos: Determinar si existe una correlación entre los niveles de histonas remanentes en el núcleo espermático y la ausencia de protaminas como indicadores del estado madurativo del núcleo.

Metodología: Se estudiaron 125 pacientes que consultaron por infertilidad masculina. Para determinar la presencia de histonas remanentes en el núcleo espermático se empleó la técnica de tinción con azul de anilina (AA), mientras que para determinar la ausencia de protaminas se empleó cromomicina A₃ (CMA₃). El análisis de correlación de Pearson fue realizado con el software estadístico SPSS 16.0.

Resultados: El análisis de correlación demostró esta asociación positiva, altamente significativa, entre los valores de CMA₃ y AA, encontrándose un $r = 8,18$ ($p < 0,01$).

Conclusiones: Los niveles de histonas testiculares en el núcleo espermático son inversamente proporcionales a los niveles de protaminas. Al ser técnicas fáciles y económicas de realizar se podrían utilizar como marcadores diagnósticos en la práctica clínica, ya que servirían como herramientas predictivas para determinar el estado madurativo del núcleo espermático y evaluar la potencial vulnerabilidad que tendrán estos núcleos frente al daño.

AUMENTO DEL DAÑO DEL ADN ESPERMÁTICO EN PACIENTES CON DEFECTOS EN LA COMPACTACIÓN CROMATÍNICA

N.E. Cabral, M.A. González Torres, M. Perco, M. Faut y V.Y. Rawe

REPROTEC. Patología de Gametas y Embriones. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: Durante la espermatogénesis los espermatozoides reemplazan la mayoría de las histonas testiculares por proteínas

fuertemente básicas denominadas protaminas. Esta remodelación de la cromatina espermática tiene como función compactar el núcleo y protegerlo del ataque de endonucleasas y sustancias reactivas del oxígeno.

Objetivos: Determinarla susceptibilidad al daño en el ADN espermático en base a los niveles de compactación de la cromatina.

Metodología: Se estudiaron 125 pacientes que consultaron por infertilidad masculina. Los defectos en la compactación de la cromatina se evaluaron con el uso de cromomicina A₃ (CMA₃, presencia de protaminas) y azul de anilina (AA, presencia de histonas testiculares). La fragmentación del ADN se determinó mediante el ensayo de TUNEL (epifluorescencia). El análisis de correlación y χ^2 se realizó con el software estadístico SPSS 16.0 y Epidat 3.0, respectivamente.

Resultados: El coeficiente de Pearson (r) mostró correlación positiva significativa entre TUNEL y CMA₃ ($r = 0,244$; $p < 0,01$) y TUNEL y AA ($r = 0,278$; $p < 0,01$). Al comparar el TUNEL, de pacientes que presentan CMA₃ alterada ($> 30\%$) y normal ($< 30\%$), se obtuvo un χ^2 de 29,33 ($p = 0,0001$) y un Odd Ratio de 8,85 (IC95%, 3,84-20,42). De igual manera, en pacientes con valores alterados de AA ($> 30\%$) y normales ($< 30\%$), el χ^2 fue de 34,01 ($p = 0,0001$) y una Odds ratio de 12,61 (IC95%, 4,93-32,20).

Conclusiones: En esta población de estudio, los niveles de compactación de la cromatina están directamente relacionados con los niveles de fragmentación del ADN. Pacientes con valores de CMA₃ patológico tienen un riesgo 8,85 veces mayor de presentar valores de TUNEL patológicos ($> 20\%$). Ante valores de AA patológicos, existe una probabilidad 12,61 veces mayor de presentar valores de TUNEL alterados. La compactación de la cromatina juega un papel principal en determinar el grado de vulnerabilidad al daño del ADN.

PARÁMETROS SEMINALES BÁSICOS QUE TENEMOS QUE TENER EN CUENTA PARA SOSPECHAR DAÑO EN EL ADN ESPERMÁTICO

N.E. Cabral, M.A. González Torres, M. Faut y V.Y. Rawe

REPROTEC. Patología de Gametas y Embriones. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: Los parámetros seminales básicos nos ofrecen una primera aproximación sobre la calidad de la muestra en hombres infértiles. En muchas ocasiones, esta información no es suficiente por lo que se debe emplear un análisis más profundo. En busca de marcadores predictivos de un posible daño en el ADN, nos preguntamos si existe algún parámetro del espermograma básico que nos indique la aplicación de técnicas específicas en este sentido.

Objetivos: Determinar si los parámetros seminales básicos se encuentran de alguna manera asociados a valores de fragmentación del ADN evaluados por TUNEL.

Metodología: Se analizaron 125 pacientes que consultaron por infertilidad masculina. Los parámetros básicos determinados según los criterios de la OMS fueron: volumen, pH, viscosidad, concentración espermática/ml, movilidad progresiva. Los niveles de fragmentación del ADN se evaluaron mediante la técnica de TUNEL. El análisis de correlación de Pearson y comparación de medias (test-U de Mann Whitney) se realizó con el software estadístico SPSS 16.0.

Resultados: Observamos una correlación negativa entre el porcentaje de TUNEL y la concentración espermática/ml ($r = -0,345$; $p < 0,01$), y TUNEL y el porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva ($r = -0,485$; $p < 0,01$). Agrupando pacientes con y sin estos dos parámetros alterados, observamos una diferencia significativa entre las medias de los porcentajes de TUNEL ($z = -3,368$; $p < 0,01$). El volumen eyaculado, el pH y la viscosidad no mostraron correlación significativa con el test de TUNEL.

Conclusiones: En este estudio se observó que cuando la concentración o la movilidad espermática, parámetros de gran importan-

cia clínica, se encuentran disminuidos, la presencia de niveles de fragmentación del ADN es alta. Por otro lado, los pacientes que presentan simultáneamente movilidad y concentración espermática disminuida, los valores de TUNEL son aún más elevados. Esto no indica que, si tenemos en cuenta estos valores se podrían realizar inferencias sobre la integridad genética de la muestra espermática.

MONOBROMOBIMANE. UN MARCADOR DE MADURACIÓN EPIDIDIMARIA

M.E. Cabrillana, A. Andersen, R. López, E.O. Pietrobon, M.A. Monclús, P.V. Boarelli, T.E. Sáez Lancellotti, A.E. Vincenti y M.W. Fornés

Laboratorio de Investigaciones Andrológicas de Mendoza (LIAM). Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM). Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza. Instituto de Investigaciones. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad del Aconcagua. Mendoza. Argentina.

En el epidídimo los espermatozoides sufren oxidación y/o estabilización en proteínas ricas en cisteína. En trabajos previos de nuestro laboratorio, se demostró con monobromobimane (mBBR, marcador de tioles), que ODF1 es una proteína diana en este proceso. También, cuando los sulfhidrilos, incluidos los de ODF1, son bloqueados por mBBR se observa caída del porcentaje de espermatozoides móviles progresivos, en rata y humano. Nuestros objetivos son determinar cómo afecta el bloqueo de grupos tioles sobre la motilidad espermática y evaluar el estado de estas proteínas en espermatozoides de muestras astenozoospermicas. Para ello, utilizamos muestras de semen y por técnicas de Swim up separamos los espermatozoides en dos fracciones: A: móviles progresivos y B: móviles no progresivos más inmóviles. Luego los incubamos con mBBR 0,3 mM. Obtuvimos videos en microscopio de contraste de fase a los 10, 20 y 30 minutos en A y tomamos fotografías en microscopio de fluorescencia en A y B. En estos ensayos, se semicuantificó la intensidad de fluorescencia de los flagelos de espermatozoides de ambas fracciones, tanto en muestras normozoospermicas como astenozoospermicas. Por otro lado, se evaluaron los cambios en la motilidad espermática luego de incubar con mBBR. Los resultados obtenidos, nos indican que existe un aumento significativo en la afinidad por mBBR en las muestras astenozoospermicas comparado con las normozoospermicas en las todas las fracciones. Con respecto a los patrones de motilidad observados en la fracción A, luego del bloqueo de los sulfhidrilos, se destaca un aumento en el porcentaje de espermatozoides no progresivos e inmóviles. Esto nos lleva a pensar que cuando se bloquean los sulfhidrilos se afecta la motilidad progresiva. Finalmente, los espermatozoides de muestras astenozoospermicas pueden no haber completado el proceso de maduración epididimario y por lo tanto una incorrecta oxidación de proteínas flagelares, entre ellas ODF1, aumentando su afinidad por mBBR.

EL ESTRÉS OXIDATIVO INDUCE ALTERACIONES ESTRUCTURALES DE PROTEÍNAS EN EL TEJIDO CAVERNOSO DE RATAS DIABÉTICAS

A. Castela^{1,3}, R. Soares², P. Gomes², R. Costa², P. Vendeira⁴ y C. Costa^{2,3}

¹Instituto de Biología Celular e Molecular; ²Departamento de Bioquímica (U38/FCT); ³Departamento de Biología Experimental. Faculdade de Medicina. Universidade do Porto. Portugal. ⁴Clinica Saúde Atlântica. Clinica Urológica Vendeira. Porto. Portugal.

Introducción: La disfunción eréctil (DE) es una de las complicaciones más frecuentes en los hombres diabéticos. La hiperglicemia

contribuye al aumento del estrés oxidativo (EO) en el cuerpo cavernoso (CC) diabético, la promoción de alteraciones en los componentes celulares del pene. Sin embargo, no queda claro los mecanismos por los cuales el EO induce modificaciones en el tejido cavernoso diabético, contribuyendo a la progresión de la DE.

Objetivos: Evaluar/cuantificar las modificaciones en proteínas estructurales del CC causados por el EO en una etapa temprana y tardía de la diabetes.

Metodología: Ratas Wistar se dividieron en 4 grupos (n = 5/grupo): 2 y 8 semanas de diabetes inducida por estreptozotocina (diabetes tipo 1) y controles pareados por edad. El EO sistémico se evaluó en muestras de sangre mediante la detección por cromatografía de glutatión oxidado (GSSG)/glutatión reducido (GSH). Los daños oxidativos en proteínas del CC fueron evaluados por los cambios estructurales detectados por Western Blot e inmunohistoquímica de 3-nitrotirosina (3-NT).

Resultados: Nuestros resultados revelaron un aumento significativo de GSSG/GSH a las 8 semanas de diabetes (ratas diabéticas: $1,619 \pm 0,216$ vs controles: $0,779 \pm 0,238$; $p < 0,05$), lo que sugiere un incremento sistémico del EO. En consonancia, el aumento significativo de la nitración de proteínas (grupo diabético: $3,398 \pm 0,332$ vs controles: $2,284 \pm 0,092$; $p < 0,05$) sólo se observó en el grupo de 8 semanas de diabetes, indicando las modificaciones oxidativas más graves de proteínas en una etapa tardía de la enfermedad.

Conclusiones: Hemos demostrado que, sistémicamente, y en el pene los efectos del EO se detectan en la diabetes establecida. Las modificaciones inducidas por el EO en proteínas del pene parecen ocurrir sólo en la etapa avanzada de la enfermedad, y pueden ser responsables de las disregulaciones estructurales/funcionales en mecanismos celulares/moleculares esenciales para el proceso eréctil normal, contribuyendo al desarrollo/progresión de la DE asociada a la diabetes.

DISFUNCIÓN ERÉCTIL Y DIABETES: INCREMENTO EN LA EXPRESIÓN DE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN TEJIDO CAVERNOSO DIABÉTICO HUMANO

A. Castela^{1,3}, R. Soares², P. van Antwerpen⁴, K. Zouaoui Boudjeltia⁵, T. Roumeguere⁶, P. Gomes², P. Vendeira⁷, R. Virag⁸ y C. Costa^{2,3}

¹Instituto de Biología Celular e Molecular; ²Departamento de Bioquímica (U38/FCT); ³Departamento de Biología Experimental. Faculdade de Medicina. Universidade do Porto. Portugal.

⁴Facultad de Farmacia. Université Libre de Bruxelles (ULB). Laboratório de Química Farmacéutica. Bruselas. Bélgica.

⁵Laboratório de Medicina Experimental (ULB 222 Unit). Montigny-le-Tilleul. Bélgica. ⁶Departamento de Urología. Erasme Hospital. ULB. Chaussée de Lennik. Bruselas. Bélgica. ⁷Clinica Saúde Atlântica. Clínica Urológica Vendeira. Porto. Portugal. ⁸Centre d'Exploration et Traitement de l'impuissance (CETI). París. Francia.

Introducción: La disfunción eréctil (DE) es una complicación frecuente de la diabetes. El aumento del estrés oxidativo (EO) ejerce acciones perjudiciales en el pene diabético que conduce al desarrollo y progresión de la DE. Sin embargo, aún se está investigando los efectos del EO en cuerpo cavernoso (CC) diabético humano.

Objetivos: El objetivo del trabajo es evaluar/cuantificar los marcadores de EO 3-nitrotirosina (3-NT) y mieloperoxidasa (MPO) en el tejido cavernoso de pacientes diabéticos con DE.

Metodología: Se recogieron fragmentos de CC durante la cirugía de 18 pacientes diabéticos con DE y 10 individuos sin diabetes e sin DE. La generación de lesiones oxidativas en las muestras de CC se evaluaron mediante la detección de 3-NT y MPO, utilizando técnicas de inmunohistoquímica y inmunofluorescencia doble para la 3-NT/ α -actina de músculo liso (α -AML) y MPO/ α -AML. El análisis cuantitativo de la intensidad de estos biomarcadores de oxidación se realizó

mediante el plug-in de deconvolución de color del software ImageJ.

Resultados: Nuestros resultados revelaron que la expresión de NT-3 y MPO se localizó predominantemente en la zona perivascular en todas las muestras de CC. La cuantificación de inmunohistoquímica mostraron un incremento significativo de los niveles de expresión de 3-NT (grupo diabético: $109,6 \pm 4,13$ vs controles sin diabetes: $89,9 \pm 1,31$; $p < 0,01$) y de MPO (grupo diabético: $128,9 \pm 2,32$ vs controles: $112,6 \pm 2,45$; $p < 0,001$) en el CC diabético, lo que indica efectos importantes del EO en el tejido cavernoso diabético.

Conclusiones: Estos resultados preliminares sugieren que el EO induce modificaciones en proteínas en tejido cavernoso diabético, particularmente en los componentes muscular liso y endotelial. El incremento del MPO puede también obstaculizar la bioactividad del óxido nítrico en las células perivasculares. Ambas alteraciones pueden ser responsables de la alteración de procesos celulares, contribuyendo en la DE del diabético.

LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN DURANTE LA CAPACITACIÓN Y REACCIÓN ACROSOMAL DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS

J. Cicaré, A. Caille, C. Zumoffen, S. Ghersevich y M.J. Munuce

Laboratorio de Estudios Reproductivos. Área Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Argentina.

La integridad del ADN espermático es un requisito para la fecundación normal. El objetivo de este trabajo básico fue estudiar la fragmentación del ADN espermático humano durante el proceso de capacitación (cap.). Espermatozoides móviles (n = 10) recuperados por swim up en presencia de H_2O_2 200 μ M o medio control se incubaron 22 hs a 37 °C y 5% CO_2 . Se midió: viabilidad (Eosina Y) lipoperoxidación de las membranas (LPO), fosforilación en tirosina (FRT, Western blot y ac. antifosfotirosina), reacción acrosomal (RA) basal e inducida con fluido folicular (PI = RA inducida - RA espontánea, *Pisum sativum*) y fragmentación del ADN (técnica de dispersión de la cromatina). Los datos presentados como media \pm SEM, fueron analizados por ANOVA y post test ($p < 0,05$ significativo). El % de ADN fragmentado fue: control: $15,8 \pm 3,1$; tratado H_2O_2 : $26,3 \pm 2,7^*$ control post-cap.: $36,6 \pm 2,4^{**}$; d) tratado H_2O_2 post-cap.: $42,2 \pm 2,0^{\dagger}$; e) control post-RA: $44,7 \pm 2,3^{\ddagger}$; f) tratado H_2O_2 post-RA: $46,2 \pm 1,6^*$ (* $p < 0,001$ vs a) y d), ** $p < 0,001$ vs a), $\dagger p < 0,001$ vs b) $p < 0,05$ vs. c), $\ddagger p < 0,01$ vs. c)). Tanto la viabilidad (> 80%) como la LPO resultaron no diferentes entre tratados y controles [$0,5 \pm 0,2$ a $1,3 \pm 0,8$ nmol MDA/(10^8 cels/ml)]. El patrón de FRT fue comparable entre ambos grupos así como la PI: control: $26,8 \pm 3,9$ vs tratado H_2O_2 : $23,9 \pm 4,3\%$, NS. Nuestros datos sugieren que durante la incubación bajo condiciones capacitantes y luego de la inducción de la RA, habría un aumento significativo en el grado de fragmentación del ADN sin que se vieran afectadas las vías de señalización que conducen a la RA. Esto se vería magnificado ante el pre tratamiento con oxidantes.

