



XIII Congreso Argentino de Medicina Reproductiva - SAMeR 2009

Organizado por la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR)
Afiliada a la: *International Federation of Fertility Societies (IFFS)*

Resúmenes de Trabajos Seleccionados

ALTERACIÓN SEMINAL POR HÁBITOS TÓXICOS: ALCOHOL Y TABACO, EN PACIENTES CON VARICOCELE

ALLENDE PINTO BENJAMÍN,¹ LOPEZ SEOANE MANUEL,² BARROS NORES JULIO,¹ TISSERA ANDREA,³ JUANEDA RICARDO,¹ MOLINA ROSA³

¹ Servicio de Ginecología Sanatorio Allende- Córdoba.

² Servicio de Urología Sanatorio Allende- Córdoba.

³ Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR).

Info@lablar.com Te/Fax: (0351) 468-2562 469-1986

INTRODUCCIÓN: es conocido el impacto negativo del varicocele sobre los parámetros seminales. Hábitos tóxicos como alcohol y tabaco, además de ser perjudiciales para la salud en general, afectan la espermatogénesis.

OBJETIVO: evaluar el efecto sinérgico de hábitos tóxicos (tabaco y alcohol) con varicocele en relación a parámetros seminales.

DISEÑO: estudio retrospectivo

MATERIALES Y MÉTODOS: se analizaron 3027 pacientes con varicocele que asistieron al Laboratorio de Andrología para evaluar los parámetros seminales. De acuerdo a la encuesta realizada los pacientes se agruparon: Grupo 1: Varicoceles sin hábitos tóxicos (n=2.490), Grupo 2: Varicoceles fumadores (n=250); Grupo 3: Varicoceles que consumen alcohol (n=195) y Grupo 4: Varicoceles que fuman y toman (n=92). Los parámetros seminales se evaluaron de acuerdo OMS 1999 y morfología de criterio estricto (CE), Kruger 1986. Los datos fueron ajustados para abstinencia 3.73 ± 1.36 días y edad 30.44 ± 7.12 años.

Los efectos de los factores estudiados (varicocele y hábitos tóxicos) fueron probados utilizando análisis de Covarianza (AnCova) y se realizaron comparaciones múltiples de Bonferroni. Un valor de p<0.05 se consideró estadísticamente significativa.

RESULTADOS: al comparar el Grupo 1 con los Grupos 2,3,4 (con hábitos tóxicos); se encontró una disminución significativa en la concentración (42.89, 38.87, 36.53 y 36.81 x 10⁶ millones de espermatozoides /ml respectivamente; p=0,012); morfología (CE) (6.44%, 5.24% 5.4% y 5.24% respectivamente; p=0,036) y movilidad espermática (44.79%,44.46%, 44.07% y 43.36% respectivamente; p=0,049).

Si bien se observó en algunas variables seminales el efecto deletéreo del varicocele y alcohol, así como del varicocele y tabaco; si los analizamos por separado en ninguno de los dos casos los efectos se sinergian o potencian.

No se encontraron efectos de los hábitos tóxicos sobre el Volumen, Morfología (OMS), Test hiposmótico ni Madurez nuclear entre los grupos (p>0.05).

CONCLUSIÓN: de acuerdo a nuestros resultados podemos inferir que hábitos tóxicos como tabaco y alcohol en pacientes con varicocele afectan los parámetros seminales. No encontramos evidencias de que ambos factores tóxicos en conjunto ejerzan un efecto sinérgico con el varicocele sobre dichos parámetros.

MICROSCOPIA CONFOCAL DE LOS MICROTUBULOS Y FRAGMENTACIÓN DEL ADN EN FALLA DE FERTILIZACIÓN LUEGO DE ICSI

CRISTIAN ALVAREZ SEDÓ, CLAUDIO CHILLIK, MARIANO LAVOLPE, FELICITAS NOBLÍA, HÉCTOR CHEMES, VANESA Y RAWE

OBJETIVO: visualizar la organización de los microtúbulos y fragmentación del ADN del oocito y espermatozoides inyectados en fallas de fertilización luego de ICSI y utilizar esta herramienta para la exploración de la patología de las gametas involucradas.

DISEÑO: comunicación de un caso.

Materiales y Métodos: pareja con infertilidad primaria, ella: 30 años con perfil hormonal normal (7,5 UI/ml FSH y 51pg/ml E2 en día 3) y ciclos regulares. El: 27 años, con varicocele bilateral operado, y Astenoteratozoospermia (Movilidad total: 17% e índice de morfología (%Kruger): 3% con 93% de alteraciones de cabeza. La pareja fue sometida a ICSI con alta magnificación luego de un estímulo con dosis de gonadotropinas y análogos de GnRH habituales para normo-responderas. Al momento de la captación oocitaria se obtuvieron 9 oocitos en metafase II, de los cuales fecundaron normalmente 3 (33% tasa de fertilización). La calidad embrionaria fue pobre y no hubo embarazo. El resto del material (seis no fecundados) fue remitido para estudio por microscopía confocal e inmunofluorescencia. Se realizó estudio de la Fragmentación del ADN (TUNEL) y de-

tección de α - β tubulinas. La muestra de semen fue remitida a evaluación por microscopía electrónica (ME) y detección de fragmentación del ADN espermático (TUNEL) acoplado a la detección de caspasa-3 activa.

RESULTADOS: de las fallas de fecundación estudiadas (6xOPN) se observó una falta de activación oocitaria en 4 de los 6 cigotos (66,6%). La fragmentación del ADN espermático estuvo presente en 5 de los 6 (83,3%). La placa metafásica del oocito no presentó fragmentación del ADN en ninguno de los casos. En la muestra de semen remitida para estudio, la fragmentación del ADN fue normal (8%) y el porcentaje de caspasa-3 activa fue elevado (20%) (Valor esperado: 6±5,5%). La microscopía electrónica mostró alteraciones en la compactación de la cromatina en un 61% de las cabezas estudiadas.

CONCLUSIÓN: el estudio de fallas de fecundación en casos de teratozoospermia severa puede servir para visualizar los orígenes del problema y sugerir sobre un estudio más profundo de la muestra en cuestión. De manera sorpresiva, la muestra de espermatozoides presentaba niveles normales de fragmentación del ADN pero elevados valores de caspasa 3 activa lo cual es indicativo de un gatillado de la apoptosis celular. Este evento asociado a una compactación de la cromatina defectuosa tiene mal pronóstico reproductivo.

NIVELES DE FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO Y MARCADORES DE APOPTOSIS EN PACIENTES CON TERATOZOOSPERMIA SEVERA

CRISTIAN ALVAREZ, HEYDY URIONDO, GUSTAVO ALVAREZ, SUSANA KOPELMAN, VANESA Y RAWE

OBJETIVO: evaluar los niveles de fragmentación del ADN espermático y eventos de apoptosis tardía a través de la caspasa-3 activa en pacientes con teratozoospermia severa.

DISEÑO: estudio retrospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: sesenta y ocho pacientes con factor masculino fueron evaluados para la detección de niveles de fragmentación del ADN espermático y caspasa-3 activa. Los mismos fueron agrupados según el criterio estricto de morfología de Tygerberg en los siguientes grupos: K≤4% (GRUPO I), K ≥ 5% y ≤13% (GRUPO II) y K ≥14% (GRUPO III). A su vez, se estudió el impacto de la edad en la misma población, considerándose a pacientes ≤35 años, entre 35- 40 años y aquellos >40 años. Los estudios de fragmentación del ADN espermático se realizaron por la técnica de TUNEL y la detección de la caspasa-3 activa por inmunocitoquímica en la misma muestra. Se contaron 500 espermatozoides bajo microscopía de epifluorescencia. El estadístico fue el análisis de varianza (ANOVA).

RESULTADOS: en los GRUPOS I, II y III los valores promedio de fragmentación del ADN fueron del 16%, 9% y 6% respectivamente (NS). Los valores de fragmentación del ADN por grupo etario fueron del 9% (≤35 años), 10% (35-40 años) y 18% (>40 años) valores estadísticamente significativos (p<0.02). El aumento de la fragmentación del ADN con la edad se verifica sólo en pacientes con teratozoospermia severa (Grupo I) con una fragmentación del 26% en pacientes >40 años, 12% (35-40 años) y 8% (≤35 años), p<0.01. Los valores de caspasa 3 activa no mostraron diferencias significativas con la edad.

CONCLUSIÓN: en la población estudiada, no hay diferencias en la fragmentación del ADN espermático en grupos con diferente morfología espermática. En los casos con teratozoospermia severa (K≤4%), los daños en la estructura del ADN espermático se incrementan a niveles patológicos sólo en el grupo de >40 años.

CRIO-PRESERVACIÓN DE TEJIDO OVÁRICO ASOCIADO A PUNCIÓN DE OVOCITOS INMADUROS, SEGUIDO DE MADURACIÓN IN VITRO Y VITRIFICACIÓN: UNA TÉCNICA ADICIONAL PARA PRESERVAR LA FERTILIDAD (CASE REPORT)

AUGÉ LUIS; SABATINI LUCIANO; DOTTO M; YOUNG EDGARDO (H); GUIDOBONO MERCEDES; VALCARCEL ALBERTO.

IFER (Instituto de Ginecología y Fertilidad) Buenos Aires.

OBJETIVO: Reportar una estrategia adicional para preservar la fertilidad en la cual se combina la crío-preservación de tejido ovárico junto con la punción de ovocitos inmaduros, su maduración in Vitro y posterior vitrificación.

DISEÑO: case report.

LUGAR: IFER.

CASO: paciente de 36 años de edad que se encuentra cursando 11 semanas de su primer embarazo, espontáneo, a la cual se le diagnostica una lesión nodular en mama derecha de 3.5 cm, la cual se constataba en estudios mamográficos y ecográficos, la axila era negativa al exámen físico. A la paciente se le realiza una mastectomía radical modificada en la semana 13 de su embarazo, cuya anatomía patológica informó carcinoma ductal invasor de 3 cm, no comprometía piel, y con 15 ganglios negativos. Se le realizó además inmuno-histoquímica para estrógeno y progesterona la cual fue positiva en ambos casos y un Her 2 neu también positivo. Estadio IIb. La paciente decide consultar para preservar su fertilidad antes de iniciar su ciclo de quimioterapia, por lo que se decide indicar una cesárea programada a las 38 semanas con criopreservación de tejido ovárico en el mismo procedimiento quirúrgico. Durante el procedimiento quirúrgico se obtiene de ovario derecho una biopsia de 2x2x1 cm y del izquierdo una de 1x1x0.5 cm, a los cuales en el laboratorio y antes de ser criopreservados, se les realiza una punción de sus folículos visibles con una aguja de 25G y una jeringa de 1ml obteniendo un total de 5 ovocito en estadio de vesícula germinal (VG). Las VG fueron incubadas en un medio de maduración ovocitaria, compuesto por G-IVF PLUS (Vitrolife, Kungsbacka, Suecia) suplementado con suero sintético (SERUM Substitute Supplement, Irving Scientific, Santa Ana, CA, EEUU), junto con 75 UI/ml de LH y 50 UI/ML de FSH. Las condiciones estándares fueron 37°C y 6% de CO2 durante 24 hs, y posteriormente evaluando su madurez. De las 5 VG se obtuvieron 2 ovocitos MII y 1 MI, los cuales fueron vitrificados con el método de Cryotop (Kitazato BioPharma Co, Shizuoka, Japón).

CONCLUSIÓN: los ovocitos pueden ser capturados en estadios inmaduros a partir de una biopsia de tejido ovárico, madurarlos in Vitro y vitrificarlos. Esta técnica de preservación de la fertilidad puede combinarse con la criopreservación de tejido ovárico, dándole una nueva opción sobre todo a aquellas pacientes a las que no se les puede realizar un estímulo hormonal.

PRIMEROS EMBARAZOS A PARTIR DE OVULOS VITRIFICADOS EN LA ARGENTINA (CASE REPORT)

AUGÉ LUIS, SABATINI LUCIANO, TIVERON MARISA, YOUNG EDGARDO Y VALCARCEL ALBERTO

IFER (Instituto de Ginecología y Fertilidad) Buenos Aires.

OBJETIVO: describir uno de los primeros casos de embarazo a partir de óvulos vitrificados, en la Argentina.

CASO CLÍNICO: paciente de 35 años de edad, que consulta a nuestro instituto por esterilidad primaria de 2 años de evolución. La paciente adjuntaba Histerosalpingografía y perfil hormonal de características conservadas y un espermograma con oligo-astenospermia moderada. Se realizó una laparoscopia diagnóstica donde se constató la presencia de una endometriosis peritoneal y ovárica superficial estadio II. Posteriormente la paciente realizó 3 ciclos de inseminaciones uterinas sin conseguir embarazo.

En agosto del 2008 realiza una Fertilización in Vitro, utilizando un esquema flare up con análogos agonistas de la GnRh (triptorelina) utilizando además FSH recombinante en dosis de 175 UI/día los primeros 3 días y luego HMG en dosis de 150 UI/días hasta el día de la punción. Durante la punción se obtuvo un total de 17 ovocitos (13 MII y 4 MI). Se pusieron a fertilizar 4 ovocitos y se vitrifican 9 ovulos utilizando el método de CRYOTOP (Kitazato BioPharma Co, Shizuoka, Japón). Se realizó la transferencia en fresco de 3 embriones (2 embriones clase III y 1 embrión clase II), sin conseguir embarazo. En noviembre se decide realizar la desvitrificación de óvulos, para ello a la paciente se le preparó el endometrio con 17 beta estradiol 6 mg/día durante 12 días hasta alcanzar un espesor endometrial de 8 mm. Se procedió a desvitrificar 6 ovocitos MII de los cuales se recuperaron los 6 pero 3 se necrosaron. Se fertilizaron los 3 óvulos restantes evolucionando solo 2 embriones que fueron los transferidos (1 clase III y 1 clase II). El soporte de la fase lútea se completó con la misma dosis de estradiol más 600 mg/día de progesterona micronizada. Se obtuvo un embarazo único y evolutivo acualmente en la quinta semana.

CONCLUSIONES: esta nueva metodología descripta abre un enorme campo en la práctica clínica, ya que abarca diferentes tipos de indicaciones tales como: preservación de la fertilidad de causa fisiológica como así también patológica, para FIV convencional donde se preservan óvulos en lugar de embriones, etc. Creemos que la experiencia lograda en el delicado

proceso de vitrificación y desvitrificación, con un elevado porcentaje de sobrevivencia y fertilización ovular, son la base para el logro de estos resultados. La aparición de esta técnica nos resulta muy importante además para todas aquellas parejas que no desean preservar embriones debido a condicionamientos éticos, religiosos, sociales y legales.

LA EVALUACIÓN SIMULTANEA DE FRAGMENTACIÓN DE ADN EN ESPERMATOZOIDES DE FORMA NORMAL PERMITE PREDECIR LA CALIDAD EMBRIONARIA EN PACIENTES DE ICSI

Avendaño Conrado, Franchi Anahí, Oehninger Sergio

The Jones Institute for Reproductive Medicine. Norfolk, Virginia, USA

Objetivos. Evaluar simultáneamente, en la misma célula, morfología y fragmentación de ADN espermático en una alícuota de la muestra utilizada para ICSI. Evaluar los espermatozoides con aparente morfología normal, ya que éstas son las células con más probabilidades de ser seleccionadas en el momento de la inyección del ovocito. Correlacionar el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales con ADN fragmentado con la calidad y el desarrollo embrionario.

Diseño. Estudio prospectivo de 48 muestras de semen.

Materiales y métodos. Las muestras de semen fueron separadas por swim-up y los parámetros seminales fueron evaluados. Una fracción de la muestra utilizada para ICSI fue separada para la evaluación de fragmentación del ADN espermático (ensayo de TUNEL) y morfología (criterio estricto por contraste de fase) en la misma célula. La calidad de los embriones (clivaje y morfología) fue evaluada a las 48 horas y el día de la transferencia (72 horas post inyección). El valor de la calidad embrionaria individual fue calculado multiplicando el número de blastómeros por el grado de morfología. El valor acumulativo fue calculado como la sumatoria de los valores individuales dividida por el número de embriones. Los parámetros de los pacientes que embarazaron y no embarazaron fueron comparados usando el test de Mann-Whitney. Para los análisis de correlación se utilizó el test de Spearman.

Resultados. No hubo diferencia estadísticamente significativa en la edad de las mujeres y hombres entre los pacientes que embarazaron y no embarazaron ($p > 0.05$). Ninguna correlación fue observada entre la edad de los pacientes y los parámetros analizados en éste estudio. El porcentaje de espermatozoides totales (normales y anormales) con TUNEL positivo no mostro correlación con ninguno de los parámetros evaluados. Una leve correlación negativa fue hallada entre el porcentaje de espermatozoides normales con fragmentación de ADN y el índice de fertilización ($r = -0.287$, $p = 0.048$). Sin embargo, cuando dicho parámetro se comparó con el clivaje embrionario y con la calidad de los embriones en día 3 una clara correlación negativa fue encontrada ($r = -0.419$, $p = 0.03$ y $r = -0.463$, $p = 0.01$ respectivamente).

Conclusión. Los resultados demuestran una asociación estadísticamente significativa entre el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales con ADN fragmentado y una pobre calidad embrionaria. Aunque no es posible determinar la integridad del ADN en los espermatozoides que serán inyectados durante el procedimiento de ICSI, dicha evaluación en espermatozoides morfológicamente normales es aparentemente la aproximación más cercana para reflejar calidad y desarrollo embrionario. Esta nueva forma de evaluación simultánea puede ser usada como una metodología más fidedigna en la predicción de los resultados de ICSI.

IMSI: UNA NUEVA ALTERNATIVA EN EL TRATAMIENTO DE LA PATOLOGÍA ESPERMÁTICA SEVERA

BRANZINI CONSTANZA, IMBRIANO LEONARDO, GLUJOVSKY DEMIÁN, LAVOLPE MARIANO, PAPIER SERGIO, NODAR FLORENCIA

OBJETIVO: la morfología anormal espermática se asocia a peores resultados reproductivos. La aparición de la técnica IMSI (inyección intracitoplasmática de espermatozoides morfológicamente seleccionados) abre esperanzas a pacientes con patología espermática severa, debido a la selección de espermatozoides utilizando microscopia de alta magnificación ($>7000X$). El objetivo de este estudio es evaluar los resultados preeliminados en pacientes con patología espermática severa en los que se llevó a cabo IMSI.