EVALUACIÓN DE LA RECUPERACIÓN DE LA ESPERMATOGÉNESIS POST HIPOXIA HIPOBÁRICA INTERMITENTE PROLONGADA EN RATÓN (MUS MUSCULUS). ROL DEL KETOPROFENO

A. Cornejo^{1,2}, R. Hartley^{1,2} y E. Bustos-Obregón¹

¹Laboratorio de Biología de la Reproducción. ICBM. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Santiago. Chile. ²BIOREN. Universidad de La Frontera. Temuco. Chile.

En el presente estudio se evaluó el efecto protector del ketoprofeno en ratones sometidos a un modelo de hipoxia hipobárica inter-

mitente prolongada. Esta evaluación se realizó enfocada en parámetros reproductivos referidos a variables espermáticas e histopatológicas testiculares. El modelo consideró 3 grupos de ratones: normóxicos, hipóxicos e hipóxicos tratados con ketoprofeno; los cuales fueron sometidos a hipoxia por 66,4 días imitando las jornadas laborales de los trabajadores de asentamientos mineros, alternando 4 días por sobre los 4.200 msnm (altura simulada), y 4 días bajo los 500 msnm. En relación a los parámetros hematológicos, el hematocrito se incrementó en ambos grupos expuestos. De las variables espermáticas de los animales tratados con ketoprofeno se destacó la disminución del recuento, una recuperación en la teratozoospermia y en el estado de compactación de la cromatina. En el análisis anatomopatológico, hubo una recuperación en el peso de cauda epididimaria, no así en el peso testicular, el que disminuyó considerablemente. En el análisis histopatológico de los túbulos seminíferos se observó una recuperación en los animales tratados, referente al daño histopatológico, con una menor vacuolización y descamación, aunque el taponamiento tubular si se vio incrementado. En el análisis morfométrico hubo un aumento en el área intersticial, con una disminución del diámetro tubular y la altura epitelial, aumentando el diámetro luminal. Finalmente en el análisis inmunohistoquímico se observó un marcado aumento de la expresión tanto de HIF-1 α como de COX-2. Este estudio, demuestra la capacidad del ketoprofeno de reducir los efectos deletéreos de la hipoxia hipobárica intermitente a nivel testicular. Sin embargo no se podría considerar que se logra una recuperación completa de la espermatogénesis post hipoxia prolongada aunque sea intermitente.

ESPERMOGRAMA Y REACCIÓN ACROSOMAL INDUCIDA POR ÁCIDO GLUTÁMICO EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS

A.A. Cruceño, C. Aguilera-Merlo, G. Orellano, E.M. Chaves, L. Scardapane y W.M. Fornes

Cátedra de Histología. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis (UNSL). San Luis. Argentina. Laboratorio de Investigaciones Andrológicas de Mendoza (LIAM). Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Cuyo (UNCuyo). Mendoza. Argentina.

Una correcta interpretación del espermograma convencional y la introducción de nuevos test diagnósticos resulta fundamental para profundizar el estudio del varón infértil. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) analizar la calidad seminal de pacientes con problemas de fertilidad; 2) evaluar cualitativa y cuantitativamente espermatozoides capacitados para desarrollar reacción acrosomal (RA) con progesterona (P) y 3) comparar la acción inductora del ácido glutámico (Glu) versus progesterona. Se analizaron 30 muestras seminales provenientes de un laboratorio bioquímico privado de la ciudad de San Luis (Argentina). Previo consentimiento informado, se indicó a cada paciente de manera escrita la forma de obtención de muestras. Las mismas fueron obtenidas por masturbación con un período de abstinencia sexual entre 3-7 días y se evaluaron los parámetros: volumen, motilidad, concentración y morfología, siguiendo las recomendaciones de la WHO (1999 y 2010) para análisis seminal. Se diagnosticó el tipo de espermograma de cada paciente y se los clasificó en normales (n = 10) y alterados (n = 20). Los espermogramas alterados se agruparon en: leves (n = 5), moderados (n = 6) y severos (n = 9), a aquellos que mostraron uno, dos o tres parámetros modificados, respectivamente. A los resultados obtenidos se les aplicó una prueba de t-test no pareada (Graph Pad Instat). Diferencias de p < 0,05 fueron consideradas significativas. Pacientes con espermograma normal o levemente alterado no presentaron cambios en la morfología y motilidad espermática, pero si mostraron un amplio rango en la concentración. Espermogramas moderados y severamente alterados presentaron marcadas altera-

ciones en concentración, motilidad y morfología espermática. Pruebas funcionales para evaluar RA después de un período de capacitación *in vitro* e incubación, los eyaculados normales y alterados tratados con un inductor convencional, P y uno de prueba, Glu, demostraron capacidad de responder a la RA. En conclusión, se comprobó que Glu indujo una respuesta acrosomal semejante o mayor a la inducida por P4, aunque no fue estadísticamente significativa.

VERIFICACIÓN DE LOS VALORES DE REFERENCIA OMS 2010 PARA EL ESTUDIO DEL SEMEN

S. Curi, H. Repetto, P. Chenlo, N. Pugliese, J. Ariagno, J. Vázquez, M. Sardi y G. Mendeluk

Laboratorio de Fertilidad Masculina. Área Citología. Departamento de Bioquímica Clínica. Hospital de Clínicas (INFIBIOC). Buenos Aires. Argentina.

Introducción: OMS 2010 publica valores de referencia (VR), sin embargo los laboratorios deben verificarlos en individuos sanos fértiles. La nueva versión del manual sugiere informar movilidad progresiva (MP) y morfología en valores absolutos (VA) pero no sugiere intervalos de referencia.

Objetivos: Verificar los VR publicados, en individuos de nuestra región, y estimar el rango para los VA de los parámetros del semen. Se estudiaron 20 hombres de la provincia y ciudad de Bs As, de 20 a 45 años, con fertilidad probada por curso de un embarazo o nacimiento en los últimos 12 meses. Se excluyeron individuos con patologías por consulta andrológica, se completó un cuestionario de hábitos personales. La verificación se efectuó por la guía C28-A2 de la NCCLS.

Resultados: Las características de los donantes en mediana y desvíos estándar (DE) fueron: peso 85 Kg (10,4), altura 1,73 cm (0,07), promedio de hijos 2 (0,79), fertilidad reciente de 7 meses de vida (4), edad de su pareja 28,6 años (5,6), frecuencia de relaciones 3 (1,2) por semana y volumen testicular 21,8 ml (4,8). No consumían alcohol, marihuana y drogas terapéuticas, 35, 80 y 75% respectivamente. No guardaban el celular, ni utilizaban la notebook cercano a los testículos el 70% y 90%. No se hallaron outliers. De acuerdo a la guía C28-A2 los valores propuestos por OMS 2010 son verificados a excepción del volumen en el que se obtuvieron 3 valores inferiores a 1,5 ml. El rango y mediana de espermatozoides en millones por eyaculado con MP, viables y normales fueron: 7,7-460 (66,63), 22,19-453 (179,3) y 1,9-126,7 (26,14). Se halló 3 (15%) leucospermias, los test inmunológicos fueron negativos y la viscosidad normal.

Conclusiones: Se verifica el valor de corte de OMS 2010 para los parámetros del semen a exclusión del volumen. Se requiere del orden de millones de espermatozoides con MP y normales para lograr el embarazo por fertilización natural.

DIAGNÓSTICO DE INFERTILIDAD MASCULINA: NECESIDAD DE VALORACIONES FUNCIONALES Y CROMATÍNICAS

G. Curti, M. Cánepa, L. Cantú y J.M. Montes

Laboratorio Fertilab. Montevideo. Uruguay.

El análisis del semen es un procedimiento rutinario en el estudio de la pareja infértil. El espermatozoide debe exhibir un conjunto único de propiedades biológicas para conseguir fertilización y desarrollo embrionario normales. Dada esta complejidad, resulta difícil diagnosticar alteraciones fisiológicas mediante el estudio estándar de las variables recomendadas en los manuales de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Buscando una evaluación más integral, se desarrollaron test que evalúan características

espermáticas funcionales y cromatinicas, y sus resultados se correlacionaron positivamente con el éxito reproductivo. El objetivo de este trabajo fue estudiar la incidencia de alteraciones espermáticas funcionales y cromatinicas en una población de pacientes con infertilidad congénica subdividida en base a la normalidad de los parámetros seminales estándar según la última edición del manual de la OMS. A su vez se pretendió identificar y correlacionar las características alteradas con mayor frecuencia en la subpoblación normal para los parámetros estándar. Para ello se estudiaron los parámetros estándar según la OMS en muestras de 110 pacientes y 6 donantes fértiles (control). Se realizaron también test complementarios funcionales (sobrevida, hiposmótico, de estrés), y adicionales (azul de anilina, nitroblue-tetrazolium, TUNEL). Los pacientes se dividieron en dos grupos (A: todos los estándar normales; B: al menos uno de ellos alterado). El 96,61% de las muestras presentó alterada al menos una de las variables analizadas. Los grupos A y B mostraron diferencia significativa en todos los test complementarios. En el grupo A, el 93,68% de las muestras presentó al menos un test complementario alterado, y la variable afectada con mayor frecuencia fue la fragmentación del ADN espermático (16,95%). Concluimos que la profundización en el estudio seminal introduciendo en la rutina ensayos funcionales y cromatinicos, redunda en un diagnóstico más afinado de la infertilidad del varón. Los parámetros de la OMS deben considerarse como un abordaje primario.

ESTUDIO DEL SEMEN HUMANO: IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO OBJETIVO

P. Chenlo, J. Ariagno, N. Pugliese, H. Repetto, M. Sardi Segovia, G. Mendeluk y S. Curi

Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA. INFIBIOC. Hospital de Clínicas "José de San Martín". Buenos Aires. Argentina.

Introducción: Las normativas internacionales establecen que los métodos analíticos empleados por el laboratorio deben estar validados y que toda la información referida a su desempeño debe estar debidamente registrada (ISO 15.189). La incorporación de un método objetivo en el laboratorio de fertilidad requirió del desarrollo de un protocolo de validación.

Objetivos: Estandarización y validación del sistema CASA, SCA (Sperm Class Analyzer) para los parámetros de concentración y movilidad espermática.

Metodología: Se emplearon muestras de semen provenientes del trabajo asistencial en el período 2009-2010. Se estandarizó el tipo de velocidad para la clasificación en grados ($n = 20$) y la profundidad adecuada de la cámara ($n = 28$). Para la validación se determinó precisión ($n = 3$ en diferentes niveles de concentración), límite de detección ($n = 13$ azoospermias), intervalo de medición ($n = 1$) y estudio de comparación de métodos ($n = 100$). Para los cálculos se empleó el programa MedCalc, considerando estadísticamente significativo un $\alpha > 0,05$.

Resultados: Se halló alta correlación lineal en la clasificación del movimiento empleando velocidad curvilínea o velocidad promedio ($r = 0,99$; $p < 0,001$), estableciendo el uso de la primera para obtener resultados comparables con otros sistemas objetivos. También, se normatizó el empleo de cámaras de $10 \mu\text{m}$ de profundidad debido a que se obtienen mejores imágenes para el análisis sin afectar la movilidad. La imprecisión media fue 13,29%, 14,26% y 18,75% para recuento, móviles progresivos y móviles grado (a) respectivamente. Se halló alta correlación con el método manual, tanto en concentración ($r: 0,97$ $p < 0,0001$), móviles progresivos ($r: 0,84$ ($p < 0,001$) y móviles grado (a) ($r: 0,82$ $p < 0,0001$). Se comprobó linealidad ($r: 0,99$, $p < 0,001$), entre $0,98 \times$

10^6 y 125×10^6 esp/ml, aunque el límite de detección fue de $7,83 \times 10^6$ elementos/ml.

Conclusiones: El método propuesto cumple con los requisitos necesarios para su empleo en la clínica, siendo indispensable la edición de las imágenes por parte de un operador calificado.

EFFECTO DE LA MELATONINA EN LA FECUNDACIÓN IN VITRO SOBRE LA CALIDAD Y DESARROLLO EMBRIONARIO EN BOVINOS

C. Cheuquemán¹, M. Arias¹, J. Risopatrón², R. Felmer³ y R. Sánchez⁴

¹Centro de Biotecnología de la Reproducción (CEBIOR-UFRO);

²Departamento de Ciencias Básicas; ³Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales; ⁴Departamento de Ciencias Preclínicas. Facultad de Medicina. Universidad de La Frontera. Temuco. Chile.

Introducción: La fecundación *in vitro* (FIV) involucra la co-incubación de los gametos durante 18-22 horas, generándose radicales libres, los cuales afectan directamente el desarrollo y calidad de los futuros embriones. La utilización de melatonina durante la FIV podría contrarrestar este efecto mejorando la calidad de los embriones generados. El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto de diferentes concentraciones de melatonina en el proceso de FIV y desarrollo de blastocistos.

Metodología: Se realizaron 2 experimentos de IVF en medio Fert-Talp considerando los siguientes tratamientos: Exp. 1) Control sin melatonina, melatonina $10 \mu\text{M}$, $100 \mu\text{M}$ y $1.000 \mu\text{M}$ ($n = 3$). Exp. 2) Control sin melatonina, melatonina $1 \mu\text{M}$, $0,1 \mu\text{M}$ y $0,01 \mu\text{M}$ ($n = 4$). Luego, los embriones se cultivaron en KSOM, evaluándose a las 72 horas el porcentaje de división, y luego el porcentaje de blastocistos al día 7 del cultivo.

Resultados: Tanto en los experimentos 1 y 2 no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en relación al porcentaje de división embrionaria a las 72 horas post FIV (Exp. 1: $78 \pm 4\%$ vs $70,2 \pm 7\%$, $69 \pm 8\%$, 50 ± 27 . Exp 2: ($61,2 \pm 20\%$ vs $67,5 \pm 10\%$, $53,2 \pm 12\%$, $65,7 \pm 19\%$). Sin embargo, en el experimento 1 el porcentaje de blastocistos obtenidos al día 7 fue menor en los tratamientos con Melatonina ($23,2 \pm 6\%$ vs $5,6 \pm 4\%$, $9,6 \pm 6\%$, $2 \pm 1\%$), siendo estadísticamente significativo en el tratamiento $1.000 \mu\text{M}$ versus el control. En el experimento 2 el porcentaje de blastocistos al día 7 fue similar en todos los tratamientos, y no se encontraron diferencias significativas ($20 \pm 6\%$ vs $26 \pm 3\%$, $18 \pm 5\%$, $15 \pm 6\%$).

Conclusiones: Melatonina en concentraciones altas ($10 \mu\text{M}$ a $1.000 \mu\text{M}$) causa una detención del desarrollo embrionario, probablemente debido a la depleción de los niveles fisiológicos de especies reactivas de oxígeno que son necesarias para el proceso de fecundación. En dosis menores ($0,01 \mu\text{M}$ a $1 \mu\text{M}$) no tiene efecto sobre el porcentaje de división, ni sobre el porcentaje de blastocistos obtenidos.

CIRUGÍA PROTÉSICA PENEANA EN CUBA. ESTUDIO MULTICÉNTRICO

R. Fragas Valdés

Servicio de Urología del Hospital Universitario "Comandante Manuel Fajardo". Clínica Central "Cira García".

Objetivos: Presentar los resultados de varios centros que constituye, en parte, la salida del protocolo de cirugía protésica peneana en nuestro país, que se llevaron en UROLOGÍA 2009. Coordinado por el Grupo Nacional de Sexología.

Metodología: Entre 1995-2009, en el país se aplicó dicho protoco-

lo, generalizado a todo el país en los últimos cinco años. Operamos 536 pacientes, hidráulicas 1% (ambicor 6 pacientes), el 99% prótesis maleables (530), PROMEDON 354 (66%), AMS y HR (Brasil), 80 (15%), cada una. Siempre que fue posible, preservamos el tejido eréctil. Las vías de abordaje fueron: penoescrotal 85% (456 pacientes), subcoronal 14% (75 pacientes), en 1% (6 casos donde se utilizó la vía infra-púbica con alargamiento peneano. Etiología DE: diabetes mellitus: 128 (28%), enfermedad vascular 204 (38%), e. Peyronie: 76 (14%), fibrosis post priapismo: 27 pacientes, cirugía radical prostática, pélvica y por estrechez uretral: 27 pacientes (10%, cada uno) y otras. Complicaciones: edema/hematoma 3% (16 pacientes cada uno), retención urinaria 2%, infección peri-protésica 2%, erosión de la prótesis 2%, neuralgia 2% (11 pacientes cada uno), lesión del tabique o uretra 1,5% (8 casos), perforación de la crura 0,5%, fallecidos 0,5% (DM, cardiopatía isquémica), con tres pacientes cada uno. Sin complicaciones 90% (482 pacientes), satisfechos 95% (509 pacientes y/o sus parejas).