DISEÑO: estudio de cohorte retrospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: se evaluaron todos los ciclos de IMSI realizados entre Noviembre 2007 y Septiembre 2008 en nuestra institución, en pacientes con patología espermática severa (Kruger $\leq 4\%$). Se llevaron a cabo 38 procedimientos IMSI, de los cuales 8 casos fueron con ovocitos donados (OD). De los 30 restantes, un grupo de 7 pacientes presentaban alteraciones en la compactación cromatínica severas (ACCS) ($>60\%$ de los espermatozoides estudiados), diagnosticados mediante microscopía electrónica. Como grupo control, se utilizó un grupo de pacientes con Kruger $\leq 4\%$, a los que se le realizó ICSI, durante el mismo período de tiempo. Se utilizó chi cuadrado para variables categóricas y t-test para aquellas que son continuas.

RESULTADOS:

	ICSI K $\leq 4\%$	IMSI K $\leq 4\%$	IMSI-OD K $\leq 4\%$	IMSI/ACCS
Nº de casos	75	30	8	7
Edad de la mujer (años)	34,6	35,7	26,6 (donante)	35,8
Tasa de fertilización	64,41%	49,07%	61,11%	70,83%
Tasa de implantación	13,64%	13,46%	42,86%	18,18%
Tasa de Embarazo Clínico	22,72%	24%	71,43%	33,33%

CONCLUSIONES: la morfología estricta evaluada por el método de Kruger parece ser insuficiente para determinar la población que se pueda beneficiar con IMSI. Se obtuvieron resultados aceptables en pacientes con alteraciones severas en la compactación cromatínica, considerados de muy mal pronóstico con ICSI. La calidad ovocitaria es una variable importante en los resultados (en ovodonación los resultados fueron muy satisfactorios). Es necesario un mayor tamaño muestral y la realización de ensayos clínicos aleatorizados para determinar cuál es la población que se podría beneficiar con esta nueva técnica.

DIAGNÓSTICO DE MALFORMACIONES UTERINAS MEDIANTE HISTEROSALPINGOGRAFÍA VIRTUAL

PATRICIA CARRASCOSA, MARIANO BARONIO, JAVIER VALLEJOS, CARLOS CAPUÑAY, MARIO BORGHI, CARLOS SUELDO

OBJETIVO: demostrar e ilustrar la utilidad de la Histerosalpingografía Virtual (HSG-V) en el estudio de las malformaciones congénitas del útero.

DISEÑO: estudio descriptivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: se estudiaron 650 pacientes (edad media: 34.5 años) con diagnóstico de infertilidad entre octubre de 2006 y octubre de 2008, que se realizaron HSG-Virtual con un tomógrafo multidetector de 64 filas utilizando un espesor de corte de 9 mm y un intervalo de reconstrucción de 0.45 mm; pitch 0.64; tiempo de rotación del gantry de 0.5 segundos; 120 kV y 100-250 mAs, con una duración promedio de cada escaneo de 3.5 segundos. Para la visualización de los órganos genitales internos se instilaron dentro de la cavidad uterina 10-20 ml de una dilución de contraste yodado de baja osmolalidad. La adquisición de los datos fue enviada a una estación de trabajo donde se analizaron las imágenes con la utilización de reconstrucciones multiplanares, 3D y endoscopia virtual.

Resultados: La prevalencia de las anomalías congénitas fue de 5% (32 pacientes). Se hallaron útero de configuración arcuato (15 pacientes), útero unicornio (2 pacientes), útero bicorne (3 pacientes), útero septado parcial (8 pacientes), útero septado completo (2) y útero didelfo (2 pacientes). **Conclusiones:** El diagnóstico preciso de las anomalías del desarrollo uterino es de utilidad para instituir un tratamiento adecuado y evitar cirugías innecesarias. Aunque la HSG frecuentemente se realiza para determinar la presencia de malformaciones congénitas del útero, su principal desventaja es la inhabilidad en visualizar el contorno externo del útero, importante para el diagnóstico diferencial entre útero bicorne y útero septado. Si bien la ecografía es útil para demostrar la configuración uterina externa, presenta otras limitaciones inherentes a la técnica. La RM es actualmente

la modalidad que aporta mayor información para la caracterización de las anomalías uterinas. Sólo se han mencionados dificultades en la valoración de la región cervical. En ciertos casos, se recurre a la laparoscopia para determinar el diagnóstico de la malformación. La HSG-V presenta la ventaja de evaluar no sólo la cavidad, sino también la pared uterina, con la posibilidad de visualizar la configuración externa. Así, la gran mayoría de las malformaciones congénitas uterinas pueden ser exactamente caracterizadas en un solo estudio.

HISTEROSALPINGOGRAFÍA VIRTUAL. EXPERIENCIA EN 800 CASOS

PATRICIA CARRASCOSA, MARIANO BARONIO, CARLOS CAPUÑAY, ELBA MARTÍN LÓPEZ, SERGIO PAPIER, CARLOS SUELDO

OBJETIVO: ilustrar los hallazgos típicos de la histerosalpingografía virtual (HSG-V) por tomografía computada multidetector (TCMD) de 16 y 64 filas y realizar diagnóstico diferencial con otras patologías.

DISEÑO: Estudio descriptivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se evaluaron los estudios de HSG-V de 800 pacientes con diagnóstico de infertilidad (edad promedio 35.3 \pm 4.4 años). Se realizaron 104 estudios con un equipo de TCMD de 16 filas, y 696 estudios con un equipo de 64 filas (Brilliance 16 y 64, Philips Medical Systems) utilizando cortes de 0.9 mm de espesor; 0.45 mm de intervalo de reconstrucción; y técnica de 120 kV y 100-250 mAs. Para la visualización de los órganos genitales internos se instilaron dentro de la cavidad uterina 10-20 ml de una dilución de contraste yodado de baja osmolalidad. La adquisición de los datos fue enviado a una estación de trabajo donde se analizaron las imágenes con la utilización de reconstrucciones multiplanares, 3D y endoscopia virtual.

RESULTADOS: En la región cervical se identificaron irregularidades parietales (27%), engrosamiento de pliegues (9%), pólipos (8%), divertículos (6%), estrechez (4%) y sinequias (1%). A nivel de la cavidad uterina se evidenciaron pólipos (31%), miomas submucosos (6%) y sinequias (4%). Además se observaron alteraciones en la pared del útero: miomas (12%), malformaciones (5%), adenomiosis (5%) y cicatriz de cesárea (2%). El 11% de las trompas uterinas no se visualizaron en forma completa, mientras que el 89% mostraron adecuada permeabilidad. Se visualizó hidrosalpinx unilateral (6%) y bilateral (1%); en 2 casos se identificaron sinequias intratubarias.

CONCLUSIONES: La HSG-Virtual permitió una adecuada evaluación de los órganos genitales internos, brindando información diagnóstica útil en infertilidad y otros desórdenes ginecológicos. La TCMD con cortes finos de alta resolución, reconstrucciones multiplanares, tridimensionales y navegación endoscópica permite una exacta caracterización de las lesiones detectadas. La endoscopia virtual facilita la identificación de lesiones polipoideas, miomas submucosos, alteraciones en la pared, y estenosis cervical y tubaría. Esta mayor información diagnóstica sumada a una técnica no dolorosa y mejor tolerada por las pacientes, sin riesgo de complicaciones y baja dosis de radiación, son ventajas que ubican a esta modalidad como una alternativa útil en el algoritmo de estudio en pacientes con infertilidad.

HISTEROSCOPIA VIRTUAL: UNA NUEVA ALTERNATIVA DIAGNÓSTICA

PATRICIA CARRASCOSA, MARIANO BARONIO, CARLOS CAPUÑAY, JAVIER VALLEJOS, MARIO BORGHI, SERGIO PAPIER

OBJETIVO: evaluar la exactitud diagnóstica de la Histeroscopia Virtual (HV) por tomografía computada multidetector para la detección de la patología cervical y uterina en comparación con la histeroscopia (H) como método gold estándar.

DISEÑO: estudio comparativo prospectivo

MATERIAL Y MÉTODOS: se estudiaron treinta y nueve pacientes con diagnóstico de infertilidad. Los estudios de HV se realizaron con un tomógrafo multidetector de 64 filas utilizando un espesor de corte de 9 mm y un intervalo de reconstrucción de 0.45 mm; pitch 0.64; tiempo de rotación del gantry de 0.5 segundos; 120 kV y 100-250 mAs, con una duración promedio de cada escaneo de 3.5 segundos. Para la visualización de los órganos genitales internos se instilaron dentro de la cavidad uterina 10-20 ml de una dilución de contraste yodado de baja osmolalidad. Luego de la

HV, todas las pacientes realizaron el procedimiento de H. Ambos procedimientos se realizaron y evaluaron en forma ciega e independiente. Se calculó la exactitud diagnóstica de HV para el diagnóstico de patología cervical y uterina según el método de exacto binomial.

RESULTADOS: El 15% de las pacientes presentaron estudios de HV e H normales. Para la detección de patología cervical, la HV mostró una sensibilidad (S) del 87.5%, especificidad (E) del 88%, valor predictivo positivo (VPP) del 63% y valor predictivo negativo (VPN) del 96%. Para la detección de patología en la cavidad uterina la HV mostró una S del 93%, E del 92%, VPP del 97% y VPN del 80%. En la evaluación conjunta de la región del cervix y cavidad uterina, la HV mostró una S del 92%, E del 89%, VPP del 90% y VPN del 91%.

CONCLUSIÓN: Los resultados obtenidos en esta serie de pacientes mostraron que la HV es una nueva alternativa diagnóstica para el estudio de la patología uterina, con una buena certeza diagnóstica en comparación con la H, en especial en especial para la valoración de la cavidad endometrial.

**MAYOR NÚMERO DE EMBRIONES TRANSFERIDOS:
ES SINÓNIMO DE MEJORES RESULTADOS EN PACIENTES DE
EDAD REPRODUCTIVA AVANZADA (E.R.A)?**

de ZÚÑIGA IGNACIO, SOBRAL FABIO, MONTANARI CARLOS,
TERRADO GUILLERMO, GARCEA MARCELO Y GOMEZ PEÑA MARIANA
Pregna Medicina Reproductiva – CEMIC , Buenos Aires, Argentina.

a- **OBJETIVO:** comparar en un grupo de pacientes de edad reproductiva avanzada (mayores de 37 años) las tasas de embarazo y gestación múltiple transfiriendo dos o más embriones al útero.

b- **DISEÑO:** comparativo – descriptivo.

c- **MATERIAL Y MÉTODO:** entre Agosto de 2007 y Julio de 2008, sobre 315 pacientes del programa de FIV, se analizaron 124 pacientes (39.4%) de edad reproductiva avanzada (mayores de 37 años). Se dividieron las pacientes en dos grupos de acuerdo al número de embriones transferidos: grupo A (2 embriones) y grupo B (3 o 4 embriones).

Los grupos eran similares respecto al tiempo y tipo de esterilidad, al diagnóstico reproductivo, al tipo de esquema de inducción.

Todas las punciones se realizaron bajo control ecográfico y anestésico. Las transferencias embrionarias se realizaron a las 72 hs con ecografía de control. Los embarazos fueron diagnosticados por la presencia de saco gestacional en la ecografía.

Se ingresaron los datos al sistema estadístico Stata 8.0. De acuerdo a las variables analizadas (numéricas o comparación de proporciones) se utilizó: Ttest y los Test de Chi2 o Test de Fisher según el tamaño muestral.

d- **Resultados:** de las 124 pacientes iniciales, 15 (12.1%) fueron canceladas. Entre las 109 restantes 84 restantes (77.1%) realizaron transferencia embrionaria (E.T) de más de 1 embrión. De ellas 29 (34.5%) transfirieron 2 embriones al útero, mientras que 55 (65.5%) transfirieron 3 o 4 embriones al útero. En la tabla nº 1 se observan las diferencias entre ambos grupos y su (p) correspondiente.

	Grupo A (et 2)	Grupo B (et 3 o 4)	P
Pacientes (%)	29 (34.5%)	55 (65.5%)	
Edad (años)	39.1 ± 1.9	39.8 ± 2.2	0.1
Fsh (mui/ml)	9.2 ± 3.9	8.9 ± 6.1	0.7
Dosis total(mui)	2523.2 ± 694.8	2809.9 ± 565.9	0.04
Ovocitos captados	6.8 ± 5.2	8.9 ± 4.6	0.06
MII	5.2 ± 4.2	6.4 ± 2.7	0.1
% embarazo	31 % (9 /29)	32.7 % (18/55)	0.5
% embarazo múltiple	22.2 % (2/9)	27.8 % (5/18)	0.7
% aborto	44.4 % (4/9)	38.9 % (7/18)	0.5
% embarazo evolutivo	55.5 % (5/9)	61.1 % (11/18)	0.5

e- **Conclusiones:** la decisión de transferir mas de 2 embriones al útero en pacientes mayores de 37 años no se vio reflejada en mayores tasas de embarazo en el grupo de 3 o 4 embriones (32.7%) versus la tasa de embarazo en el grupo de (E.T) de 2 (31%). Si bien las tasas de gestaciones múltiples no fueron estadísticamente significativas (p:0.7) grupo A (22.2%)

versus grupo B (27.8%) marca una tendencia que podría ser significativa con mayor número de la muestra. Concluimos que no se recomienda transferir 3 o mas embriones en pacientes mayores de 37 años.

ASTENOZOOSPERMIA SEVERA: Son los gradientes de Percoll una técnica de mejoramiento espermático?

DEL COURT STELLA, RODRÍGUEZ MARIA LORENA, REY VALZACCHI GASTÓN, KNOBLOVITS PABLO, GOGORZA SEBASTIÁN, TESTA ROBERTO

La astenozoospermia representa la alteración seminal más frecuente en la población infértil, sin existir alternativa terapéutica medicamentosa efectiva. La técnica de gradientes permite la recuperación de un número mayor de espermatozoides móviles rápidos que lo existente en la muestra original. Es efectiva en muestras con astenozoospermia leve o moderada permitiéndoles ingresar en un plan de IUI, pero no existen comunicaciones sobre el mejoramiento de la movilidad en las astenozoospermias severas.

OBJETIVO: evaluar la capacidad de los gradientes en incrementar la movilidad traslativa rápida, en muestras astenozoospermicas severas y ver la efectividad de la inseminación intrauterina (IUI) en pacientes con este cuadro.

DISEÑO: se analizaron muestras de semen que fueron recibidas en el laboratorio de Andrología de nuestra institución entre los años 2005 a 2007.

MATERIAL Y MÉTODOS: fueron examinadas mediante espermogramas según criterios de OMS, morfología de Kruger y mejoramiento espermático con gradientes de Percoll. Se seleccionaron para estudio, las muestras astenozoospermicas severas, con 0% de espermatozoides traslativos rápidos en la muestra basal. También fueron evaluados los resultados de las IUI realizadas en ese mismo período en pacientes con las mismas características.

RESULTADOS: de 1296 muestras evaluadas, un 16% tenía 0% de espermatozoides GIII, lográndose luego del gradiente de Percoll una media de 2.46 x 106 espermatozoides GIII y 11.5 % lograron recuperar $\geq 5 \times 106$ de espermatozoides grado III. 39 pacientes que realizaron IUI tuvieron 0% de espermatozoides GIII en la muestra basal el día del procedimiento sin lograr ninguno embarazo, independientemente de recuperar más de 5 x 106 espermatozoides GIII o de tener una morfología mayor al 14%. Al evaluar la morfología espermática comparando el número de normales en la muestra inicial y post Percoll, se observó que no hay un incremento en el porcentaje obtenido luego del gradiente.

CONCLUSIÓN: En pacientes con astenozoospermia severa, el gradiente de densidad, es efectivo para recuperar espermatozoides GIII, por lo cual uno pensaría que podría ser una alternativa terapéutica. Sin embargo la tasa de embarazo nula en esta población sugiere que los espermatozoides, aparte de la movilidad, tendrían asociada otra alteración en su capacidad fertilizante. Consideramos que esta población no es apta para procedimientos terapéuticos como la IUI y sugerimos ofrecerles un procedimiento de alta complejidad.

**EMBARAZO EXITOSO Y NACIMIENTO LUEGO DE ICSI EN
PACIENTE CON DISPLASIA DE VAINA FIBROSA.
NUESTRA EXPERIENCIA HOSPITALARIA**

DELL AGNOLETTA IRENE, COHEN MARIANO, NOTRIKA JUDITH,
LECUMBERRI LUIS, LANGE DIEGO; GOMEZ PASSANANTE ERNESTO
*Servicio de Fertilidad de la 1ª Cátedra de Ginecología,
Hospital de Clínicas "José de San Martín".*

OBJETIVO: reportar el embarazo exitoso y nacimiento, logrado por técnica ICSI en un paciente con diagnóstico de displasia de vaina fibrosa espermática.

DISEÑO: caso clínico.

MATERIALES Y METODOS: en una pareja que consultó en febrero de 2007 por esterilidad secundaria, 1 marital de 10 años de evolución, se constató la presencia de astenozoospermia severa, realizándose estudio de microscopía electrónica y se diagnosticó displasia de vaina fibrosa espermática. Luego de una hiperestimulación controlada realizada en su pareja se obtuvieron 10 óvulos MII, realizándose técnica ICSI.

RESULTADOS: a las 24 hs de la punción ovocitaria se constató la fertilización de 7 ovocitos (70% de fertilización) comprobando la evolución de 6

embriones a las 72 hs. Se transfirieron 3 embriones bajo control ecográfico, y se criopreservaron 3. Luego de 14 días se constató la presencia de embarazo mediante sub beta cuantitativa. El mismo evolucionó en forma exitosa obteniéndose un recién nacido vivo de término, con peso adecuado para su edad gestacional.

CONCLUSIONES: la técnica ICSI permite obtener una buena tasa de fertilización y buena calidad de embriones, pudiéndose lograr embarazos exitosos en pacientes con astenozoospermia severa y diagnóstico ultraestructural de displasia de la vaina fibrosa espermática.