Conclusiones: Las prótesis peneanas maleable han podido ser generalizada en nuestro país, en los últimos 5 años. Las complicaciones pueden ser evitadas, cumpliendo las normas técnicas de esta cirugía, incluida la profilaxis antibiótica. Los pacientes diabéticos con cardiopatía isquémica, son un grupo de alto riesgo de letalidad. El acompañamiento psicológico, la consejería y el consentimiento informado garantizaron una buena satisfacción de los pacientes y sus parejas (95%).

ALARGAMIENTO PENEANO: UNA CIRUGÍA POLÉMICA. ¿CUÁNDO Y CÓMO LA HACEMOS?

R. Fragas Valdés y C.T. García Álvarez

Clinica Central "Cira García". Hospital Universitario "Comandante Manuel Fajardo". La Habana. Cuba.

Introducción y objetivos: El pene pequeño es una preocupación de muchos hombres, la gran mayoría no requerirán tratamiento quirúrgico, pero sí educación y consejería. Nosotros queremos comentar las indicaciones psicomédicas de esta cirugía y presentar nuestra experiencia con este procedimiento.

Metodología: Se realiza un análisis crítico de las indicaciones del alargamiento peneano. Según el Prof. Rosselló, un pene de un adulto con menos de 9 cm, en elongación o erección, es necesario el alargamiento peneano, siempre que el paciente se queje de "pene pequeño" y en otros con pene en 9 cm, sería conveniente, si después de una consejería adecuada, no reconoce que su pene es normal. La cirugía consiste en la Sección del ligamento suspensor del pene, avance del órgano y refijado. Operamos 23 casos: Dos casos de extrofia vesical y epispadias. Dos con hipospadias dos pacientes con falcotomía parcial por cáncer de pene. 12 pacientes que se le colocó prótesis peneana, dos casos operados de Peyronie (faloplastia) que tenían entre 8 y 9 cm de largo del pene en elongación, 1 caso con hipogonadismo, DM1, con micro-pene, diabético, 2 casos donde fue conveniente el alargamiento, en jóvenes de 20 años, con pene de 10-11 cm, con ideas irreducibles de tener "el pene pequeño", recomendada la cirugía por especialistas de salud mental del equipo multidisciplinario. En la mayoría de los casos los resultados estético y funcional han sido satisfactorios.

Conclusiones: Consideramos que los buenos resultados, dependen de una adecuada selección de los casos y la preparación técnica del equipo médico. Compartimos los criterios de la SLAIS que plantea que: la cirugía de aumento peneano está indicada en algunas situaciones, donde se busca el restablecimiento funcional del pene. Pero excepcionalmente puede ser alargado en situaciones donde es necesario o conveniente, bajo consentimiento informado.

EXPERIENCIA PRELIMINAR EN VITRIFICACIÓN DE ESPERMATOZOIDES

A. Gallo, M.E. Ducatelli y R. Coco

Laboratorio de Andrología. Fecunditas. Medicina Reproductiva. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: La vitrificación es un método que se está comenzando a desarrollar para criopreservar espermatozoides. La vitrificación es una congelación ultrarápida que evita la cristalización intracelular, solidificándose la célula por elevación extrema de la viscosidad del medio durante el enfriamiento. Existe bastante experiencia en ovocitos y embriones, pero no con espermatozoides. Dado que la técnica implica obtener del eyaculado una fracción pura de espermatozoides, la misma al estar libres de células potencialmente contaminantes asegura un almacenamiento y un uso más confiable al desvitrificarse.

Objetivos: Presentar nuestros resultados preliminares en una pequeña serie de 10 eyaculados normales.

Metodología: Los eyaculados fueron conservados en test yolk en proporción 1:1. Luego se realizó un Swin Down con dos fracciones de Percoll isotónico al 90 y 50%, dejándolo migrar por una hora en estufa. Se recuperó la fracción 90% y se realizó un lavado. Sobre el pellet se realizó un Swim Up. Se recogió la parte superior del sobrenadante y se agregó en proporción 1:1 el medio de vitrificación (HTF+1% HSA+0,25M de Sucrosa) a 37 °C durante 5 minutos. Gotitas de 30 µl de esta suspensión fueron depositadas sobre un colador sumergido en N2 líquido. Solidificadas las mismas se criopreservaron en viales. Para la desvitrificación, las gotitas solidificadas fueron disueltas en medio de desvitrificación (HTF+1%HSA) durante 10 minutos a 37 °C.

Resultados: El porcentaje de espermatozoides progresivos desvitrificados fue: 1) 60%, 2) 58%, 3) 87,5%, 4) 25%, 5) 33%, 6) 50%, 7) 30%, 8) 17,7%, 9) 7,5%, y 10) 49%.

Conclusiones: Teniendo en cuenta que con la criopreservación lenta la recuperación de espermatozoides móviles progresivos rara vez supera el 50%, los resultados hallados en esta pequeña serie muestra una tendencia similar, con la ventaja que al desvitrificar se puede usar la muestra directamente en el procedimiento de reproducción asistida, sin pérdida adicional.

FACTOR MASCULINO EN EL ESTUDIO DE LA PAREJA INFÉRTIL

D. García García, J. Jiménez Parra, L. Torres Varas, A. Arrieta Sotil, E. Quinteros Montano, M. Montesino Semper, M. Ruiz Ramo, M. Pinos Paul, A. Santiago González de Garibay y J.L. Arrondo

Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: El porcentaje de parejas que no consiguen el embarazo tras el primer año de intentarlo se sitúa en torno al 15%. Con este trabajo se pretende hacer una descripción del perfil del varón que consulta por infertilidad en el entorno sanitario público de Navarra.

Metodología: Se presenta un estudio retrospectivo de los datos clínicos de varones de parejas infértiles entre enero de 2006 y diciembre de 2008 en el entorno sanitario público de Navarra (España). Se analizan los resultados de historia clínica, exploración física, ecografía testicular, seminograma (según los valores de referencia de la guía de la OMS año 2010) y perfil hormonal mediante la explotación de la Historia Clínica Informatizada.

Resultados: Del total de 1.046 parejas que consultan por infertilidad, el 96,17% completan el estudio del varón. De ellos, el 76,67% corresponden a infertilidad primaria y el 20,27% a secundaria. Los varones estudiados tenían una edad mediana de 35 años (rango 20-62 años) y el tiempo de evolución de la infertilidad fue de

24 meses de mediana (rango 2-168 meses). En un 10% de casos hubo un posible contacto con tóxicos y un 22,85% de varones tenían antecedentes urológicos. En la exploración física y/o ecografía se detectaron un 15% de anomalías (varicocele y atrofia testicular fundamentalmente). Un 73,46% de los pacientes presentaron espermograma normal. De entre los seminogramas alterados, el hallazgo más frecuente correspondió a oligoastenozoospermias (9,44%). Se biopsiaron el 37,5% de las azoospermias (4,8%). Se detectaron un 2,7% de alteraciones hormonales y un 0,6% de anomalías congénitas no conocidas.

Conclusiones: La demanda de consultas por infertilidad en nuestro medio es de 0,6/1.000 habitantes/año. En el 26,54% de los varones se aprecian alteraciones en el espermograma.

NIVEL DE ESPECIES REACTIVAS EN LA POBLACIÓN DE ESPERMATOZOIDES SEPARADOS CON EL "ENSAYO DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA"

L.V. Gatica, D.R. Uñates, H.A. Guidobaldi y L.C. Giojalas

Centro de Biología Celular y Molecular. FCEFN. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

Introducción: La fecundación está asociada al buen estado fisiológico de los espermatozoides (E), el cual involucra la capacitación espermática y un bajo nivel de oxidación celular, siendo las especies reactivas derivadas del anión superóxido (O_2^-) y del óxido nítrico (ON) las responsables del estrés oxidativo. Un mecanismo fisiológico que permite la selección de los E capacitados (cap) es la orientación de su movimiento siguiendo un gradiente de concentración de una molécula atractante, fenómeno denominado quimiotaxis. En nuestro laboratorio hemos desarrollado el "Ensayo de Selección Espermática" (ESE), que permite seleccionar E cap mediante quimiotaxis hacia la Progesterona (P).

Objetivos: Evaluar el nivel de ON y de O_2^- en la población espermática seleccionada con el ESE, y su correlación con el estado capacitado.

Metodología: La muestra de E preparada bajo condiciones capacitantes, se expuso a un gradiente pM de P en la cámara del ESE. En la población espermática antes de aplicar el ESE y en la recuperada al final del ESE, se determinaron los siguientes parámetros: % de E con ON y O_2^- , mediante el uso de marcadores fluorescentes (DAF-2 DA y DHE, respectivamente), y % de E cap mediante la técnica de CTC y la determinación de la reacción acrosómica inducida con A23187 evaluada con Coomassie Blue. El nivel de variación en estos parámetros se determinó luego de aplicar el ESE mediante el cálculo del índice de variación (IV%E).

Resultados: Después de aplicar el ESE en presencia de P, se observó una disminución significativa en el IV%E conteniendo ON y O_2^- , mientras que el IV%E cap aumentó significativamente ($p < 0,05$).

Conclusiones: Estos resultados preliminares muestran que la población espermática separada con el ESE en presencia de progesterona permite seleccionar E en su mejor estado fisiológico, aquellos que están capacitados y con menor contenido de especies reactivas.

HIPERINSULINEMIA Y TRASTORNOS DE LA ESPERMATOGÉNESIS

M. Gómez Alzugaray y Y. Piña Rivera

Instituto Nacional de Endocrinología. La Habana. Cuba.

Las causas que dan origen a los trastornos de la espermatogénesis pueden ser múltiples y en su mayoría no pueden ser determinadas. Uno de los factores se ha planteado que puede ser la hiperinsulinemia relacionada con los estados de resistencia insulínica (RI). Con el

objetivo de conocer la asociación de la hiperinsulinemia y RI con la presencia de trastornos espermáticos, estudiamos a 50 hombres que consultaron por infertilidad, los cuales se agruparon en normozoospermicos y con trastornos de la espermatogénesis (oligozoospermarios, astenozoospermicos y oligoastenozoospermicos). A todos se les realizó: prueba de tolerancia a la glucosa (PTG) de 2 horas determinando glicemia e insulinemia cada 30 minutos, colesterol y triglicéridos y se usó el índice de Homa para determinar RI. Se recogieron datos clínicos. En los resultados se observó un número mayor de obesos en los pacientes con trastornos espermáticos (45,45% y 26,37%, respectivamente). Las cifras de glicemias fueron similares en ambos grupos sin diferencia estadística (media 4,24 en normozoospermicos y 4,34 en pacientes con trastornos espermáticos). En la PTG los niveles de insulina en ayuna fueron de 13.11 en los pacientes con patologías y 10.54 en los normozoospermicos. Las cifras de Insulina a partir de los 30 minutos se mantuvieron elevadas en los pacientes con trastornos espermáticos. El índice de Homa fue mayor en pacientes con trastornos espermáticos (2,57 vs 2,04). Los niveles de colesterol y triglicéridos no presentaron diferencias entre ambos grupos. Se concluye que el sobrepeso y las hiperinsulinemias se presentaron con mayor frecuencia en pacientes con trastornos espermáticos.

LA RUTA CANÓNICA WNT/ β -CATENINA EN SEMINOMA CLÁSICO: UN ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO. REPORTE PRELIMINAR

F. Guerra¹, G. Mendeluk¹, L. Palaoro¹, L. Jufe², H. Pascucelli², S López-Costa³ y S. Demiceu³

¹Laboratorio de Fertilidad Masculina. Área Citología.

Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA. INFIBIOC. Hospital de Clínicas "José de San Martín". Argentina. ²Laboratorio de Anatomía Patológica;

³Servicio de Urología. J.M. Hospital Ramos Mejía. Buenos Aires. Argentina.

La pérdida o reducción de ciertas moléculas de adhesión, como la E-cadherina, se asocia con el desarrollo de carcinomas y con el cambio a un fenotipo invasivo y metastásico. El objetivo de este trabajo fue estudiar la expresión de E-cadherina, β -catenina y algunas moléculas relacionadas con la ruta Wnt/ β -catenina en seminomas clásicos por técnicas de inmunohistoquímica, para investigar la contribución de esta ruta en el desarrollo de este tipo de tumor. Se utilizaron once muestras de archivo de tacos en parafina de seminomas clásicos procedentes del Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital Ramos Mejía, Buenos Aires, Argentina. De éstos, ocho estaban asociados a carcinoma in situ (CIS). E-cadherina fue positiva en dos seminomas y un CIS, presentando una distribución membranosa. β -catenina se expresó principalmente en células de Sertoli, en algunos gonocitos malignos del CIS y en las membranas de las células seminomatosas de todas las muestras (11/11). β -Catenin nunca fue detectada en el citoplasma o los núcleos de las células neoplásicas. 6/11 CIS mostraron inmunomarcación para vimentina sólo en células de Sertoli, mientras que 6/11 seminomas clásicos presentaron débil expresión de este marcador. Dos CIS y siete seminomas expresaron fosfatasa alcalina placentaria. Ningún tumor mostró positividad para c-Myc o Cyclina D1. Los resultados indicarían ausencia de activación de la ruta Wnt, debido a la falta de expresión de vimentina en 5/11 seminomas, a la baja expresión de este marcador en el resto de los casos, y a la ausencia de marcación nuclear de β -catenina. Estos resultados se confirman por la ausencia de expresión de D1-Cyclina y c-Myc en todas las muestras. Es necesario confirmar este reporte preliminar con mayor número de casos, y de confirmarse, investigar otras probables rutas para el desarrollo de seminomas clásicos.

CORRELACIÓN ENTRE EL TEST DE TUNEL Y PARÁMETROS DEL ESPERMOGRAMA

M. Guinzburg, S. Montero y L. Baccini

Departamento de Endocrinología. IACA Laboratorios. Bahía Blanca. Argentina.

Introducción: La evaluación de la fertilidad masculina requiere un estudio básico de las variables espermáticas. El análisis del semen, en el que se determinan volumen, pH, concentración de espermatozoides, movilidad y morfología, es la prueba clínica más importante para evaluar el factor masculino, pero no revela defectos que afectan la integridad del genoma, lo cual es de vital importancia en el inicio y mantenimiento de un embarazo.

Objetivos: Evaluar la correlación de los parámetros del espermograma (motilidad, morfología y concentración) con la integridad del DNA del espermatozoide medida a través del test de Tunel.

Metodología: Se analizaron en forma retrospectiva 37 muestras de semen a las cuales se les realizó espermograma y test de Tunel (Terminal Desoxynucleotidil Uridin Trifosfato, dUPT, Deoxynucleotidil Transferase Nick-End Labelling Assay) (In Situ Cell Death Kit - Roche). Se empleó un citómetro de flujo Facscalibur de cuatro colores (Beckton Dickinson). Para el análisis estadístico se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman.

Resultados: La comparación del test de Tunel con la morfología espermática, movilidad progresiva (a+b), y recuento de espermatozoides/ml arrojó los siguientes resultados: $r = 0,409$, $p < 0,05$; $r = 0,141$ $p = 0,40$; $r = 0,515$ $p < 0,05$ respectivamente.

Conclusiones: No se demuestra una fuerte correlación entre los aspectos analizados en el espermograma y el test de Tunel. Por lo tanto un estudio básico de semen con parámetros dentro de la normalidad no descarta la presencia de otras anomalías que afectan la fertilidad, como es el caso de la integridad del DNA.

DISMINUCIÓN DE LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO POR COLUMNAS DE ANEXINA V EN MUESTRAS CON FINES CLÍNICOS

F. Horta, C. Musri, J. Crosby, A. Mackenna, R. Smith y C. Huidobro

Laboratorio de Andrología y Laboratorio de Medicina Reproductiva. Unidad de Medicina Reproductiva. Clínica Las Condes. Chile. Instituto de Investigaciones Materno Infantil. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Chile.

La fragmentación del ADN espermático es considerada un factor que puede influir negativamente en los resultados clínicos de parejas que son sometidas a técnicas de reproducción asistida (TRA). La técnica de separación de los espermatozoides que se utilizarán para la inseminación de los ovocitos, constituye una parte muy importante del procedimiento de reproducción asistida. La separación magnética de espermatozoides por columnas de anexina V es una novedosa técnica que incluye una separación previa por gradientes junto a un filtrado que remueve espermatozoides apoptóticos, al reconocer la externalización de fosfatidilserina en la superficie de espermatozoides con ADN fragmentado. Una adecuada disminución de la fragmentación del ADN, podría contribuir a los resultados de TRA. Los objetivos fueron: 1. Determinar la disminución de la fragmentación del ADN con el uso de columnas de anexina V. 2. Identificar si existe alteración de la motilidad tras realizar la filtración por las columnas. Las muestras seminales fueron obtenidas de 12 sujetos. Se realizó un espermograma, se evaluó la fragmentación del ADN a través del ensayo TUNEL en la muestra nativa y la muestra filtrada. Se analizó la motilidad espermática de las muestras nativa, separada por gradientes y filtrada por columnas. Se observó una disminución de un 72,1% de fragmentación del ADN espermático medido por TUNEL ($p < 0,05$) en las muestras filtradas ($4,42\% \pm 0,66$) respecto al semen nativo ($15,83\% \pm 1,76$). No se observó diferencias

($p > 0,05$) en cuanto a la motilidad espermática entre la separación por gradientes ($70,42\% \pm 5,74$) y el uso columnas ($70,33\% \pm 7,29$). Los resultados demuestran que el uso de columnas de anexina V remueve eficazmente la fragmentación del ADN espermático en el semen nativo, sin alterar la motilidad de la separación espermática. Los resultados observados sugieren que el uso de Columnas de Anexina V, podría ser incorporado como metodología con fines clínicos, para la disminución de espermatozoides con ADN fragmentado.