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD INVASIVA DE LAS CÉLULAS EMBRIONARIAS MEDIANTE LA INTERFERENCIA DE ARN DE CITOQUINAS REGULADORAS DE LA ANGIOGÉNESIS

Dubinsky Valeria,^{1,3} Poehlmann Tobias,² Gutiérrez Gabriela,^{1,3}

Gentile Teresa,¹ y Markert Udo²

¹ IDEHU (CONICET) - FFyB, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

² Friedrich-Schiller-Universität Jena, Alemania.

³ Halitus Instituto Médico.

OBJETIVO: estudiar el efecto de la interferencia de ARN de diferentes factores reguladores de la vascularización: Interleuquina-6 (IL-6), Factor de crecimiento endotelial (VEGF) y Factor inducible por hipoxia 1-alfa (Hif-1 α) en la capacidad invasiva in vitro de células trofoblásticas.

DISEÑO: experimental, randomizado.

MATERIALES Y MÉTODOS: células de una línea de coriocarcinoma humano (Jeg-3) fueron transfectadas con oligonucleótidos conteniendo la secuencia complementaria de ARN mensajero (siRNA) para VEGF, Hif-1 α , IL-6. Esta técnica de interferencia bloquea la expresión específica de las moléculas estudiadas. Como control negativo se transfectó con una secuencia no genómica de ARN de interferencia. El efecto del bloqueo se analizó mediante ensayos de migración e invasión celular utilizando insertos y matriz. El recuento celular se determinó por citometría de flujo y como control del bloqueo en la expresión de las proteínas estudiadas se realizó ELISA y Western-blot. Los resultados fueron analizados estadísticamente por t-test.

RESULTADOS: los resultados obtenidos demuestran que la capacidad invasiva del trofoblasto estaría controlada por IL-6 y Hif-1 α , ya que células Jeg-3 transfectadas con siRNA para IL-6 y Hif-1 α presentan una disminución significativa en el proceso invasivo in vitro ($p=0.02$ y 0.002 respectivamente) no siendo así cuando dichas células son transfectadas con siRNA para VEGF ($p=0.14$). Más aun, encontramos que tanto IL-6 como VEGF y Hif-1 α son moléculas intervinientes en la regulación de la migración trofoblástica, obteniéndose una disminución significativa en la misma cuando se interfirió el ARN para IL-6, VEGF y Hif-1 α ($p=0.029$, 0.0072 y 0.031 respectivamente).

CONCLUSIONES: una disminución de la invasión provocada por un defecto en la producción de IL-6 sería la causa de un inapropiado establecimiento de la circulación feto-placentaria y de un desbalance en los niveles de oxígeno que conduciría al aborto recurrente por hipoxia o isquemia. Teniendo en cuenta estos resultados preliminares, podemos inferir que el efecto protector de las moléculas antes mencionadas, podría ser alcanzado mediante la regulación de la invasión del embrión que permitiría modular el desarrollo de la circulación materno-fetal.

MEJORAMIENTO DE LOS RESULTADOS EN ART Beneficios del co-cultivo de embriones sobre células endometriales autólogas en pacientes que realizan un procedimiento de reproducción asistida por primera vez

EYHEREMENDY MARIA VICTORIA, RAFFO FERNANADA, PAPPAYANNIS MERCEDES, BARNES JULIA MARIANA, GRANADOS MARIA CINTIA, BLAQUIER JORGE

OBJETIVO: evaluar el efecto del co-cultivo de células endometriales autólogas (CCEA) en pacientes que realizan un procedimiento de reproducción asistida por primera vez.

POBLACIÓN: comparamos los resultados obtenidos en 132 pacientes con casos clínicos similares y realizados en forma simultánea: 92 pacientes eligieron el tratamiento convencional y 40 pacientes eligieron hacer Co-cultivo en sus tratamientos.

MATERIALES Y MÉTODOS: se realiza una biopsia de endometrio en el día 7 ± 2 post-ovulación. Se disgrega el tejido y se separan las células glandulares y estromales por sedimentación. Las células se cultivan hasta confluencia y luego se criopreservan.

El día anterior a la inyección de HCG se descongelan las células y se cultivan en relación 1:1 (glandulares:estromales) durante 3 días. Los embriones se cultivan en este sistema a partir del estadio de pronúcleos y se transfieren a la paciente a las 72hs de cultivo y aquellos no transferidos fueron criopreservados para uso futuro.

Las pacientes fueron tratadas con FSH recombinante (a partir del día 2), en distintas dosis según cada caso, y antagonistas de GnRh (a partir de un folículo de 14mm). La maduración final se indujo con HCG 10.000 UI. La punción folicular se realizó a las 36hs de la inyección de HCG. El soporte de la fase lutea se realizó con progesterona 600mg por día por vía vaginal. RESULTADOS: al comparar ciclos sin y con CCEA se observó que, la edad de las pacientes (36.4 ± 4.2 vs 35.4 ± 3.87), el n° de ovocitos recuperados (6.8 ± 3.96 vs 7.25 ± 4.28) y la cantidad de embriones transferidos (2.39 ± 0.62 vs 2.2 ± 0.54), no mostraron diferencia estadísticamente significativa. Así también no se observó diferencia estadísticamente significativa al comparar el porcentaje de embriones de buena calidad ($60.78\% \pm 30.34$ vs $65.3\% \pm 37.16$).

Tabla 1: Análisis de la tasa de embarazo e implantación en ciclos convencionales y con co-cultivo.

	CONVENCIONAL	CO-CULTIVO
Nº PACIENTES	92	40
TASA EMBARAZO	30/92 (33%)	27/40 (68%)*
TASA IMPLANTACION	34/207 (16.4%)	30/87 (34%)*

* <0.001

Tabla 2: Análisis de la tasa de embarazo según grupo etéreo.

EDAD	CONVENCIONAL	CO-CULTIVO
MENOR O IGUAL DE 34 AÑOS	12/40 (30%)	14/17 (82%)*
ENTRE 35 Y 39 AÑOS	14/35 (40%)	7/15 (47%)
MAYOR O IGUAL DE 40 AÑOS	3/17 (18%)	6/8 (75%)*

* <0.001

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que la técnica del co-cultivo de embriones sobre células endometriales provee una nueva alternativa con mejores posibilidades de embarazo. Apparently el cultivo de endometrio proporciona un ambiente mejorado para los embriones por ello se han postulado diversos mecanismos de acción del co-cultivo. A diferencia de otros trabajos publicados, los embriones cultivados en las células endometriales no muestran diferencias en su calidad y número de blastómeros con respecto a los ciclos convencionales, pero sí un aumento significativo en las tasas de embarazo e implantación.

RESULTADOS DE MADURACIÓN IN VITRO DE OOCITOS OBTENIDOS DE PACIENTES ESTIMULADAS PARA ALTA COMPLEJIDAD Y REPORTE DE UN EMBARAZO.

GUIDOBONO MERCEDES, TIVERON MARISA, LOMBARDI CAROLINA, MARCONI GUILLERMO, YOUNG EDGARDO, VALCARCEL ALBERTO
Instituto de Ginecología y Fertilidad (IFER). Marcelo T. de Alvear 2259.
Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina

OBJETIVO: evaluar las tasas de maduración in vitro a partir de oocitos inmaduros (Profase y MI) y los parámetros reproductivos a partir del uso clínico de oocitos madurados.

MATERIALES Y MÉTODOS: en un primer ensayo se evaluó el uso de un medio de maduración oocitaria. Se utilizaron 107 oocitos inmaduros excedentes (80 Profase y 27 MI) correspondientes a 31 pacientes estimuladas hormonalmente y que realizaron un ICSI (edad promedio: 36.2 ± 3.5 años). Un segundo ensayo de tipo clínico involucró a 5 pacientes que obtuvieron un total de 1 MI, 6 MI y 8 Profase (edad promedio: 34.8 ± 3.4 años). Los oocitos fueron obtenidos siguiendo una hiperestimulación ovárica standard. Los oocitos inmaduros fueron incubados en un medio com-

puesto por G-IVF PLUS suplementado con 20% de SSS, 75 UI/ml LH y 50 UI/ml FSH en condiciones estándares (37°C y 6% CO2) durante 24 hs, y posteriormente evaluado su grado de madurez.

En los ensayos clínicos, los oocitos MII producto de la maduración in vitro fueron sometidos a un procedimiento estándar de ICSI y evaluadas las tasas de fecundación, clivaje, calidad embrionaria y embarazo.

RESULTADOS: en los ensayos de maduración in vitro un 56% (45/80) de los oocitos Profase y un 81% (22/27) de los MI maduraron a MII luego de 24 horas de cultivo. En los ensayos clínicos, un 75% (6/8) de los Profase y un 83% (5/6) de los MI maduraron a MII. Las tasas de fecundación y clivaje de los MII provenientes de los Profase fueron 67% (4/6) y 75% (3/4), mientras que las de los provenientes de MI fueron 60% (3/5) y 100% (3/3) respectivamente. De los oocitos madurados derivados de Profase se obtuvieron 3 embriones Clase II los que fueron transferidos en dos pacientes, no resultando en embarazo, mientras que de los derivados de MI se transfirieron 2 embriones Clase III en una paciente, que resultó en un embarazo que se detuvo a las 6 semanas de desarrollo, y un embrión Clase II en otra paciente que no embarazó.

CONCLUSIONES: estos resultados, aunque se trate de una serie pequeña de ensayos, muestran que oocitos inmaduros provenientes de ciclos estimulados pueden ser madurados in vitro con buenas expectativas. En forma clínica, estos oocitos pueden ser fertilizados en forma normal e incrementar el número de embriones disponibles para ser transferidos o bien ser utilizados en un ciclo de rescate, cuando todos los oocitos recuperados fueran inmaduros.

EN FIV, EL RESULTADO DEPENDE DEL CATÉTER QUE USEMOS?

HORTON MARCOS, DE ZUÑIGA IGNACIO, TERRADO GUILLERMO, GARCEA MARCELO, CATTANEO ANTONIO Y BISIOLI CLAUDIO
Pregna Medicina Reproductiva – CEMIC, Buenos Aires, Argentina.

OBJETIVO: los resultados de un programa de FIV se sustentan en 3 aspectos básicos: 1. La adecuada estimulación ovárica previa a la aspiración folicular (que nos permita obtener ovocitos maduros); 2. La fertilización de los óvulos para conseguir embriones de buena calidad; y 3. Una transferencia embrionaria correcta. De este último aspecto uno de los factores ha tener en cuenta es el tipo de material de los catéteres, por lo que se clasifican en rígidos o blandos. Los catéteres más blandos presuponen un menor traumatismo del endometrio. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar los resultados de embarazo en nuestro programa de FIV con la utilización de 2 tipos de catéteres de embriotransferencia.

Diseño: retrospectivo - comparativo

MATERIAL Y MÉTODOS: se analizaron los datos obtenidos sobre 177 transferencias embrionarias de nuestro programa de FIV entre agosto 2007 y agosto 2008. En todos los casos el procedimiento se realizó en quirófano y con control ecográfico abdominal (transvesical). Se dividió a las pacientes en 2 grupos: Grupo A (128 pacientes) en las que se usó un catéter blando (Tucker®) y Grupo B (49 pacientes) en las que se utilizó un catéter rígido (Tomcat®). Ambos grupos fueron comparables considerando la edad, los valores de FSH basal, la cantidad de ovocitos recuperados y el número de embriones transferidos.

Se ingresaron los datos al sistema estadístico Stata 8.0. De acuerdo a las variables analizadas (numéricas o comparación de proporciones) se utilizó: Ttest y los Test de Chi2 o Test de Fisher según el tamaño muestral. **RESULTADOS:** en la tabla nº 1 se describen los resultados comparativos entre ambos grupos y su significancia estadística.

Tabla Nº1

	Blandos	Rigidos	p
Pacientes	128 (72.3%)	49 (27.7%)	
Edad	36.1 ± 4.7	35.9 ± 3.9	0.8
FSH	8.5 ± 5.3	7.8 ± 4.4	0.5
Ovos tot	8.4 ± 5.4	9.4 ± 5.1	0.5
ET	2.4 ± 0.8	2.3 ± 0.8	0.4
Embarazos	51 (39.8%)	10 (20.4%)	0.01

CONCLUSIONES: de acuerdo a nuestros resultados, y concordando con los datos de la bibliografía, la utilización de catéteres blandos para la transferencia embrionaria resulta en una mayor probabilidad de embarazo en un programa de FIV.

RECuento DE CÉLULAS NK EN EL ENDOMETRIO DE PACIENTES INFÉRTILES COMO POSIBLE HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA

JUNOVICH GISELA, LICUDIS MARA, DOMENECH LUCIANA, GENTILE TERESA, PASQUALINI SERGIO, GUTIÉRREZ GABRIELA
Halitus Instituto Médico. Bs As, Argentina. IDEHU (UBA-CONICET). Bs As, Argentina

OBJETIVO: comparar los niveles de células natural killer endometriales (uNK) totales y angiogénicas obtenidas durante la ventana implantatoria de pacientes infértiles vs. donantes fértiles.

DISEÑO: experimental, prospectivo, randomizado.

MATERIALES Y MÉTODOS: las muestras de endometrio fueron obtenidas en ventana implantatoria por biopsia con Pipelle de Cornier. Fueron incluidas en el estudio un total de 10 pacientes con al menos una falla de FIV y dos años de infertilidad; y 10 donantes fértiles. El recuento de uNK totales (angiogénicas + citotóxicas) y uNK angiogénicas fue determinado por la técnica de citometría de flujo (FACS), mediante el uso de anticuerpos fluorescentes dirigidos contra los marcadores de superficie de cada una de ambas poblaciones. Los resultados fueron analizados estadísticamente por el t-test.

RESULTADOS: los resultados demuestran que las pacientes infértiles expresan menores niveles tanto de uNK totales (CD56+ CD9+) (p=0,0018) como de uNK angiogénicas (CD56bright CD9+ Cd16-) (p=0,0198) en comparación con el grupo control.

CONCLUSIONES: los datos obtenidos nos permiten postular la potencialidad de esta técnica de recuento de células NK por citometría de flujo, como método de diagnóstico y seguimiento de tratamientos en pacientes infértiles.

VITAMINA E: MODULADOR DE LA EXPRESIÓN DE MARCADORES INMUNOLÓGICOS ASOCIADOS A LA CALIDAD DE LA VASCULARIZACIÓN ENDOMETRIAL

JUNOVICH GISELA, LICUDIS MARA, AZPIROZ AGUSTINA, GENTILE TERESA, PASQUALINI SERGIO, GUTIÉRREZ GABRIELA
Halitus Instituto Médico. Bs As, Argentina. IDEHU (UBA-CONICET). Bs As, Argentina

OBJETIVO: estudiar el efecto inmunomodulador de la suplementación dietaria con vitamina E en pacientes infértiles, sobre el recuento de células natural killer angiogénicas endometriales y sobre la producción local de la citoquina reguladora de la vascularización: IL-6 (Interleuquina-6).

DISEÑO: experimental, prospectivo, randomizado.

MATERIALES Y MÉTODOS: la biopsia de endometrio se realizó con Pipelle de Cornier en ventana implantatoria, bajo consentimiento informado, en pacientes infértiles durante dos ciclos consecutivos de prueba (sin búsqueda de embarazo): el primero sin suplementar y el siguiente suplementado con 800U/día de vitamina E. Los niveles de IL-6 se determinaron por ELISA y la relación de la subpoblación de uNK angiogénica sobre la total, fue determinada por la técnica de citometría de flujo (FACS). Los resultados fueron analizados estadísticamente por t-test.

RESULTADOS: la suplementación dietaria con vitamina E incrementó tanto la población de células uNK angiogénicas (p=0,0198), como los niveles de IL-6 endometriales (p=0,038). La relación de la subpoblación de uNK angiogénica sobre la total en pacientes infértiles luego de la suplementación, alcanzó los niveles reportados previamente para mujeres fértiles.

Conclusiones: la suplementación dietaria de pacientes infértiles con 800U diarias de Vitamina E fue capaz de normalizar los niveles deficientes de células NK angiogénicas endometriales. Este efecto fue acompañado de un incremento en los niveles de la citoquina IL-6 reguladora de la vascularización, cuya deficiencia ha sido reportada en pacientes con aborto recurrente de origen inmunológico y hematológico.

TRANSFERENCIA INTRA-TUBARIA DE EMBRIONES POR VÍA LAPAROSCÓPICA, UNA OPCIÓN TERAPÉUTICA EN PACIENTES CON FALLAS REITERADAS DE FIV (FERTILIZACIÓN IN VITRO).

KENNY A; SABATINI L; YOUNG E (H); VILELA M; MARCONI G; AUGÉ L IFER (Instituto de Ginecología y fertilidad de Buenos Aires-Argentina).

OBJETIVO: la utilización de la Transferencia Tubaria de Embriones (TET) ha ido declinando gradualmente en todo el mundo a lo largo de los años, en ciclos de FIV, existen múltiples trabajos y meta-análisis que no encuentran diferencias significativas en las tasas de implantación y embarazo entre mujeres que realizan un primer intento de FIV con transferencia al útero vs transferencia a las trompas por vía laparoscópica. Sin embargo existen muy pocos estudios que evalúen el rol que cumple el TET en aquellas pacientes con fallas reiteradas de FIV con transferencia a útero (UET).

Nuestro estudio se centra en los resultados reproductivos de mujeres que realizaron un TET y que tenían una historia de 2 fallas reiteradas de UET, comparado con un grupo de pacientes que también tenían el antecedente de 2 UET fallidas, en cuyo tercer intento de igual manera la transferencia se realizó a útero.

DISEÑO: estudio de cohorte retrospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: realizamos la evaluación de todos los ciclos de FIV en nuestro centro entre los años 2003-2007, seleccionando 261 pacientes infértiles con 2 fallas en fresco de UET. Las pacientes fueron divididas en 2 grupos; el Grupo A (43) realizaron un tercer intento en fresco a trompa (TET) y el Grupo B (218) en cuyo tercer ciclo en fresco realizaron una transferencia uterina de embriones eco-guiada (UET). Los resultados reproductivos evaluados fueron: Número de ovocitos capturados, tasa de implantación, embarazo clínico, tasa de aborto, tasa de embarazo ectópico, tasa de embarazo múltiple y recién nacido vivo.