VASO-VASOSTOMÍA MICROQUIRÚRGICA. RESULTADOS TRAS 18 AÑOS DE EXPERIENCIA

J.D. Jiménez Parra, D. García García, L. Torres Varas, A. Sotil Arrieta, E. Quinteros Montano, M.A. Pinós Paul, M. Ruiz Ramo y J.L. Arrondo Arrondo

Complejo Hospitalario de Navarra. Pamplona. España.

Introducción: La reversión microquirúrgica de la vasectomía es una técnica demandada cada vez más por los pacientes en la consulta de andrología. Aportarnos nuestros resultados.

Metodología: Se realiza una revisión retrospectiva de los pacientes intervenidos de vaso-vasostomía bilateral entre los años 1992 y 2010. En total fueron 59 pacientes. La técnica se realizó en todos los casos con anestesia local (mepivacaína al 2%). La sutura se realizó con microscopio óptico (lente de 8,5 aumentos) y en dos planos (mucosa con Nylon 10/0 y adventicia con polipropileno de 9/0). Se realizó una revisión de las historias clínicas y se actualizaron telefónicamente los datos (control de gestación anual en los pacientes que no habían conseguido descendencia).

Resultados: Se han documentado datos de 55 pacientes (4 perdidos para el seguimiento). El tiempo medio de intervención fue de 130 minutos. La edad mediana fue de 38 años (rango de 28-51). El tiempo mediano transcurrido entre la vasectomía y la reconstrucción micro quirúrgica fue de 5,5 años. En 25 pacientes éste fue mayor de 5 años y en 34 menor. La causa más frecuente de intervención fue el cambio de pareja. Un 67,3% de los pacientes presentaron espermogramas positivos ($n = 37$) en los primeros 6 meses tras la cirugía. De los seminogramas positivos, 13 (35%) fueron de pacientes con más de 5 años de evolución. Obtuvimos un total de 16 embarazos (29%), 13 pertenecientes al grupo con menos de 5 años entre ambas cirugías.

Conclusiones: Hemos constatado resultados inferiores a la media en seminogramas positivos y en tasa de embarazos, no obstante, hemos incluido a todos los pacientes sin excluir aquellos realizados durante la curva de aprendizaje.

TRATAMIENTO DE LA DISFUNCIÓN ERÉCTIL EN PACIENTES CON APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO: NUESTRA EXPERIENCIA

G. Lendinez, S. Moreno, J. Leal, F. Rivera, J. Amaya y E. Camacho

Unidad de Andrología. Servicio de Urología. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

Introducción: El síndrome de apnea/hipopnea obstructiva del sueño (SAHOS) se define como el cese intermitente del flujo aéreo en nariz y boca durante el sueño. Aunque en ocasiones van unidas, no es lo mismo SAHOS que EPOC. Este trastorno va a producir hipoxemia, hipercapnia y acidosis respiratoria. Se ha encontrado alteración del reflejo bulbocavernoso por polineuropatía periférica en estos pacientes debido a una disminución de la ppO_2 arterial. Esto, unido a la interrupción del sueño profundo, va a ocasionar una disfunción cerebral que se manifiesta con hipersomnia diurna, deterioro intelectual, cambios de personalidad y alteraciones del comportamiento. Todas estas alteraciones pueden derivar en la disfun-

ción eréctil (DE). Revisamos la literatura y exponemos nuestra experiencia.

Metodología: En los últimos 10 años hemos asistido en nuestra Unidad a 74 pacientes con DE, con una media de edad de 54 años, diagnosticados de SAHOS por el Servicio de Neumología tras estudio con polisomnografía, que consultaron por disfunción eréctil de 3,45 años de evolución media. Se realizó estudio según nuestro protocolo y se instauró tratamiento individualizado en función del tipo de DE y la patología asociada. Todos ellos fueron tratados por el Servicio de Neumología con dispositivos de presión continua positiva en la vía aérea (CPAP), excepto dos pacientes.

Resultados: En tres pacientes se decidió abstención terapéutica debido a patología de base severa y doce abandonaron el tratamiento. Los resultados obtenidos en el resto de los pacientes fueron: a) 20 con IIC (inyección intracavernosa) consiguiendo en 17 buena respuesta y en 3 sólo mejoría; b) 30 con PDE5-Is (inhibidores de la fosfodiesterasa 5), teniendo en 21 buena respuesta, en 6 mejoría y en 3 ninguna respuesta; y c) 9 sin ningún tratamiento para su DE, y 8 evolucionaron de forma favorable y 1 experimentó mejoría.

Conclusiones: 1) Hay que considerar el SAHOS como posible causa de DE. 2) No hay contraindicación para el tratamiento de la DE en el contexto del SAHOS per se, aunque sí lo puede haber por la patología acompañante. 3) Se debe instaurar un tratamiento individualizado en función del tipo de DE y las características del paciente. 4) En nuestra serie hemos tenido buenos resultados y bajo índice de abandonos.

DISFUNCIÓN ERÉCTIL POSTRASPLANTE DE HÍGADO

O. Levalle¹, L. Chávez², V. Descalzi², F. Gruz², E. Mormandi¹, N. Kogovsek¹, S. Aszpis¹ y P. Otero¹

¹Sección de Andrología. División de Endocrinología. Hospital Durand. Buenos Aires. Argentina. ²Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático. Instituto Trasplante Multiorgánico. Hospital Universitario Favaloro. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: A pesar de la creencia de que la función sexual puede mejorar luego del trasplante hepático (TH), algunos pacientes padecen una vida sexual insatisfactoria. Existen pocos datos longitudinales sobre los cambios endocrinos que ocurren luego del trasplante de hígado.

Objetivos: Evaluar la prevalencia de la disfunción sexual eréctil (DSE) y los factores asociados con su desarrollo, especialmente en relación con el estatus de los esteroides sexuales.

Metodología: Se invitó a 54 pacientes varones post-TH a contestar 5 ítems del International Index of Erectile Function (IIEF-5) y del Hamilton Depression Rating Scale (HS). Se definió como DSE un IIEF-5 \leq 21 y depresión HS \geq 8 puntos, respectivamente. Se evaluaron los niveles séricos de testosterona (T), T biodisponible (Tbio), androstano-3 α , 17 beta-diol (3-DIOL-G) (metabolito glucuronido de la dihidrotestosterona), SHBG, glucosa e insulina.

Resultados: Las principales etiologías de la cirrosis fueron HCV, HBV, alcohol, NASH y criptogénica, reflejando una prevalencia de 30, 22, 17, 11 y 11%, respectivamente. La edad media fue 60 (20-78) años de edad y el seguimiento fue de 6 a 168 meses. El 85% estaban inmunosuprimidos con inhibidores de calcineurina. Los cuestionarios fueron respondidos por 49 pacientes: 5 pacientes (10,2%) tuvieron más de 21 puntos en el IIEF-5 (función eréctil normal) mientras que 21 (42,9%) lograron menos de 8 puntos (no depresión), $p < 0,003$. No se halló correlación alguna entre edad/DSE - edad/HS ni entre DSE/HS. Se estableció una correlación inversa entre la edad y T ($p < 0,02$) y Tbio ($p < 0,003$), y una correlación directa entre IIEF-5 y T ($p < 0,04$), Tbio ($p < 0,03$) y 3-diol ($p < 0,03$).

Conclusiones: 1) En nuestra serie se halló una prevalencia sorprendentemente alta de DSE y aparenta no estar relacionada a la condición psicológica. 2) El hipogonadismo no parece mejorar después del TH, tal vez por las alteraciones gonadales pre-existentes (daño tóxico-metabólico) y por los efectos colaterales de la inmunosupresión farmacológica. 3) Se requieren nuevos estudios para hallar otras razones de la relación entre la evolución del hipogonadismo y el trasplante hepático, y para explorar la posibilidad de la androgenoterapia post trasplante.

POTENCIACIÓN DE FACTORES TÓXICOS Y ESTILO DE VIDA SOBRE LOS PARÁMETROS SEMINALES

M. López Seoane¹, M. Epelede¹, G. Molina², A. Tissera³, R. Molina³ y J. Olmedo⁴

¹Servicio de Urología. Sanatorio Allende. ²Cirugía UHN 4 Cátedra Facultad de Ciencias Médicas UNC. ³Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR). Córdoba. ⁴Fundación Urológica de Córdoba para la Docencia e Investigación Médica (FUCDIM). Córdoba. Argentina.

Introducción: Se han publicado numerosos trabajos del efecto nocivo de ciertos hábitos tóxicos y estilo de vida sobre los parámetros seminales con resultados controvertidos.

Objetivos: Determinar si hay efecto de potenciación entre distintos factores tóxicos sobre los parámetros seminales.

Metodología: Se estudiaron 2.083 pacientes (2007-2010). 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, antecedentes de trabajar con agroquímicos, tomar medicación crónica, criptorquidia, orquitis urleana, alteraciones hormonales y cirugías genitourinarias. Se consideró como factores tóxicos: alcohol, tabaco, índice de masa corporal (IMC). Como covariables: edad, abstinencia y horas de portar celular. Para el estudio estadístico se realizó MANCOVA.

Resultados: Se ajustaron las medias de todas las variables de los parámetros seminales por edad, abstinencia y horas de portar celular. Al estudiar el impacto de todos los factores en los parámetros seminales sólo se observa diferencias significativas en el volumen seminal y ácido cítrico (AC). En el variable volumen encontramos una potenciación entre los factores Alcohol e IMC ($p < 0,016$). O sea que a mayor IMC y mayor cantidad de alcohol ingerido, los pacientes presentan un volumen seminal más disminuido. En los niveles de AC se observa una interacción de los factores tabaco y alcohol ($p < 0,006$), encontrándose valores más bajos de AC en los pacientes que consumen y toman alcohol.

Conclusiones: Las variables biológicas como los parámetros seminales son eventos muy complejos y responden a fuentes multifactoriales, por eso a pesar de estudiar un número importante de pacientes solo podemos demostrar la potenciación del efecto negativo de algunos factores sobre los parámetros seminales.

VALORES DE REFERENCIA DEL TEST HIPOSMÓTICO MODIFICADO (VHOS). TEST PARA EVALUAR EN FORMA INTEGRAL LA MEMBRANA ESPERMÁTICA

M. López Seoane¹, M. Epelede¹, G. Molina², A. Tissera³ y R. Molina³

¹Servicio de Urología. Sanatorio Allende. Córdoba. Argentina. ²Cirugía UHN 4 Cátedra Facultad de Ciencias Médicas UNC. Argentina. ³Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR). Córdoba. Argentina.

Introducción: Los métodos comúnmente utilizados para evaluar integridad de la membrana plasmática (MP) del espermatozoide

como el test hipo osmótico (HOS) y el test de eosina (TE) dan información de la integridad y funcionalidad de uno de los compartimentos de la MP de la cabeza (TE) o de la cola (HOS). En algunos casos la baja correlación entre HOS y TE podría deberse a la diferencia en la labilidad de la MP entre ambos compartimentos. Un nuevo método test hipo osmótico Vivo (VHOS) propuesto por nuestro grupo (Fertil Steril. 2006;85(6)) evalúa los espermatozoides reactivados vivos (VHOS), evaluando así la MP en su totalidad.

Objetivos: Determinar valores de referencia para este nuevo método VHOS. Diseño: Prospectivo

Metodología: Se estudiaron 65 muestras de semen de voluntarios fértiles que habían logrado el embarazo dentro de 12 meses de búsqueda. A cada muestra se determinó, luego de 15 minutos de incubación en medio hipoosmótico (Jeyendran et al. 1984) el porcentaje de espermatozoides reactivados vivos (VHOS) y el porcentaje de reactivados totales (HOS total: vivos y muertos). Estadística: Para la determinación de los valores de referencia se realizó el análisis descriptivo donde se consideró el percentil 5% como límite inferior de referencia.

Resultados: De acuerdo a nuestros resultados obtuvimos un valor de referencia (p 5%). VHOS = 39,8% y de HOS total = 56,5%.

Conclusiones: Creemos que la prueba VHOS evaluaría en forma integral el estado anatomofuncional de la MP del espermatozoide, el cual sería un test de mayor utilidad en la clínica. Estudios posteriores serán necesarios para demostrar su utilidad clínica.

EFEECTO DE LA TESTOSTERONA EN LA APOPTOSIS DE CÉLULAS ADENOHIPOFISARIAS

M.L. Magri, S. Zarate, G. Jaita, J. Ferraris, G. Eijo, M. Imsen, D. Piser y A. Seilicovich

Inbiomed (Instituto de Investigaciones Biomédicas). Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

En condiciones basales, la adenohipofisis de ratas machos adultos presenta una tasa de recambio diario de su parénquima celular de 1.5%, siendo ésta la mitad que la observada en ratas hembras. En ratas machos y hembras, los esteroides gonadales regulan la renovación celular adenohipofisaria. El estradiol ejerce acciones proapoptóticas en células adenohipofisarias provenientes de ratas hembras gonadectomizadas (GNX). La testosterona (T), actuando por vías clásicas, ejerce acciones antiapoptóticas en sistema nervioso, células β pancreáticas, células cancerosas prostáticas, entre otros. Nuestro objetivo fue evaluar el efecto directo de la T sobre la apoptosis de células adenohipofisarias provenientes de ratas machos GNX. Para ello, ratas machos Wistar de 2 meses de edad fueron GNX y luego de 15 días, las adenohipofisis fueron extraídas. Las células adenohipofisarias en cultivo primario fueron incubadas con T (10^{-8} - 10^{-9} M) durante 24 hs. La apoptosis fue evaluada mediante el método de TUNEL en células totales y somatotropos, los cuales fueron identificados por inmunocitoquímica. La T indujo una disminución significativa de la apoptosis en células adenohipofisarias totales tanto a T 10^{-8} M (Control: 11,4%, T: 5,7%, $p < 0,01$, χ^2) como a 10^{-9} M (Control: 11,9%, T: 6,6%, $p < 0,01$, χ^2). En somatotropos, la T 10^{-8} M indujo una disminución significativa de la apoptosis (Control: 8%, T: 5,3%, $p < 0,05$, χ^2) así como a 10^{-9} M (Control: 9,5%, T: 4,5%, $p < 0,01$, χ^2). Nuestros resultados muestran que la T, en concentraciones fisiológicas, induce un efecto antiapoptótico en células adenohipofisarias totales y somatotropos de ratas machos GNX. Este efecto podría tener relevancia en el desarrollo de los tumores adenohipofisarios en individuos de sexo masculino.

HIBRIDACIÓN IN SITU FLUORESCENTE (FISH) EN ESPERMATOZOIDES COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA Y/O DE ORIENTACIÓN TERAPÉUTICA. RESULTADOS PRELIMINARES

M. Mandiola, J. Martínez, L. Rodríguez, M. Soubelet, B. Ruiz, V. Domínguez, J.L. Carbonero, F. Atutxa, A. García-Barberena, Y. Álvarez y K. Palacín

Unidad de Reproducción Asistida. Hospital Quirón Donostia. España.

Introducción: Desde hace unos meses realizamos "FISH en espermatozoides" en 3 grupos de pacientes: oligozoospermias severa (grupo 1), fracasos de implantación (grupo 2), abortos de repetición (grupo 3), pues aún con cariotipo en sangre periférica normal pueden formar gametos aneuploides por alteraciones en la meiosis formando embriones aneuploides.

Objetivos: Evaluar si el FISH en espermatozoides es una herramienta diagnóstica útil y/o sirve como orientación terapéutica en estos 3 grupos.

Metodología: Recogemos retrospectivamente resultados de 115 muestras de FISH. Criterios inclusión: Grupo 1: < 5 millones espermatozoides/ml. Grupo 2: 3 transferencias FIV-ICSI sin gestación. Grupo 3: ≥ 2 abortos tras embarazo espontáneo o tras tratamiento sin otra causa. Opciones tras FISH alterado: semen conyugal sin DGP- ICSI-DGP- Semen donante.

Resultados: 115 muestras: Grupo 1: 37,4%. Grupo 2: 47,8%. Grupo 3: 14,8%. El 27,8% presentaron alteraciones distribuidas: Grupo 1: 27,9%. Grupo 2: 20%. Grupo 3: 52,9%. Cromosomas estudiados (X-Y-13-15-16-17-18-21-22) las alteraciones están: - 56,25% autosomas, 31,25% sexuales, 12,5% autosomas + sexuales. Tras resultado alterado opciones elegidas: 15,6% semen conyugal sin DGP- 18,8% ICSI-DGP- 34,4% semen donante- 31,2% abandono. El 45,4% de las parejas que hicieron algún tratamiento consiguieron embarazo, siendo los tratamientos con donante los de mayor éxito (72,7%).