RESULTADOS: las causas de infertilidad, los protocolos de estímulo y la respuesta al mismo fueron comparables en ambos grupos. La tasa de embarazo (51% vs 33%) y la tasa de recién nacido vivo (48% vs 27%) fue significativamente mayor en el grupo que realizó TET ($p < 0.05$). Encontramos además una tasa de embarazo gemelar mayor en este grupo de pacientes con transferencia embrionaria a las trompas.

CONCLUSIONES: la transferencia intra-tubaria de embriones por vía laparoscópica sería una alternativa efectiva, asociado a mejores resultados reproductivos que la transferencia uterina de embriones, en aquellas pacientes con fallas reiteradas de FIV.

SONDAS DE OLIGONUCLEÓTIDOS PARA FISH: PRIMER REPORTE DE SU UTILIZACIÓN PARA SCREENING DE ANEUPLOIDÍAS EN BLASTÓMERAS HUMANAS.

KOPCOW LAURA, BISIOLI CLAUDIO, GOMEZ PEÑA MARIANA, MATAYOSHI TETSUJI, DE ZUÑIGA IGNACIO, HORTON MARCOS
PREGNA MEDICINA REPRODUCTIVA - CEMIC

OBJETIVO: el Diagnóstico Genético Preimplantación para screening de aneuploidías (DGP-SA) informa sobre el estatus cromosómico del pre-embrión humano. Una de las limitantes del DGP-SA es el reducido número de cromosomas que permite evaluar debido a que cada desnaturalización e hibridación insume 4 horas y a que las sondas convencionales requieren una elevada astringencia que resulta dañina para la blastómera fijada. El presente trabajo es el primer reporte mundial de utilización de sondas fluorescentes de oligonucleótidos, que requieren baja astringencia y que permiten realizar el procedimiento de desnaturalización e hibridación en 20 minutos.

DISEÑO: descriptivo

MATERIALES Y MÉTODOS: se estudiaron cinco pre-embriones de una pareja que consultó por falla reiterada de FIV. Se realizó la biopsia embrionaria en día 3 extrayéndose una sola blastómera de cada embrión. Se efectuó la desnaturalización e hibridación con sonda Multivision PB (Vysis, Abbott, EEUU) para evaluar los cromosomas 13, 16, 18, 21 y 22 y luego la desnaturalización e hibridación con sondas centroméricas para los cromosomas X e Y (Vysis, Abbott, EEUU). En una tercera ronda se aplicaron las sondas con oligonucleótidos mediante los siguientes pasos:

1- Desnaturalización en baño de solución de formamida al 70% + solución 2X de SSC a 72°C durante 2 minutos.

2- Deshidratación en etanol al 70, 80, 90 y 100%, 2 minutos cada uno.

3- Hibridación con sonda de fluorescencia de oligonucleótidos para los cromosomas 15, 17, X e Y (One Cell Systems, Cambridge, MA, EEUU), a 37°C durante 5 minutos.

4- Lavado en solución 0,2X de SSC + Solución al 0,1% de SDS a 50°C durante 2 minutos.

5- Agregado de Antifade (protector de fluorescencia).

6- Lectura en microscopio de fluorescencia y obtención de imágenes digitalizadas.

RESULTADOS: se obtuvieron señales cromosómicas claras en las tres rondas de FISH. La lectura de las señales del cromosoma X e Y coincidieron entre las dos técnicas. Con las sondas de oligonucleótidos pudo realizarse la lectura de 4 cromosomas luego de 18 minutos de procesamiento. En la siguiente tabla se muestra el resultado de la lectura.

Cromosomas	Número de señales											
	Sondas de Vysis						Sondas de oligonucleótidos					
	13	16	18	21	22	X	Y	15	17	X	Y	
Blastómeras												
1	3	3	3	3	3	1	1	3	3	1	1	
2	2	2	3	2	2	1	1	3	2	1	1	
3	2	2	2	2	2	0	2	2	3	2	0	
4	3	2	2	3	2	2	0	2	3	2	0	
5	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2	0	

CONCLUSIÓN: este es el primer reporte en nuestro país de DGP-SA con lectura para nueve cromosomas (los sexuales fueron leídos dos veces) y es la primera vez que se reporta en el mundo la utilización de sondas de oligonucleótidos en blastómeras humanas. La utilización de sondas de fluorescencia de oligonucleótidos requiere una baja astringencia y disminuye el tiempo de hibridación de 4 horas a 18 minutos, lo cual permitiría, mediante seis rondas sucesivas, realizar la lectura de todos los cromosomas humanos e informar el resultado dentro de las 24 horas de biopsiadas las blastómeras.

ALTA PREVALENCIA DE FALSAS PERCEPCIONES SOCIALES SOBRE CRIOPRESERVACIÓN EMBRIONARIA Y SU POTENCIAL IMPACTO EN UNA LEGISLACIÓN RESTRICTIVA EN ARGENTINA.

LANCUBA STELLA, BARÓN LUISA, LAJER FLORENCIA,
FERNÁNDEZ NOELIA, MAGGIOTTO GISELA
CIMER, Buenos Aires, Argentina; Impsi, Buenos Aires, Argentina.

OBJETIVO: evaluar las opiniones y percepciones sociales en torno a la temática de criopreservación de embriones en Argentina.

METODOLOGÍA: estudio descriptivo, mediante encuestas estructuradas cuanti-cualitativas, recurriéndose a un muestreo incidental de 75 casos de personas residentes en el país.

RESULTADOS: a) Categorización de la vida humana: se observó una definición biológica 19%; moral 31%; sobrenatural 14%; social 4%; otras 32%. b) Información del participante: el 42% refiere conocer el procedimiento; un 30% declara poseer escasa información, mientras el 28% restante expresa desconocer el procedimiento. Entre quienes declararon poseer información, el 36% se expresa de acuerdo, 39% tiende a estar de acuerdo y 7% en desacuerdo. Quienes declaran no poseer información: 5% declaran estar de acuerdo, 31% tiende a estar de acuerdo 11% en desacuerdo y 5% tiende a estar en desacuerdo; 32% no expresa ni acuerdo ni desacuerdo; 16% no sabe. c) Ciencia y ética: la palabra "criopreservación" se asoció a ideas abstractas relacionadas a la ciencia tales como: deshumanización, mitos y relatos fantásticos; manipulación genética, manipulación de la vida y producción industrial de hijos. También a posible selección de sexo y de las características físicas del futuro hijo, así como creación de vida artificial y clonación. Además se la vinculó con mejora de la especie y sometimiento de embriones a innovación científica. Por otra parte, se observaron asociaciones a percepciones positivas del avan-

ce científico para la calidad de vida y se confunde la técnica con otros métodos de fertilización asistida.

CONCLUSIONES: los resultados de este estudio preliminar muestran que 2/3 partes de la población estudiada manifiesta contar con escasa o nula información sobre la temática criopreservación embrionaria. Las opiniones relevadas reflejan las variables creencias respecto de la vida humana y un predominio de múltiples percepciones erróneas respecto de la temática "criopreservación embrionaria" en particular y las Técnicas de Fertilización Asistida en general. Estos hallazgos reflejan un alto riesgo de derivar en una legislación restrictiva, anulando el beneficio que dicha tecnología brinda en el marco de la salud humana.

ALTA IMPACTO DE LA ADENOMIOSIS EN REPRODUCCION ASISTIDA

LIMA ANABELLA, LUIS BEGUÉ, BRIGNARDELLO CLAUDIA, SERPA IDELMA, MIECHI HÉCTOR, MORENTE CARLOS

OBJETIVO: evaluar el impacto de la adenomiosis en las tasas de implantación y embarazo, en ciclos de fertilización asistida de alta complejidad. **DISEÑO:** estudio de cohorte histórica.

MATERIALES Y MÉTODOS: se estudiaron 31 pacientes que realizaron un procedimiento de fertilización asistida de alta complejidad en PROAR (Programa de Asistencia Reproductiva de Rosario), con diagnóstico de adenomiosis mediante ecografía transvaginal, y se las comparó con 62 pacientes sin adenomiosis, de igual edad, factor de infertilidad y año de realización del tratamiento (relación 2:1).

RESULTADOS: ambos grupos fueron similares en cuanto a la calidad ovocitaria (Ovocitos MII: 77% y 75%) y el número de embriones transferidos (Media =2,2; DS=0.7 en ambos grupos). Las pacientes con adenomiosis presentaron una leve reducción con respecto a las pacientes sin adenomiosis en la tasa de implantación (8,5% vs. 11,8%) y en la tasa de embarazo (19,4% vs. 25,8%). Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla I).

Tabla I:

	PAC CON ADENOMIOSIS n = 31	PAC SIN ADENOMIOSIS n = 62	RR (IC95%)
Implantación/embr transf	6/71 (8,5%)	16/139 (11,8%)	0,73 (0,30-1,79)
Tasa de embarazo clínico	6/31 (19,4%)	16/62 (25,8%)	0,75 (0,33-1,73)

CONCLUSIONES: la tasa de implantación embrionaria y de embarazo podrían verse afectadas por la presencia de adenomiosis. Sin embargo, los resultados de este trabajo no son concluyentes debido a la dificultad diagnóstica, carencia de identificación de nivel de afectación del espesor del endometrio y escaso número de pacientes analizado. Se deberían realizar nuevos estudios con un mayor número de pacientes y un mejor método diagnóstico.