Conclusiones: Vistos los altos porcentajes de patologías en FISH de estos 3 grupos y, aunque el número de casos no sea todavía elevado, podemos concluir: -El FISH en espermatozoides es una buena herramienta diagnóstica y orientadora en estos grupos de pacientes, siendo el tratamiento con donante (FISH normal) es la que logra mayores tasas de gestación.

PRUEBAS FUNCIONALES EN UNA POBLACIÓN CON FERTILIDAD PROBADA

G. Mendeluk, M. Pugliese, M. Sardi, P. Chenlo, H. Repetto, S. Curi, J. Ariagno y L. Palaoro

Laboratorio de Fertilidad Masculina. Área Citología. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA. INFIBIOC. Hospital de Clínicas "José de San Martín". Buenos Aires. Argentina.

El Manual OMS-2010, establece valores de referencia para ciertos parámetros espermáticos. Sin embargo en el laboratorio clínico andrológico se realizan pruebas para las cuales aún no se han definido dichos valores. El objetivo del presente trabajo es reportar los resultados hallados en una población de hombres con fertilidad probada. Se procesaron 37 muestras de semen provenientes de 20 donantes con edades comprendidas entre 20 y 50 años con fertilidad probada por curso de un embarazo o nacimiento en los últimos 12 meses, sin antecedentes de abortos habituales y un tiempo transcurrido entre la suspensión de la contracepción y el embarazo no mayor a 12 meses. Se excluyeron dadores con enfermedades crónicas y/o desórdenes andrológicos. Se realizó selección espermática por swim-up en esterilidad, se determinó la fosforilación de proteínas en tirosina (inmunocitoquímica) y la hiperactividad post-swim-up, a las 5 y 18h en muestras incubadas en condición capacitante.

El criterio para la detección de espermatozoides hiperactivos fue $VCL > 35 \mu m s^{-1}$, $ALH > 2,5 \mu m$, $STR > 85\%$ (SCA-Microoptic). Se estableció el N° total de espermatozoides móviles progresivos recuperados post swim up por eyaculado, el porcentaje de recuperación en relación a móviles totales y la sobrevida a las 18h, el % de espermatozoides fosforilados e hiperactivos a los distintos tiempos. Los intervalos de confianza del 95% para las medianas fueron: 12,8-32,5 millones de espermatozoides; 33,0-50,8%; 40,0-70,0%; 2,0-5,9%; 7,2-22,0%; 54,0-82,8%; 14,5-23,4%; 25,5-38,5%; 7,6-14,2% respectivamente. No se halló correlación entre los parámetros analizados (Spearman test; $r < 0,6$). Tanto el porcentaje de espermatozoides hiperactivos como el porcentaje de espermatozoides con proteínas fosforiladas en tirosina mostró diferencias significativas a los distintos tiempos estudiados (Anova, Friedman; $p < 0,001$). Estamos caracterizando a esta población en relación a las pruebas mencionadas. Estudios multicéntricos con un mayor número de casos serán necesarios para establecer valores de referencia también para estos parámetros.

ESTUDIO DE LA MOTILIDAD CILIAR EN LA CLÍNICA ANDROLÓGICA

G.R. Mendeluk¹, S. López-Costa², S. Scigliano³, G. Menga⁴, N. Katz², M. Andrian Aeberhard², L. Palaoro¹ y S. Demiceu²

¹Laboratorio de Fertilidad Masculina. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica-UBA. INFIBIOC. Hospital de Clínicas "José de San Martín". ²Servicio de Urología. Hospital J.M. Ramos Mejía. Argentina. ³Centro Respiratorio. Hospital de Niños "Ricardo Gutiérrez". Argentina. ⁴Clínica Médica. Hospital de Rehabilitación Respiratoria "M. Ferrer". Buenos Aires. Argentina.

El movimiento espermático se logra gracias a una estructura de microtúbulos que es común a otras ciliadas del cuerpo; frente a fallas graves de la motilidad se deberían descartar patologías sistémicas, en particular respiratorias. Es nuestro objetivo reportar un caso paradigmático estudiado por un método novedoso. Paciente de 39 años que consulta por infertilidad primaria con antecedente de déficit de α -1-antitripsina. Presenta un espermograma con $877,5 \times 10^6$ espermatozoides/eyaculado, resultando el 100% inmóviles; sin embargo el 57% se hallaron vivos con 13% de formas normales (OMS-2010). El paciente es no fumador; debido a su disnea fue tratado como asmático desde los 13 años. El valor de α -1-antitripsina fue 122 mg/dl (VR > 150 mg/dl). La tomografía computada de pulmón permitió el diagnóstico de bronquiectasias. Se analizaron muestras de cepillado nasal que fueron observadas vivas (medio de cultivo Médiu 199; 37 °C) al microscopio de contraste de fase para determinar morfología, frecuencia y patrón de batido ciliar (video digital de alta velocidad, cámara Prosifica), constatándose frecuencia de batido ciliar de 8,2 hz en promedio y patrón de batido ciliar ligeramente curvo algo rígido, poco amplio y metacrónico, en todos los campos analizados. No se observó movilización de partículas ni de líquido periciliar. El estudio ultraestructural (microscopio electrónico Zeiss EM109) reveló defecto de brazo interno de dineína en el 97% de las ciliadas observadas, con adecuada orientación ciliar. El déficit de α -1-antitripsina se asocia frecuentemente a enfisema pulmonar sin embargo en este paciente se hallaron bronquiectasias. La inmotilidad espermática orientó el estudio de la motilidad ciliar. El paciente cursa con dos patologías autosómicas recesivas, déficit de α -1-antitripsina (incidencia 1/3.500) y disquinesia ciliar primaria, (incidencia 1/12.000), una asociación de patologías respiratorias rara vez vista en la clínica. Habría dos temas a considerar la morbimortalidad del paciente y el consejo genético en caso de decidirse fertilización asistida de alta complejidad.

PGD POR CARIOTIPADO MOLECULAR EN PAREJA ABORTADORA

A. Mondadori, M.E. Ducatelli, J. Mincman y R. Coco

Laboratorio Reprogenoma. Fecunditas. Medicina Reproductiva. Argentina.

Introducción: Está reconocida la alta tasa de aneuploidia ovocitaria con el aumento de la edad, pero no tanto de las espermáticas.

Objetivos: Documentar la contribución paterna en el origen de los embriones aneuploides en un varón de 46 años casado con una mujer de 44 años.

Metodología: La pareja consulta por siete procedimientos ICSI por astenozoospermia y varicocele bilateral, de los cuales cinco terminaron en abortos clínicos por diferentes aneuploidías. La pareja solicita un PGS y realiza 6 procedimientos pero sin PGS por los pocos embriones logrados. Dos de ellos dieron embarazos, pero no evolutivos. La pareja realiza otros dos procedimientos para acopio de blastocistos, logrando ocho, los cuales fueron biopsiados, vitrificados y transferidos en ciclo posterior según el resultado genético. El cariotipado se realizó con aCGH V3 y el origen de las aneuploidías con QF-PCR con STRs específicos. La paciente fue transferida con un blastocisto desvitrificado a CGH normal y logró un embarazo evolutivo de 12 semanas.

Resultados: De los 8 blastocistos, uno resultó normal. Los 7 restantes tuvieron aneuploidías múltiples: a) -2, -5, -6, -18, +15; b) -10, -11, +9, +13; c) +2, +7, +12, +13, +18, +20; d) -9, -22, +8, +11, +12, +15, +16, +17, +18; e) -19, -20, +14; f) -17, +1, +19 y g) -2, -12, -13, -17, -21, +8, +9, +20. En cinco de los siete embriones anormales se constató origen paterno de una de las trisomías halladas.

Conclusiones: La combinación del aCGH con QF-PCR con STRs específicos es una herramienta útil para determinar el origen de las aneuploidías embrionarias. Es llamativa las múltiples aneuploidías ovocitarias en un mismo embrión, a diferencia de las espermáticas que fueron únicas, como así también la tasa de 62,5% de aneuploidia espermática (5/8). Estos resultados nos obliga a recapacitar cuando se indica ovodonación en mujeres de más de 40 años con esposos de igual edad.

FACTOR INFECCIOSO SEMINAL Y SU RELACIÓN CON LA EDAD EN PACIENTES QUE CONSULTAN POR FERTILIDAD

G. Molina¹, A. Tissera², E. Metrebian¹, R. Colla¹, A. Sosa¹, R. Molina² y S. Metrebian¹

¹Servicio de Urología. Hospital Privado de Córdoba. Argentina.

²Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR). Córdoba. Argentina.

Introducción: La infertilidad masculina puede ser causada por varios factores, entre ellos los agentes infecciosos. Es bien conocido que los hábitos sexuales, estabilidad de pareja etc. varían con la edad de las personas.

Objetivos: Evaluar la prevalencia de infección según la edad en pacientes que concurren al Laboratorio de Andrología (LAR).

Metodología: Se incluyeron pacientes que concurren al LAR entre agosto de 2009 a septiembre de 2011, entre 20 y 60 años. Para la investigación de Chlamydia trachomatis (CHt) se realizó cultivo celular en 913 muestras de semen e hisopado uretral y para la investigación de Micoplasma hominis (Mh) y Ureaplasma urealyticum (Uu) se utilizó el kit comercial Mycofast Evolution II en 938 muestras. Se cultivaron 809 muestras en agar sangre para gérmenes comunes (GC). Para el análisis estadístico, se utilizó en la asociación de variables cualitativas chi cuadrado. Una $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativa.

Resultados: No se encontró una diferencia significativa entre las frecuencias de distribución de los diferentes gérmenes por edad. La prevalencia general (sin discriminar por edad) fue 12,9% ($n = 913$)

para CHt, 6,7% (n: 938) para Mh, 17% (n = 938) para Uu y 19,8% (n = 809) para GC. Si se considera cuántos pacientes están infectados por algún germen (sin discriminar por edad), se obtuvo que el 57,8% presenta positividad. No se encontró diferencia significativa entre las frecuencias de distribución de total de positivos para algún germen por edad.

Conclusiones: Nuestros resultados resaltan la necesidad de estudiar el factor infeccioso en pacientes que consultan por infertilidad debido a la alta prevalencia (57,8%) observada al investigar todos los gérmenes. La frecuencia de distribución de los gérmenes analizados, no presentan diferencia significativa con la edad de los pacientes. El factor infeccioso debería ser estudiado en todos los pacientes que consultan por fertilidad ya que el semen podría actuar como reservorio de gérmenes transmisibles a su pareja con las complicaciones reproductivas ya conocidas.

EFFECTO TÓXICO DE GELES LUBRICANTES SOBRE LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA

G. Molina¹, A. Tissera², E. Metrebian¹, R. Colla¹, A. Sosa¹, S. Metrebian¹ y R. Molina²

¹Servicio de Urología. Hospital Privado de Córdoba. Argentina.

²Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR). Córdoba. Argentina.

Introducción: Pacientes que están en tratamientos por fertilidad presentan sequedad vaginal y utilizan lubricantes comerciales para las relaciones sexuales. También los hombres suelen utilizarlos para la recolección del semen. Estos lubricantes son de venta libre y con la aclaración de no ser espermicidas. Varias publicaciones extranjeras denuncian efecto dañino de estos lubricantes sobre la movilidad espermática.

Objetivos: Evaluar el efecto de los lubricantes vaginales locales: Falic (F), Ky (K), Vimax (V), Hidrogel (H), Multi-O (M) y Gel BKB utilizado para ecografía tras vaginal (G) sobre la movilidad espermática.

Metodología: Se realizaron 3 ensayos y cada lectura se realizó por duplicado. En cada ensayo se realizó a un pool de sémenes normales un "Swim Up". Posteriormente se incubaron los espermatozoides móviles recuperados con soluciones 0,1%, 5%, 10% de cada lubricante en estudio. Se determinó el % de espermatozoides móviles totales a la hora y a las 4 hs postincubación. La toxicidad espermática se evaluó con el Índice de movilidad espermática (IME) calculado por la relación entre el % de espermatozoides móviles en la solución en estudio y el % de espermatozoides de la solución control (0,1%). Valores < 0,75 son predictivos de pobres resultados en reproducción asistida e indican toxicidad espermática.

Resultados: A la hora de incubación se observó que el H afectó significativamente la movilidad espermática a las dos concentraciones investigadas (0,5% = 0,57 y 10% = 0,22). A las 4h de incubación la movilidad espermática menos afectada fue con los lubricantes: F (0,5% = 0,63 y 10% = 0,64), V (0,5% = 0,69 y 10% = 0,68) y M (5% = 0,92 y 10% = 0,68).

Conclusiones: Estos resultados confirman que geles etiquetados como "no espermicidas" afectan la movilidad y sobrevida espermática, por lo tanto la indicación del tipo de Gel sugerida por el médico deberá ser tenida en cuenta si la pareja se encuentra en tratamiento por fertilidad.

CONTRIBUCIÓN DEL BANCO DE SEMEN PROPIO A LA FERTILIDAD HUMANA EN URUGUAY

J.M. Montes, L. Cantú, M. Cánepa y G. Curti

Laboratorio Fertilab. Montevideo. Uruguay.

La infertilidad humana involucra al 15% de las parejas, y es particularmente trascendente en países como Uruguay que exhi-

ben tasas de natalidad bajas. La criopreservación de espermatozoides es una importante herramienta terapéutica para el manejo de esta patología, y muchas veces se convierte en la única posibilidad que tiene un hombre para ser padre biológico. Ejemplos son pacientes que se someterán a tratamientos oncológicos, vasectomías, o que estarán expuestos a distintas condiciones que actúan en detrimento del funcionamiento gonadal. El propósito del presente trabajo es presentar el estado actual del arte de la criopreservación de semen propio así como nuestra experiencia en sus aplicaciones clínicas y resultados terapéuticos desde el comienzo de las actividades del banco en 1989. Se realizó una revisión retrospectiva de los datos hasta el año 2010, analizando la cantidad de solicitudes anuales de criopreservación de espermatozoides; la procedencia del material criopreservado; la indicación de criopreservación; y la distribución etaria de los pacientes, los resultados obtenidos en TRA, y los motivos de cancelación del programa de criopreservación según la indicación. Se compararon los resultados obtenidos con los reportados en la literatura internacional y se hizo especial énfasis en el análisis de los pacientes oncológicos, discriminando por tipo de tumor y grupo etario. El banco de semen de Fertilab se ha consolidado como el único en el Uruguay, habiendo criopreservado espermatozoides de más de 900 pacientes. Los resultados en términos de tasas de embarazo con espermatozoides descongelados son comparables o superan a los reportes internacionales. Los resultados de este trabajo justifican plenamente la existencia del banco de semen y reafirman la eficacia de las técnicas y procedimientos por nosotros realizados en pro de la fertilidad humana y la salud reproductiva del país.

CIRUGÍA DE ALARGAMIENTO PENEANO POSTAMPUTACIÓN PARCIAL POR TUMOR. PRESENTACIÓN DE UN CASO

D. Moreno, J.P. Oña Hurtado, J.M. Lourenço da Cunha, G. Alzú y M. Rodríguez Peña

Servicio de Urología. Hospital Militar Central. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: Las cirugías de alargamiento peneano por motivo estético habitualmente fracasan dado que no satisfacen en forma objetiva las expectativas de los pacientes que las solicitan ya sea por motivos psicológicos del paciente, por complicaciones o pobres resultados postoperatorios. La única indicación clara de esta cirugía son los pacientes que fueron sometidos a amputación parcial del pene por tumor.

Caso clínico: Paciente de 54 años que fue sometido 8 meses antes a una penectomía parcial por tumor. En el postoperatorio alejado manifestó su preocupación por el grado de acortamiento peneano resultante. Se decidió intervenir quirúrgicamente al paciente practicándose una plástica para alejar la raíz peno-escrotal (técnica similar a la que se utiliza para corregir el pene palmeado) la cual se asoció a la sección de los ligamentos suspensorios del pene. Se logró un alargamiento en estiramiento máximo de cm. La resultante estética luego de la plástica fue aceptable y el grado de conformidad del paciente fue bueno.

Conclusiones: La cirugía de alargamiento peneano es un procedimiento válido en pacientes previamente sometidos a penectomía parcial por tumor cuando los alcances de la cirugía y sus posibles complicaciones son correctamente explicados.

VALORES DE REFERENCIAS LOCALES (CÓRDOBA) PARA LOS PARÁMETROS DEL SEMEN HUMANO

J. Olmedo², A. Tissera¹, M. López Seoane³, G. Molina⁴ y R. Molina¹

¹Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR). Córdoba. Argentina. ²Fundación Urológica de Córdoba para la Docencia e Investigación Médica (FUCDIM). Córdoba. Argentina. ³Servicio de Urología. Sanatorio Allende. Córdoba. Argentina. ⁴Cirugía UHN 4. Cátedra Facultad de Ciencias Médicas UNC. Argentina.

Introducción: Los nuevos valores de referencia publicados por la OMS 2010 han sido discutidos por varios autores con opiniones controvertidas. La OMS propone que cada región geográfica y cada laboratorio deberían contar con sus propios valores de referencia.

Objetivos: Evaluar los valores de referencia de una población de voluntarios de Córdoba que habían logrado el embarazo dentro de los 12 meses de búsqueda y sus parejas estaban cursando con un embarazo no mayor a 24 semanas (6 meses).

Metodología: Diseño prospectivo, de cohorte. Se estudiaron 2.487 muestras de semen, los cuales se dividieron en 3 grupos: Grupo de voluntarios fértiles (GF, n = 80), grupo de pacientes que consultan por fertilidad, o sea fertilidad desconocida (GFD, n = 2.101), y un grupo de pacientes con factor masculino (GFM, n = 306). Los parámetros seminales fueron evaluados según OMS 1999.

Estadística: para la obtención de un valor de corte que discrimine población fértil de pacientes con factor masculino se utilizaron curvas ROC (Receiver Operator Characteristic Curve). Un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

Resultados: Los valores de corte arrojados por las curvas ROC entre el GF y el GFM para los principales parámetros seminales son: concentración/ml = $23,33 \times 10^6$ /ml, movilidad total = 48% y morfología espermática = 7%.

Conclusiones: En este trabajo, para obtener el valor de corte, se utilizó una población con factor masculino puro. Lo que se pretende lograr, es obtener un valor de corte que discrimine con la mayor especificidad y sensibilidad posible la población fértil de la infértil por factor masculino. Consideramos que los valores de referencia que obtuvimos para nuestra población local, serían una mejor ayuda de orientación para el especialista en reproducción, quien debe tomar conductas terapéuticas y eficaces que lleven a la pareja que consulta por fertilidad a lograr el éxito reproductivo.

EVALUACIÓN VASCULAR Y NEUROFISIOLÓGICA DE PACIENTES DIABÉTICOS CON DISFUNCIÓN ERÉCTIL Y SU CORRELACIÓN CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON IPDE₅

J.P. Oña, D. Moreno, O. Villanueva, M. Matiazzi, J.M. Lourenco da Cunha, G. Alzú, M. Kura y M. Rodríguez Peña

Servicios de Ecografía, Neurología, Nutrición y Urología. Hospital Militar Central. Buenos Aires. Argentina.

Objetivos: Correlacionar, en pacientes diabéticos parámetros de la evaluación vascular y neurofisiológica con la respuesta al tratamiento con inhibidores de la fosfodiesterasa 5 (IPDE₅).

Metodología: Se estudiaron 67 pacientes diabéticos quienes consultaron por DSE de tiempo variable de evolución evaluándose los siguientes parámetros: glucemia basal promedio (GBP) en el último año y hemoglobina glicosilada (Hbgl), eco doppler peneano con drogas vasoactivas, medición de velocidad de pico sistólico (VPS) y velocidad de fin de diástole (VFD), evaluación neurofisiológica y medición de valores de reflejo bulbo-cavernoso (RBC), velocidad de conductancia motora (VCM) y potenciales evocados pudiendo-corticales (PEPC). Parámetros de neuropatía autonómica

(NA) por electromiografía de cuerpos cavernosos (EMG-CC). En todos los pacientes se realizó tratamiento con sildenafil 50 o 100 mg y se evaluó la respuesta al tratamiento a los 6 meses dividiéndolos en 2 grupos: Grupo 1 (G1) - Buena respuesta; Mejoría de los parámetros de erección según IIEF, grupo 2 (G2) - Sin respuesta al tratamiento.

Resultados: La edad promedio de la población estudiada fue de 53 años (rango 21-71) 7 pacientes evidenciaron buena respuesta al tratamiento (G1) y 5 no respondieron. En ambos grupos los valores de los parámetros estudiados fueron los siguientes: GBP: G1: $174,0 \pm 49,5$ mg/dl vs G2: $292,0 \pm 22,0$ ($p < 0,05$). VPS: G1: $27,35 \pm 5,28$ cm/seg vs G2: $10,45 \pm 4,51$ ($p < 0,05$), VFD: G1: $3,8 \pm 0,5$ cm/seg vs G2: $6,8 \pm 1,2$ ($p < 0,05$), RBC: G1: $38 \pm 8,7$ mseg vs G2: $34,6 \pm 10,11$. VCNi: G1: $40,11 \pm 12,4$ m/seg vs G2: $45,8 \pm 23,1$, PEPC: G1: $45,5 \pm 19,3$ mseg vs G2: $45,3 \pm 23,6$. El tiempo de evolución promedio de la DSE es de 1,5 años para G1 vs 5 años para G2.

Conclusiones: La DSE es una patología de alta prevalencia en la población diabética. Varios factores han sido implicados en su desarrollo. Nuestros resultados indican que las alteraciones vasculares de los cuerpos cavernosos ejercerían una mayor importancia en la severidad del cuadro y en la tasa de respuesta al tratamiento con IPDE₅. Los parámetros neurofisiológicos no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos.

ESTUDIO DE EPIDÍDIMOS DE RATAS HIPOTIROIDEAS UTILIZANDO MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN, AGNOR, INMUNOMARCACIÓN Y PHALOIDIN

L.A. Palaoro, M. Rosales, O.E. Canessa, S. Peressini, A.E. Rocher y G.R. Mendeluk

Laboratorio de Fertilidad Masculina. Área Citología. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. INFIBIOC. Hospital de Clínicas "José de San Martín". Buenos Aires. Argentina.

Las ratas hipotiroideas muestran alteraciones en la movilidad de los espermatozoides recuperados de epidídimos, así como en las estereocilias que tapizan el extremo luminal de las células del epitelio epididimario. El objetivo del presente trabajo fue la investigación de los cambios en el epitelio del epidídimo de ratas tratadas con ¹³¹Iodo, para lo cual se recurrió a la técnica de AgNOR, la microscopía electrónica de transmisión (TEM), la inmunomarcación con anticuerpo anti-actina de músculo liso (SMA) y la marcación con Phaloidin unido a un fluorocromo (Ph) observada con microscopía confocal. El recuento de las partículas NOR no diferenció cambios en la capacidad proliferativa del epidídimo de ratas hipotiroideas en relación al lote control ($4,8 \pm 0,38$ vs $4,6 \pm 0,32$; $p < 0,001$), pero la técnica de TEM reveló cambios en las mitocondrias de las ratas hipotiroideas: matriz mitocondrial menos densa, crestas mitocondriales retraídas o ausentes. La inmunomarcación con SMA no detectó actina en el citoesqueleto de las células epididimarias, y sólo marcó las células musculares lisas que rodean el túbulo. La marcación con Ph mostró un patrón difuso de actina tanto en citoplasma como en la zona de estereocilias, indistinguible entre ratas controles e hipotiroideas. Los resultados muestran cambios apoptóticos incipientes en células de epitelio de epidídimo de ratas hipotiroideas utilizando TEM; la técnica de AgNOR no aporta datos de utilidad. Las técnicas utilizadas para la investigación del citoesqueleto de actina, no permiten explicar las alteraciones de las estereocilias en el hipotiroidismo. La despolimerización de actina ha sido reportada en animales hipotiroideos, y siendo Ph un marcador de actina fibrilar (polimerizada), podría interpretarse que hay un predominio de actina monomérica en epidídimo, o bien que la tecnología utilizada carece de la sensibilidad para diferenciar los cambios en animales hipotiroideos.

ANÁLISIS DE PARÁMETROS SEMINALES EN VARONES SUBFÉRTILES SIN Y CON VARICOCELE (PRE-POSQUIRÚRGICO)

M.M. Pijoan

Sanatorio Parque. Servicio de Urología. Laboratorio Central del Sanatorio Parque. Cátedra de Fisiología. Facultad de Ciencias Médicas (UNR). Rosario. Santa Fe. Argentina.

Introducción: Durante años el varicocele ha sido la patología de mayor incidencia causal de infertilidad masculina.

Objetivos: Comparar parámetros seminales de pacientes subfértiles primarios con varicocele post varicocelectomía vs pacientes subfértiles primarios sin varicocele.

Metodología: Se realizó historia clínica, laboratorio básico y espermograma en 228 pacientes con subfertilidad primaria con y sin varicocele. Un grupo de 120 con varicocele izquierdo y uno o más parámetros alterados (concentración, motilidad o morfología espermática) en dos muestras de semen, sometidos luego a varicocelectomía y evaluación de los parámetros a los 6 y 9 meses y un grupo control de 108 pacientes subfértiles primarios sin varicocele.

Resultados: La mejoría en la concentración post cirugía fue 20,06% ($p < 0,0001$) a los 6 y 26,31% ($p < 0,0001$) a los 9 meses. La motilidad aumentó 21,32% ($p < 0,001$) a los 6 y 28,28% ($p < 0,0001$) a los 9 meses. La morfología mejoró 26,8% ($p < 0,0001$) y 57,38% ($p < 0,0001$) a los 6 y 9 meses. No surgieron diferencias significativas entre el grupo pre-quirúrgico y el control, y si entre el control y el post-quirúrgico. Los porcentajes de mejoras entre el grupo post-quirúrgico a los 6 meses y 9 meses de la cirugía fueron 7,5% ($p < 0,0001$) concentración, 5,28% ($p < 0,0001$) motilidad y 25,32% ($p < 0,0001$) morfología. Hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) en todos los parámetros entre grupo control y postquirúrgico, excepto en concentración a los 6 meses.

Conclusiones: Se evidenciaron cambios de los parámetros seminales luego de la varicocelectomía, progresivos en el tiempo. La comparación entre pacientes subfértiles primarios sin y con varicocele no manifestó diferencias en los parámetros, pero si mejoras en la motilidad y la morfología entre los datos de estos dos grupos y el grupo tratado a los seis meses de cirugía y en los tres parámetros a los nueve. Ante la presencia de varicocele en pacientes subfértiles, la varicocelectomía es un factor a considerar.

GINECOMASTIA: UNA FORMA INUSUAL DE PRESENTACIÓN DE LA HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA (HSC) EN EL VARÓN ADULTO

U.M. Pragier y R.J. Lutfi

Sección de Andrología. Servicio de Endocrinología. CMPFA Churruca Visca. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: La ginecomastia, crecimiento del parénquima mamario en el hombre, puede observarse en situaciones fisiológicas (ej: puberal) o patológicas (prevalecen los fármacos y causas idiópáticas). El denominador común es el desbalance estrógenos/testosterona. La HSC en el varón adulto puede manifestarse en el contexto del estudio por esterilidad (daño variable en espermatogénesis, hipogonadismo y/o alteraciones aisladas en gonadotropinas o testosterona), a partir del hallazgo de restos adrenales testiculares (RAT) en una ecografía, o no diagnosticarse nunca.

Objetivos: 1) Análisis de un caso de HSC que se presenta en el varón adulto con una ginecomastia, forma poco habitual, 2) Planteo de estrategias a seguir.

Metodología: Varón de 26 años que consulta por aparición de molestias en mama izquierda, sobre una ginecomastia de larga

data. Datos potencialmente relevantes: consumo esporádico de marihuana, ingesta de pollo 4 veces/semana. No consume medicación. Desarrollo puberal normal. Antecedentes maternos de cáncer de mama. Al examen físico, ginecomastia izquierda difusa (corroborado por mamografía). Aporta: 1) Hepatograma, función renal y tiroidea, CEA, alfa-fetoproteína y β HCG normales. FSH 2 UI/L LH 5 UI/L prolactina 9 ng/ml testosterona 7,36 ng/ml testosterona bio-disponible 13,98 (VR: 6,5-10,2 nmol/l), 2) Ecografía testicular normal. Se solicita 17OH progesterona: 7,5 mcg/l. Se indica prueba de ACTH.

Resultados: 17OH progesterona basal: 3,8 60 minutos: 14,6. Cortisol basal 18,7 60 minutos 25. Se confirma diagnóstico de HSC. Se solicita estudio genético (CYP21) y espermograma. Se indica tamoxifeno 20 mg/d.

Conclusiones: La descripción de este caso ilustra sobre la necesidad de recordar el diagnóstico de HSC en un varón adulto con ginecomastia, principalmente en presencia de alteraciones en las gonadotropinas y/o testosterona. La ausencia de RAT no descarta posibles alteraciones, presentes o futuras, en el espermograma por lo que se recomienda la evaluación periódica del mismo y de la necesidad del uso de corticoides a tal fin, en cada caso.

VALIDEZ DIAGNÓSTICA DE LA PRUEBA DE TUNEL EN ESPERMATOZOIDES PARA DETERMINAR LA CAPACIDAD REPRODUCTIVA

N. Pugliese, P. Chenlo, E. Zeitler, H. Repetto, M. Sardi, G. Mendeluk, J. Ariagno y S. Curi

Laboratorio de Fertilidad Masculina. Área Citología. Departamento de Bioquímica Clínica. Hospital de Clínicas. INFIBIOC. Buenos Aires. Argentina.

Introducción: Para definir una prueba diagnóstica como adecuada es necesario considerar su validez, que se expresa por su sensibilidad y especificidad. Ellas miden la capacidad de identificar correctamente a las personas enfermas y a las no enfermas.

Objetivos: Determinar la validez de la prueba de TUNEL en la determinación de la fragmentación del DNA espermático como diagnóstico de capacidad reproductiva.

Metodología: Se determinó la fragmentación del DNA espermático por la prueba de TUNEL/Ioduro de propidio por citometría de flujo en: 20 donantes sanos con edades comprendidas entre 20 y 45 años y con fertilidad probada por curso de un embarazo o nacimiento en los últimos 12 meses y en 20 pacientes atendidos en la división Ginecología, área de Infertilidad Matrimonial del Hospital de Clínicas, que habían fracasado en procedimientos de Inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) con mujeres menores de 35 años que aportaron ovocitos saludables. Las pruebas estadísticas se llevaron a cabo con MedCalc version 9.5.0.0. Se consideró como significativo un $\alpha > 0,05$.

Resultados: El estudio de curva ROC (característica operativa del receptor) llevada a cabo con la muestra fértil e infértil estima un valor de corte de 26% con sensibilidad de 85% y especificidad de 89%, el área bajo la curva es de 0,917, error estándar 0,0461, $p < 0,001$. El valor predictivo positivo (VPP), considerando una prevalencia del 6% para la infertilidad por causa masculina, es de 32,8% y el VP negativo de 98,9. De acuerdo a las características de la curva si el valor de corte utilizado es mayor a 32%, la sensibilidad de la prueba disminuye a 50%, manteniéndose la especificidad.

Conclusiones: Los parámetros de sensibilidad y especificidad obtenidos para la prueba de TUNEL/Ioduro de propidio (valor de corte: 26%) permiten considerarla como una prueba válida en la detección de alteraciones en la capacidad reproductiva del hombre que consulta por infertilidad.

EFFECTOS DE LA EDAD EN LA RESPUESTA TESTICULAR A UN INHIBIDOR DE AROMATASA LETROZOLE

R.S. Ríos, P. Céspedes y M.A. Ebensperger

Endocrinología; Urología. Hospital San Borja Arriaran. Santiago de Chile. Chile. Instituto de Desarrollo Materno Infantil (IDIMI). Universidad de Chile. Santiago de Chile. Chile.

El hipotálamo es sensible a inhibidores de aromatasa CYP 19 como el letrozole, que aumenta los pulsos de GnRH, y de LH. No está claro si la respuesta de la célula de Leydig es independiente de la edad y el peso, por ello se decidió evaluar la respuesta a letrozole en forma intermitente, por un mes, comparando las respuestas en varones mayores y menores a 40 años que consultaron por infertilidad, disfunción eréctil o sobrepeso. Se determinaron por RIA: LH, testosterona total (T), TSH, estradiol (E), prolactina, peso e IMC. Se descartaron hipotiroidismo, hiperprolactinemia, hipogonadismo hipergonadotropo y diabetes. Se estudiaron 26 pacientes. La edad promedio fue 39 años (19-78), el IMC fue: $27,2 \pm 5,4$, el peso fue: 78 ± 16 kg, la T resultó en: $381,5 \pm 120$ ng/ml, 5 de los 26 tubo $T < 300$ ng/ml. La LH fue normal en todos. Previo consentimiento recibieron letrozole 2 mg oral, día por medio, un mes, luego se les midió: T, Shbg, estradiol, LH post 30 días de tratamiento. Al comparar la población menor de 40 años (13/26) vs mayores de 40 años (13/26), resultó lo siguiente: Edad promedio 29,5 vs 57,6, Peso: $78,4 \pm 17,2$ kg vs $86 \pm 18,8$ (p: NS), IMC: $26,3 \pm 3,31$ vs $31,5 \pm 5,82$ (p: NS), T basal: $365,7 \pm 98,8$ ng/ml vs $388,64 \pm 145$ (p: NS), Tpost: $914,24 \pm 372$ ng/ml vs $598,7 \pm 184$ (p: 0,01), LH: $3,77 \pm 1,25$ Uu/ml vs $3,8 \pm 1,3$ (p: NS), LH post: $14 \pm 8,35$ Uu/ml vs $12,03 \pm 10,1$ (p: NS), E basal: $27,19 \pm 15,6$ pg/ml vs $34,2 \pm 29$ (p: 0,06), E post: $26,1 \pm 23$ pg/ml vs $26,6 \pm 22,5$ (p: NS). La población presentó un incremento de LH y T significativo, siendo más elevada la respuesta de T en los menores de 40 años, la LH no tuvo diferencias en su elevación, indicando que la respuesta de T, presumiblemente testicular, fue mayor en los menores de 40 años, independiente del efecto hipotalámico. Es posible que esta menor respuesta de T al letrozole esté modulada por la tendencia no significativa de mayor peso y de IMC y los mayores niveles de estradiol de los pacientes mayores.

CARACTERÍSTICAS DE UNA POBLACIÓN CON SÍNDROME METABÓLICO E HIPOGONADISMO, ASOCIACIÓN CON EDAD Y GRASA VISCERAL

R.S. Ríos^{1,2} y B. Ratkam³

¹Universidad de Chile. ²Endocrinología. Hospital San Borja Arriaran. Chile. ³Clínica Dávila. Santiago de Chile. Chile.

El síndrome metabólico (SM) se asocia a hipogonadismo, generalmente hipogonadotropo (Hg), no se sabe con certeza el mecanismo pero se piensa en efectos hipotalámicos y testiculares. Con el fin de dilucidar como la edad o la grasa visceral afectan los niveles de testosterona (T), decidimos evaluar estos parámetros en una población de varones con SM. Se evaluaron pacientes varones sin antecedentes de diabetes, que consultaron en preventivos. Se determinaron los niveles de LH, testosterona total (T), Shbg, TSH, estradiol, prolactina, perfil lipídico, insulinemia, Homa. Antropométricamente se midió: IMC, cintura, grasa visceral (Impedanciometría OMRON 500). Los exámenes hormonales se evaluaron por RIA. Se seleccionaron aquellos pacientes con criterios de síndrome metabólico según IDF. Descartando además aquellos con hipotiroidismo, hiperprolactinemia e hipogonadismo hipergonadotropo. Se estudiaron 100 pacientes. La edad promedio fue 38,47 años (19-60), el IMC fue: $33,2 \pm 4,7$ ds, el peso fue: 99 ± 16 kg, la cintura: $109,4 \pm 11$ cm, grasa visceral: $15,8 \pm 4,2\%$, masa magra: $30,8 \pm 2,64\%$. La glicemia fue: $96,4 \pm 13,2$ ng/ml, la insulina: $18,3 \pm 10,4$ Uu/ml, Homa: $4,6 \pm 3$, colesterol: 201 ± 35 mg/ml, triglicéridos: 237 ± 153 mg/ml, T

resultó en: $381,5 \pm 120$ ng/ml, 17% (17/100) de los pacientes tuvo $T < 300$ ng/ml. Al comparar la población hipogonádica (Hg) con la normal: 83% (83/100), la edad fue $37,2 \pm 11,2$ vs $43,5 \pm 13,2$ (p: 0,05), la testosterona: 414 ± 110 ng/ml vs $249,64 \pm 7,6$ (p: 0,05), la insulina: $17,51 \pm 0,3$ Uu/ml vs $21,3 \pm 19,5$ (p: 0,05), homa: $4 \pm 2,7$ vs $5,12 \pm 3,5$ (p: 0,06), grasa vis: $15,2 \pm 4\%$ vs $18,24 \pm 6,5$ (p: 0,05) masa magra: $31,82 \pm ,63\%$ vs $29,82 \pm 9,5$ (p: 0,08), peso: 981 ± 6 kg vs $103,11 \pm 6,4$ (p: 0,06), IMC: $32,84 \pm ,6$ vs $34,85 \pm (p: 0,05)$, cintura: $108,51 \pm 0,8$ cm vs $113,11 \pm 1,3$ (p: 0,05), Shbg: $26,561 \pm 1,57$ Nmól/ml vs $16,65 \pm 0,5$ (p: 0,05). La población estudiada presentó una incidencia de hipogonadismo hipogonadotropo relativamente baja, siendo los hipogonádicos significativamente mayores en edad y en indicadores de obesidad androide (grasa visceral) y con tendencia a ser más obesos según peso. Indicando que el efecto de la grasa visceral en la producción de T probablemente esté modulado por la edad de los pacientes.

ALELOS DEL GEN CFTR EN VARONES INFÉRTILES SIN EVIDENCIA CLÍNICA DE FIBROSIS QUÍSTICA: INTERÉS DE SU ESTUDIO

F. Rivera, G. Lendinez, S. Moreno, J. Leal, J. Amaya y E. Camacho

Unidad de Andrología. Servicio de Urología. Hospital Universitario de Valme. Sevilla. España.

Introducción y objetivos: La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad autosómica recesiva entre cuyas manifestaciones clínicas se incluyen problemas reproductivos. El gen de la FQ se ha denominado CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance) y la mutación más frecuentemente observada es la Δ -F508. Al existir observaciones sobre una mayor incidencia de mutaciones de dicho gen en individuos sanos con calidad y/o cantidad espermática reducidas, nos propusimos evaluar la frecuencia de la aparición de alelos en varones que consultan por infertilidad sin evidencia clínica de FQ.

Metodología: Pretendemos identificar en pacientes con azoospermia, oligozoospermia/oligoasteno-terazoospermia severa, malformaciones urogenitales o historia familiar de FQ la frecuencia de mutaciones del gen CFTR. La técnica que se utiliza es extracción de DNA de leucocitos con amplificación de exones del gen CFTR mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior estudio de mutaciones, llegando a identificar hasta el 80% de ellas.

Resultados: Examinamos un grupo de 94 varones que consultan por infertilidad o subfertilidad con las características descritas anteriormente, detectándose en 19 de ellos (20%) mutaciones correspondientes al gen CFTR, siendo la más frecuente la Δ -F508, y sobre todo en varones azoospermicos (31,8% de ellos), particularmente con azoospermia excretora (63,1%).

Conclusiones: A causa de esta frecuencia de mutaciones en el gen CFTR en este tipo de pacientes, sin evidencia clínica de FQ, se recomienda este análisis en referencia al consejo genético previo a las técnicas de reproducción humana asistida.

DETERMINACIÓN DEL GRADO DE FRAGMENTACIÓN DE DNA ESPERMÁTICO POR MEDIO DE TÉCNICA DE TUNEL CON FLUORESCENCIA FRENTE A LUZ ÓPTICA

R.N. Rolando, L. María Rodríguez, G. Rey Valzacchi y S. Gogorza

Laboratorio de Andrología. Servicio de Ginecología y Urología. Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina.

Introducción: Las roturas o lesiones en las cadenas del ADN espermático están vinculadas con una disminución del potencial reproductivo masculino. Actualmente existen varias técnicas para determinar índices de fragmentación de DNA espermático (fDNAe) para las cuales los laboratorios suelen utilizar el mismo valor de corte, sin conocerse si las distintas técnicas son comparables entre

sí. La técnica de TUNEL es de las más frecuentemente utilizadas, pudiendo la misma revelarse con fluorescencia o con luz óptica. El objetivo de este trabajo fue evaluar la fDNAe por estas dos técnicas y comparar el porcentaje de muestras patológicas utilizando el mismo criterio de corte.

Metodología: Las muestras de semen fueron obtenidas por masturbación, abstinencia sexual de 3-5 días; y analizadas según parámetros básicos de espermograma (concentración y motilidad espermática). Se procesaron por gradiente de densidad y se realizaron extendidos por duplicado para cada muestra recuperada post-capacitación, con el fin de analizarlos por el mismo observador con kit para luz óptica (TDAB) y kit para fluorescencia (TF). Se tomó como valor de corte del TUNEL 20%, siendo el frecuentemente utilizado por los laboratorios en base a la literatura.

Resultados: Se realizaron 48 determinaciones de fDNAe por ambas técnicas. Los resultados para TDAB fueron más elevados (X: 34,59, DE: 23,45) que las determinadas por TF (X: 18,13, DE: 17,57). ($p < 0,01$). Se observó que para TDAB se obtuvieron valores de TUNEL patológicos en el 71% de la población estudiada, mientras que para TF los resultados por encima del punto de corte fueron sólo en el 35% de los de los casos analizados. En 20 pacientes (42%) que tuvieron valores normales con TF fueron patológicos con TDAB.

Conclusiones: Se observa que los resultados de fDNAe por ambas técnicas son diferentes y que posiblemente los valores más elevados por TDAB se deba a una menor especificidad de la determinación. En base a esto se proponen que los laboratorios que realizan TUNEL expresen la técnica de revelado, debiendo tener diferentes puntos de corte.

EFFECTO NO GENÓMICO DE LA TIROXINA EN LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA

M. Rosales, N. Pugliese, P. Chenlo, V. Mesch y G. Mendeluk

Laboratorio de Fertilidad Masculina. Área Citología. Laboratorio de Endocrinología. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. INFIBIOC. Hospital de Clínicas "José de San Martín" Buenos Aires. Argentina.

Introducción: Las hormonas tiroideas tienen dos mecanismos de acción: el genómico a través de la unión a receptores nucleares que permiten controlar la expresión de determinados genes; y el no genómico a nivel de la membrana celular, que controla el funcionamiento de canales iónicos, receptores acoplados a proteína-G y vías de señalización que involucran proteínas quinasas. En el espermatozoide, se han descrito efectos no genómicos involucrados en el proceso de capacitación. Objetivo: evaluar el efecto no genómico de T4 en la motilidad espermática.

Metodología: Se emplearon 17 muestras de semen procesadas de acuerdo a OMS 2010, que se evaluaron antes y después de 20 y 40 minutos del agregado de 2 pg de T4 (control negativo: iguales medidas, a los mismos tiempos sin agregado de la hormona). La cinética espermática se midió mediante un sistema objetivo asistido por computadora (Sperm Class Analyzer; Microptic S.L) en cámaras Leja de 10 µm de profundidad, se capturaron un mínimo de 400 espermatozoides y se analizaron 25 imágenes digitalizadas por segundo de cada uno. Se calculó para cada espermatozoide la velocidad curvilínea (VCL), rectilínea (VSL), la promedio (VAP) y los índices de progresión: linealidad (LIN) y rectitud (STR) y en base a las velocidades y sus respectivas progresiones se clasificó a los espermatozoides en diferentes categorías, por velocidad, rectitud y linealidad en móviles progresivos, no progresivos y móviles totales. El criterio para la detección de espermatozoides hiperactivos fue $VCL > 35 \mu m s^{-1}$, ALH (amplitud lateral de la cabeza) $> 2,5 \mu m$, STR $> 85\%$.

Resultados: El porcentaje de espermatozoides hiperactivos aumentó significativamente con el agregado de T4 a los 20 minutos ($p < 0,05$) y se mantuvo a los 40 minutos, verificándose el efecto no

genómico de la hormona. No hubo diferencias significativas en el resto de los parámetros cinéticos estudiados.

Conclusiones: El presente trabajo aportaría conocimiento básico al rol de T4 en la fisiología espermática.

EL ACEITE DE OLIVA MEJORA LOS PARÁMETROS ESPERMÁTICOS Y SEMINALES ALTERADOS EN CONEJOS POR DIETAS HIPERCOLESTEROLÉMICAS

T. Sáez, P. Boarelli, M. Cid-Barria, A. Funes, A. Romero, E. Pietrobon, A. Vincenti y M. Fornés

Laboratorio de Investigaciones Andrológicas de Mendoza (LIAM). Instituto de Histología y Embriología (IHEM) e Instituto de Investigaciones de las Fs. de Medicina de la Universidad Nacional de Cuyo y Universidad de Aconcagua. Mendoza. Argentina.

La dieta grasa, que para este trabajo consiste en la adición de grasa vacuna (primer jugo bovino - denominación SENASA) al alimento balanceado para conejos, promueve en machos de raza neozelandés un incremento del colesterol sérico acompañado de cambios seminales y espermáticos. Entre los cambios seminales hemos reportado anomalías morfológicas espermáticas y disminución del número de espermatozoides en semen. En tanto que los cambios celulares (espermáticos) consistieron en: elevación del colesterol de membrana plasmática (estudiado por la detección de filipina, antibiótico específico para colesterol), disminución del porcentaje de espermatozoides reaccionados en presencia de progesterona, decremento de la capacitación espermática (demostrado por una disminución del número de bandas de proteínas fosforiladas en tiro-sina - "Western-blot"), disminución del número de espermatozoides móviles y falla en la resistencia al test hiposmótico (HOST). Si la dieta grasa se mantiene pero le asociamos aceite de oliva virgen al alimento notamos luego de 60 días una mejoría de los parámetros arriba mencionados. En trabajos recientes hemos comenzado el estudio de las proteínas reguladoras del colesterol intracelular como SREBP 1 y 2, tanto a nivel hepático como testicular de los 2 grupos de estudio con resultados indicativos de una variación de SREBP1 y 2 a nivel hepático pero no en células del túbulo seminífero en animales bajo el efecto del aceite de oliva. La infertilidad masculina y la obesidad-hipercolesterolemia son fenómenos aún sin un completo análisis, por lo que el estudio en especies de laboratorio podría arrojar novedosos enfoques de andro-patología y tratamientos.

VITRIFICACIÓN DE ESPERMATOZOIDES: UNA ALTERNATIVA A LA INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES EN PACIENTES CON OLIGOASTENOZOOSPERMIA SEVERA (CASO CLÍNICO)

R. Sánchez^{1,2}, M. Schulz^{1,2}, J. Risopatrón^{1,3}, V. Isachenko⁴ y E. Isachenko⁴

¹Centro de Biotecnología en Reproducción (BIOREN-CEBIOR):

²Departamento de Ciencias Preclínicas; ³Departamento de Ciencias Básicas. Facultad de Medicina. Universidad de La Frontera. Temuco. Chile. ⁴Departamento de Obstetricia y Ginecología. Hospital de Mujeres. Universidad de Ulm. Alemania.

Introducción: El tratamiento de elección para pacientes con oligozoospermia severa es la inyección intracitooplasmática de espermatozoides (ICSI), pero su alto costo limita su aplicación en países cuyos sistemas de salud no cubren este procedimiento médico. Por lo que habitualmente estos pacientes quedan sin terapia y solo tienen la adopción como alternativa terapéutica. La nueva técnica de vitrificación permite almacenar espermatozoides post selección espermática hasta obtener la concentración mínima para realizar

ciclos de inseminación intrauterina (IIU). Con esta metodología se han obtenido 2 embarazos, 1 en curso y 1 recién nacido vivo. La única excepción es pacientes con un alto grado de fragmentación del ADN.

Caso clínico: A) Pareja con no fertilidad de 3 años, el varón de 35 años; B) Pareja con 2 procedimientos de ICSI, un recién nacido, el varón de 32 años. Espermatozoides móviles fueron obtenidos por "swin-up", resuspendidos en medio Vitrisperm®, almacenados en pajuelas a una concentración de $0,5-1,5 \times 10^6$ células/ml, y vitrificadas en contacto directo en nitrógeno líquido. Se realizó estimulación ovárica con letrozol (Femara, Novartis, Chile), 5 mg por cinco días (3-7 días del ciclo). Al obtener un folículo de 20 mm se administró 5.000 UI de hCG (Gonacor, Ferring, Chile) y después de 36 horas se realizó la IIU. Las muestras post desvitrificación utilizadas para la IIU presentaron una concentración de $3,0 \times 10^6$ espermatozoides/ml, motilidad mayor de 60% y fragmentación del ADN menor del 10%. La evolución de un desarrollo fetal normal fue confirmada y controlada por ecografía 3D.

Conclusiones: Se reportan los primeros 2 embarazos, 1 evolucionando y un recién nacido vivo, con espermatozoides vitrificados y utilizados en IIU. Las técnicas de vitrificación sin el uso de crioprotectores permeables efectivamente preservan la función espermática y abre la posibilidad de almacenar espermatozoides motiles siendo una alternativa terapéutica para pacientes oligoasthenozoospermicos severos.

MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA: ESTUDIO DE LAS VARIACIONES INTER E INTRAOPERADOR

M. Sardi Segovia, J. Ariagno, H. Repetto, N. Pugliese, P. Chenlo, G. Mendeluk y S. Curi

Laboratorio de Fertilidad Masculina. Área Citología. Departamento de Bioquímica Clínica. Hospital de Clínicas. (INFIBIOC). Buenos Aires. Argentina.

Introducción: El análisis de las encuestas del Programa de Evaluación Externa de Calidad (PEEC), permite inferir que los errores en la morfología difieren del desempeño de calidad deseable.

Objetivos: Determinar las causas de la insuficiente reproducibilidad entre e interoperador en la clasificación morfológica.

Metodología: Se utilizaron 124 fotografías de OMS'2010, repetidas hasta alcanzar un total de 150, reenumeradas al azar y enviadas a operadores expertos (OE). En una encuesta del PEEC se envió a participantes del programa (PP) una muestra con 100 espermatozoides numerados. Los OE (n = 18) y PP (n = 30) debieron completar una planilla clasificando a los espermatozoides como normales o anormales. Se estimó el Grado de concordancia (GCo) como el N° de OE que coincidían con la clasificación de OMS o N° de PP con equivalente categorización/N° total de participantes $\times 100$. Se consideró alta concordancia (ACo) si el % era $> 80\%$, moderada (MCo) entre 60 y 79% y baja (BCo) $< 60\%$. El grado de concordancia intraoperador (GCI) se calculó como el N° de fotografías repetidas que cada operador coincidió en su evaluación/N° total de fotografías repetidas $\times 100$.

Resultados: Los OE mostraron 66% de ACo en donde el 82% de espermatozoides (EZ) eran anormales, 27% de MCo y 7% de BCo, en estos dos últimos grupos predominaban los EZ con defectos mínimos y los EZ normales. Con los PP se obtuvieron resultados similares, ACo (60%), MCo (30%) y BCo (10%) manteniéndose la característica de que los EZ en que se obtenía menor concordancia presentaban anomalías menores. El GCI promedio fue de 81% en el 72,2% de los operadores, y disminuyó al 65,0% en el 27,8% restante. Sólo se obtuvo 100% de GCI en 2 espermatozoides anormales. En los normales y ligeramente anormales, las concordancias fueron variadas.

Conclusiones: El criterio vigente que considera a los defectos mínimos como anormales compromete la reproducibilidad entre e intraoperador.

ALTERACIONES EN LA EXPRESIÓN DE LAS MOLÉCULAS DE LAS UNIONES INTERCELULARES DE CÉLULAS DE SERTOLI INDUCIDAS POR LA ACCIÓN *IN VITRO* DEL MONO-(2-ETILHEXIL) FTALATO (MEHP): PAPEL DEL GLUTATIÓN

C. Sobarzo¹, R. Nogueira de Moraes², L. Lustig¹, B. Denduchis¹ y H. Schteingart²

¹Instituto de Investigaciones en Reproducción. Facultad de Medicina UBA. Argentina. ²Centro de Investigaciones Endocrinológicas (CEDIE). Hospital de Niños R. Gutiérrez. Buenos Aires. Argentina.

Se ha descrito que el metabolito activo del di-(2-etilhexil) ftalato, el MEHP, es un tóxico que induce estrés oxidativo y atrofia testicular. El objetivo de este trabajo es estudiar, en cultivos de células de Sertoli (CS), el efecto del MEHP sobre la integridad de las uniones intercelulares y la participación del glutatión (GSH) en el daño por estrés oxidativo. Se aislaron CS de ratas de 20 días de edad y se cultivaron por 5 días en medio químicamente definido bajo estimulación (E) o no (C) con MEHP (200 μ M) durante las últimas 24 horas. Los niveles de GSH intracelular total se determinaron por un método espectrofotométrico. Los datos se expresan como% del basal, media \pm DS, n = 6 (basal: $344,7 \pm 21,8$ pmolGSH/ μ gDNA). El MEHP disminuyó significativamente los niveles de GSH intracelular a un valor de $24 \pm 5^*$ vs el basal (*p < 0,01). Por inmunofluorescencia (IF) y "Western blot" (Wb) se determinó la localización y expresión de las proteínas de las uniones adherentes: N-cadherina (N-cad) y α y β -cateninas; estrechas: ocludina, claudina-11 y "zonula occludens" (ZO-1) y de las nexos: Conexina-43 (Cx-43). Observamos un patrón lineal de IF localizado en las uniones inter-Sertoli, tanto en los C como en los E. Sin embargo, observamos para N-cad, α -catenina y ZO-1 una deslocalización de la señal desde las zonas de contacto entre las células hacia el citoplasma en los E comparados a los C. Por Wb detectamos un aumento en la expresión de N-cad, α -catenina y ZO-1, y una disminución significativa de Cx-43 en los E respecto de los C. No se detectaron variaciones en la expresión de claudina-11 y ocludina. En base a nuestros resultados y a los obtenidos en otros modelos sugerimos que MEHP induce estrés oxidativo, evidenciado por los niveles disminuidos de GSH, generando alteraciones en las moléculas de las uniones adherentes y nexos, y no modificando la expresión de las moléculas de las uniones estrechas.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD ÓSEA Y HORMONAS SEXUALES EN UN GRUPO DE VARONES DE DISTINTAS EDADES

J.G. Stewart Usher, J.A. Villemur y A.M. Viola

Centro Médico Castelar. Buenos Aires. Argentina. Laboratorio Viola. Castelar. Buenos Aires. Argentina.

Se considera la osteoporosis como un problema del sexo femenino, sin embargo la prevalencia de osteopenia (OPE) en hombres mayores de 50 años es de $\pm 37\%$, mientras que la de osteoporosis (OPO) es de $\pm 6\%$. El objetivo de este estudio es evaluar la calidad ósea en un grupo de varones de diferentes edades y relacionarlos con los valores de testosterona total (TT), SHBG, estradiol (E2) y testosterona biodisponible calculada (C-TBio). Fueron excluidos aquellos que consultaban por síntomas de hipogonadismo, osteopatías o estaban medicados con hormonas o corticoides. La densidad

mineral ósea (DMO) se midió por DXA. Los resultados del T-score de raquis (RL) y cuello femoral (CF) fueron evaluados de acuerdo a la OMS. Se midió testosterona total (TT) por EQL, con un valor de corte de 280 ng/dl, SHBG por EQL y E2 por EQL. Estudiamos 115 hombres entre 40 y 83 años, con un promedio de edad de 60,9 años, peso promedio de 89,4 Kg. \pm 12,7 Kg y un IMC de 28,78 \pm 6,4. De ellos 35 (30,4%) presentaron OPE en RL y 55 (47,8%) en CF, y 10 con OPO en RL (8,7%), y 9 (7,8%) en CF. Se detectó TT baja en 15/115 pacientes (13%), y C-TBio baja en 8/115 (6,9%). No encontramos valores de E2 bajos. Los valores de SHBG se incrementaron con la edad. Los valores normales o bajos de TT, E2, SHBG no se correlacionaron con los valores de DMO. En concordancia con la literatura nuestros resultados nos hacen concluir que tanto la OPE como la OPO masculina son francamente subdiagnosticadas. No hallamos correlación con los valores de hormonas sexuales, pero el hallazgo de valores bajos de TT en 13% y C-TBio en 6,9% de estos varones sin sintomatología de hipogonadismo nos indica también el subdiagnóstico de esta patología.

ESTUDIO DE PREVALENCIA Y CAUSAS SECUNDARIAS DE OSTEOPOROSIS MASCULINA

S. Suárez¹, P.R. Costanzo¹, L. Lapides², A.M. Galich¹, A. de Benito¹, K. Garay¹ y P. Knoblovits¹

¹Servicio de Endocrinología. Metabolismo y Medicina Nuclear. Hospital Italiano de Buenos Aires. Argentina. ²Centro de Urología (CDU). Buenos Aires. Argentina.

Introducción: La osteoporosis (OP) se caracteriza por disminución de la masa ósea y mayor riesgo de fractura. La tasa de mortalidad por fractura vertebral o de cadera es mayor en hombres.

Objetivos: 1) Establecer la prevalencia de OP y osteopenia (OPE) en hombres > 50 años por densitometría ósea (DMO) según criterios OMS; 2) Evaluar factores de riesgo para OPE/OP en la población seleccionada.

Metodología: Estudio transversal. Se reclutaron 150 hombres con una técnica de muestreo consecutiva entre aquellos que consultaron en endocrinología/andrología por motivos distintos a sospecha de baja masa ósea, sin enfermedades o medicación que afecten la DMO. Se midió DMO de columna lumbar (CL), cuello femoral (CF) y cadera total (CT). Se analizaron datos antropométricos y laboratorio específico.

Resultados: De los 150 pacientes, 85 (56,7%) tuvieron OPE/OP en alguna localización: OPE 71 (47,3%) y OP 14 (9,3%). Motivos de consulta más frecuentes: disfunción eréctil, hiperglucemia y evaluación tiroidea. Al comparar pacientes con DMO normal (grupo N) vs pacientes con OPE/OP se halló diferencia significativa en peso: 84,8 \pm 11,3 vs 81,3 \pm 9,8 kg ($p = 0,044$) y testosterona biodisponible (TB): 1,7 \pm 0,8 vs 1,4 \pm 0,9 ($p = 0,03$), respectivamente. Los pacientes con OP tuvieron menor índice de masa corporal versus pacientes con OPE: 26,0 \pm 3,0 vs 28,2 \pm 3,2 kg/m² ($p = 0,02$) y vs grupo N: 26,0 \pm 3,0 vs 28,4 \pm 3,4 kg/m² ($p = 0,01$). Se evaluaron factores de riesgo: antecedentes familiares o personales de fractura, tabaquismo, hiperparatiroidismo, hipovitaminosis D, hipercalcemia e hipogonadismo; 12/13 (92,3%) pacientes con OP tuvieron al menos uno y 9/12 (75%) tuvieron más de un factor; 34/53 (64,1%) pacientes con OPE tuvieron al menos uno ($p = 0,04$ vs pacientes con OP) y 8/34 (23,5%) tuvieron más de un factor. Se encontraron correlaciones positivas entre DMO-CL con peso ($r: 0,17$, $p = 0,03$), edad ($r: 0,24$, $p = 0,005$) y estradiol ($r: 0,26$, $p = 0,03$); DMO-CF y DMO-CT con peso ($r: 0,24$, $p = 0,004$ y $r: 0,23$, $p = 0,005$, respectivamente), IMC ($r: 0,18$, $p = 0,02$ y $r: 0,25$, $p = 0,003$, respectivamente) y TB ($r: 0,18$, $p = 0,04$ y $r: 0,20$, $p = 0,03$, respectivamente).

Conclusiones: En hombres, la OPE/OP es una enfermedad prevalente que frecuentemente se asocia a factores secundarios que deben investigarse.

COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS SEMINALES RECOLECTADOS EN LA CASA DEL PACIENTE Y EN EL LABORATORIO

A. Tissera¹, G. Molina², R. Molina¹ y J. Olmedo³

¹Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR). Córdoba. Argentina. ²Cirugía UHN 4. Cátedra Facultad de Ciencias Médicas UNC. Argentina. ³Fundación Urológica de Córdoba para la Docencia e Investigación Médica (FUCDIM). Córdoba. Argentina.

Introducción: El estudio del semen es la piedra angular para el diagnóstico de la infertilidad masculina. Sin embargo el contexto en el que una muestra de semen es obtenida es también muy importante. Algunos trabajos han investigado el efecto del lugar de la recolección de las muestras de semen con resultados controvertidos.

Objetivos: Investigar el efecto del lugar de la recolección de semen por masturbación en el Laboratorio (L) vs en la Casa (C) en un grupo de pacientes que consulta por fertilidad.

Metodología: Se analizaron un total de 770 pacientes, 465 recolectaron las muestras en su casa y 305 en el LAR. Los parámetros seminales fueron evaluados según OMS 2010. Estadística: para el análisis estadístico se utilizó el test no paramétrico de Mann Whitney para comparación de grupos independientes. Una $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativa. Diseño: trabajo retrospectivo.

Resultados: Se observó un volumen menor en las muestras de C que las obtenidas en el L (2,9 ml vs 3,2 ml; $p = 0,048$). El porcentaje de traslaticos rápidos fue mayor en las muestras obtenidas en el L que las obtenidas en la C (37% vs 35%; $p = 0,04$), y la concentración de leucocitos fue mayor en el L que en C (0,3 vs 0,14 cél/ml; $p = 0,0001$).

Conclusiones: En base a los resultados obtenidos, no encontramos, en relación a otros trabajos, una mejoría en los parámetros seminales cuando se obtienen las muestras en el domicilio del paciente. Resaltando la importancia de cumplir adecuadamente las precauciones necesaria para la toma y traslado de la muestra cuando ésta se obtiene en la casa.

PEROXINITRITO PROVOCA DISMINUCIÓN DE LA MOTILIDAD Y CAÍDA DEL POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS

P. Uribe^{1,3}, F. Treulén^{1,3}, R. Boguen^{1,3}, R. Sánchez¹ y J. Villegas^{1,2}

¹Centro de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN).

²Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina.

³Programa de Doctorado en Ciencias Mención Biología Celular y Molecular Aplicada. Universidad de La Frontera. Temuco. Chile.

Como causa principal de alteración de la función espermática se ha propuesto al daño oxidativo inducido por especies reactivas de oxígeno. Asimismo, se ha demostrado que espermatozoides humanos producen óxido nítrico (NO), que en concentraciones fisiológicas influye en la motilidad, capacitación y reacción de acrosoma; sin embargo, su producción excesiva también puede contribuir al daño oxidativo, principalmente por su reacción con radical superóxido generando peroxinitrito (ONOO⁻). Peroxinitrito es un radical libre altamente reactivo que genera oxidación y/o nitración de proteínas, DNA y fosfolípidos. Pacientes infértiles presentan niveles aumentados de ONOO⁻, NO y sintasa de óxido nítrico en el semen, lo que se ha relacionado con disminución de la motilidad y daño al DNA espermático. En estos casos se ha propuesto que la formación de ONOO⁻ contribuiría a la infertilidad, sin embargo, hasta ahora no se ha demostrado su efecto directo sobre la funcionalidad espermática. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de ONOO⁻ sobre la viabilidad, motilidad, potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$) e integridad del DNA de espermatozoides humanos. Esperma-

tozoides de donantes con espermiograma normal fueron expuestos a 3-morpholinosydnonimine (SIN-1), molécula generadora de peroxinitrito. Se analizó la motilidad espermática mediante ISAS (Integrated sperm analysis system), la viabilidad mediante tinción con iodo de propidio, el estado del $\Delta\psi_m$ mediante la tinción JC-1 y la fragmentación del DNA mediante la técnica de TUNEL. Todas las mediciones se realizaron en citómetro de flujo FACSCanto II (Becton Dickinson) y los datos fueron analizados con el software Summit 4.3. La exposición a SIN-1 provocó disminución de la motilidad espermática y del $\Delta\psi_m$, manteniéndose inalterada la viabilidad. Durante los tiempos de incubación y las concentraciones utilizadas no se observó aumento en el porcentaje de espermatozoides con el DNA fragmentado. En conclusión, peroxinitrito ocasiona disminución de la motilidad espermática y del $\Delta\psi_m$.

EFFECTO DEL EXTRACTO PROTEICO DE *BOTRYOCOCCUS BRAUNII* EN LA PRODUCCIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO EXTRACELULAR Y PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

F. Zambrano, C. Figueroa, F. Romero y P. Navarrete

Centro de Neurociencias y Péptidos Biológicos. CEBIOR. BIOREN. Universidad de La Frontera. Chile.

Introducción: *Botryococcus braunii* es una microalga verde colonial que obtiene gran importancia biotecnológica al ser capaz de producir grandes cantidades de hidrocarburos, además el extracto ha demostrado ser eficaz para proteger los sistemas biológicos en contra del estrés oxidativo *in vitro*, existen estudios que han logra-

do demostrar actividad antioxidante en hígado, cerebro y riñón de ratas.

Objetivos: En este estudio se pretende caracterizar el extracto proteico de *Botryococcus braunii* para evaluar su efecto sobre espermatozoides de toro sobre especies reactivas de oxígeno extracelular y peroxidación lipídica.

Metodología: Los espermatozoides seleccionados mediante swin up fueron incubados por 4 horas con diferentes concentraciones del extracto proteico de *Botryococcus braunii* obtenido a pH 10 y 4 y teñidos con sondas BODIPY C11 y luminol, su efecto se evaluó mediante citometría de flujo y luminómetro respectivamente.

Resultados: El análisis mostró que las concentraciones 0,05, 0,1, 0,3, 0,5 y 1 ug/ml del extracto proteico de *Botryococcus braunii* obtenido a pH 4 tiende a disminuir el ROS extracelular, a pH 10 no hay cambios en este índice. El extracto proteico de *Botryococcus braunii* a pH 4 produce disminución de la peroxidación lipídica a una concentración de 0,5 ug/ml, mientras que a pH 10 no se encontraron cambios significativos.

Conclusiones: Los hallazgos de este estudio muestran que las distintas concentraciones del extracto proteico de *B. braunii* obtenido a pH 4 tiene propiedades antioxidantes en nuestro modelo, sobre la peroxidación lipídica sólo la concentración de 0,5 ug/ml redujo este índice.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Mónica Vazquez-Levin, Directora de REVISTA ARGENTINA DE ANDROLOGÍA, cuyo trabajo, con tesón y constancia, ha sido fundamental en la consecución de estos resúmenes.