LA INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE OVOCITOS INMADUROS DURANTE LOS PROCEDIMIENTOS DE FERTILIZACIÓN ASISTIDA NO MEJORAN LAS TASAS DE EMBARAZO

LOMBARDI E; SÍCARO L; VILELA M; DE CARO R; VALCARCEL A; VAN THILLO G

OBJETIVOS: evaluar el impacto de la inseminación de ovocitos inmaduros (MI) durante ciclos de fertilización asistida (FA) **DISEÑO:** estudio controlado, retrospectivo.

MATERIAL Y METODO: en el presente estudio evaluamos 760 ciclos de FA, desde 1999 a 2007, en los que por lo menos se hubiera inseminado como mínimo un ovocito inmaduro, en estadio MI, constituyendo de esta forma el grupo estudio denominado Grupo A y lo comparamos con un grupo control de 800 ciclos de FA, en los que habiéndose obtenido ovocitos MI, solo se hubieran seleccionado exclusivamente aquellos maduros (MII) para ser inseminados (Grupo B). También, dentro del grupo de pacientes con utilización de ovocitos MI, cotejamos aquellas pacientes en los

que solamente se habían obtenido ovocitos MI (Subgrupo A1), con los que inseminaron MI y MII (Subgrupo A2). Los ciclos de ICSI de rescate, factores masculinos severos y transferencias de mala calidad técnica fueron excluidos.

Luego de 4 a 6 horas de cultivo, los ovocitos fueron despojados de las células del cúmulo los MI y MII (según el caso) fueron inyectados con semen de la pareja. Luego de haber alcanzado el estadio de 2 pronúcleos (PN), los cigotos fueron cultivados durante 2 o 3 días antes de ser transferidos a la cavidad uterina.

Se consideraron las siguientes variables: tasa de fertilización (TF), anomalías de la fertilización ($\geq 3PN$, 1 PN), división embrionaria, transferencia embrionaria, la calidad de los embriones transferidos, tasa de embarazo (TE) y tasa de implantación (TI). Se realizó el análisis esta trasladado a TE o TI. Mas aún, de los cuatro embarazos obtenidos en el grupo A, solo uno devino en un nacido vivo. dístico utilizando la fórmula del Chi2 para los datos categóricos, y e "t test" para los datos continuos parámetros.

RESULTADOS: los grupos A y B fueron comparables en cuanto a edad, número de ovocitos captados y proporción de MII/MI recuperados. Un total de 1516 MI (29,5%) fueron incluidos en el Grupo A; y 1167 MI en Grupo B (23,9%). En A, el 65,16% del total de los ovocitos fertilizaron normalmente, cifra significativamente menor en comparación al 78,55% del grupo B. La división embrionaria, la transferencia embrionaria y la calidad de los embriones transferidos fueron mejores en el grupo B. No encontramos diferencia en la cantidad de embriones fertilizados anómalamente, la tasa de fertilización, la tasa de implantación o la tasa de embarazo en nuestra cohorte. Con una proporción similar de MI en A1 y A2, encontramos mejor tasa de fertilización y mayor posibilidad de transferencia de un embrión obtenido a partir de un MI proveniente del grupo A1, pero este hecho no puede ser competentemente

TABLE A

Group	A MII+MI	B Only MII inseminated	
Oocytes per cycle(SD)	5,9(4,3)	6,0(3,8)	
MII inseminated	3614	3670	
MI retrieval	1516	1167	
2PN fertilization	3343(65,1)	2883(78,6)	p<0,0001
Abnormal fertilization	358(6,9)	229(6,2)	ND
Cleavage	2421(72,4)	2404(83,3)	p<0,0001
Embryo-transferred	1785(34,7)	1956(40)	p<0,0001
Class III-IV	1176(65,8)	1396(71,3)	p<0,0001
PR	21,86	21,9	ND
IR	8,73	8,64	ND

TABLE B

Subgroup	A1 Only MI retrieval (n 92)	A2 MII+MI (n 668)	
MI inseminated	238	1278	ND
MI 2PN fertilized	123(51)	395(30,9)	p<0,0001
Cases MI 2PN fert	54(58,6)	258(38,6)	p<0,0001
MI Abnormal fertilization	14(5,8)	75(5,8)	ND
Transfer cases	48(52,1)	598(88,1)	p<0,0001
PR	4,34(4/92)	24,7(131/530)	

CONCLUSION: aunque los ovocitos metafase I obtenidos durante un hipe- estímulo ovárico controlado, pueden llegar a una fertilización normal mediante ICSI, parece no aportar un beneficio en cuanto a tasa de embarazo, incluso en los casos en los que solamente se obtuvieron ovocitos MI.

**"LA ESTIMULACIÓN ENDOMETRIAL CON GONADOTROFINAS
GENERA UN MEJOR DESARROLLO ENDOMETRIAL, COMPARADO
CON ESTRÓGENOS SINTÉTICOS. EVALUACIÓN MEDIANTE
ENDOMETRIOSCOPIA"**

MARCONI GUILLERMO, VILELA MARTÍN,
MARCONI MATÍAS, PONTE LAURA.
(A premio)

OBJETIVOS: 1) Demostrar por "Endometrioscopia" que el endometrio desarrollado con 17 _ estradiol (E2) y progesterona micronizada (P=0) es completamente diferente a aquel estimulado con bajas dosis gonadotrofinas recombinantes urinarias.

2) Demostrar cómo estos hallazgos pueden reflejar mejores resultados en la tasa de embarazo en ciclos de transferencia de embriones criopreservados, dependiendo de si se utilizó E2+P=0 o gonadotrofinas para la estimulación endometrial.

DISEÑO: Estudio prospectivo.

MATERIAL Y MÉTODOS: 1) Objetivo 1. Se incluyeron 23 pacientes a las que se les indicó una cirugía laparoscópica por causa ginecológica y que aceptaron voluntariamente la realización de un "Endometrioscopia", previa toma de medicación a estudiar. Se dividieron las pacientes en 3 grupos:

Grupo A (Control: n= 7): Pacientes fértiles con ciclos regulares. La endometrioscopia se realizó entre el día 19 y 21 del ciclo.

Grupo B (Gonadotropinas: n= 8): 75 IU/día de HMG, comenzando el 5to día del ciclo. Con al menos un folículo de 18mm se administró 10.000 IU hCG. A los 5 días se realizó la endometrioscopia. (día supuesto de transferencia embrionaria).

Grupo C (E2+P=0): 4 mg/día de E2 a partir del 2do día del ciclo. Cuando el endometrio alcanzó los 8mm espesor se comenzó con P=0 600mg/día. La Endometrioscopia se realizó al 4to día de la P=0.

En los grupos B y C se realizó la endometrioscopia el día supuesto de la transferencia embrionaria.

2) Objetivo 2. Se seleccionaron 36 pacientes a los que se les realizaría transferencia de embriones criopreservados.

Grupo A (E2+P=0): 23 pacientes. Protocolo clásico.

Grupo B (Gonadotropinas): 13 pacientes. Gonadotropinas a baja dosis.

RESULTADOS: 1) Objetivo 1: El grupo A y B presentaron un patrón similar de desarrollo. Se observó una mayor concentración glandular especialmente en el cuerno ipsilateral al ovario que ovuló.

2) Objetivo 2: Se obtuvo una tasa de implantación y embarazo mayor en el grupo B (gonadotropinas) que en el grupo A (clásico): 30,8% vs 9,1% y 53,8% vs 21,7% respectivamente.

CONCLUSIONES: las gonadotropinas parecen ser mejores en el desarrollo endometrial para la transferencia de embriones criopreservados. La razón de esto podría ser que el útero recibe directamente E2 y P=0 desde el ovario; a diferencia del del protocolo clásico en el cual se administra E2 por vía oral el cual sufriría posteriormente un proceso de metabolización que modificaría su acción natural afectando su acción sobre el endometrio.

Falla Ovárica Prematura con dos alelos Fra-X permutados

MEDRANO SOFÍA, MINCMAN JUDITH, POLO MARÍA EMILIA,
TURIK SUSANA*, CIACCIO MARTA*, COCO ROBERTO
Fecunditas_Instituto de Medicina Reproductiva afiliado a la UBA
y Hospital Británico*.
fecunditas@fecunditas.com.ar

El síndrome fragilidad del X se debe a una amplificación del triplete CGG del gen FMR1 localizado en Xq28. Entre los individuos con retardo mental, el número de repeticiones del triplete CGG excede las doscientas. El alelo totalmente expandido es hiper-metilado y no transcribe. La falta del producto génico es la responsable del cuadro. La expansión intermedia entre 50 y 200 corresponde a individuos permutados. Como esa magnitud de expansión no perturba la transcripción, los portadores de la pre-mutación no tienen retardo mental. Sin embargo esos alelos son inestables y tienden a expandirse cuando son transmitidos a la descendencia. La falla ovárica prematura es la cesación de la función ovárica antes de los 40 años. Una asociación entre Fra-X y falla ovárica está reconocida. Se comunica el hallazgo de una mujer con falla ovárica prematura a los

26 años y dos alelos pre-mutados Fra-X. Menarca a los 9 años. Ciclos regulares hasta los 26 años. Tuvo un solo embarazo con una niña nacida a término, quien resultó tener un mosaico cromosómico 45,X (84)/47,XXX(16) sin fenotipo de Turner pero con talla baja. Cariotipos de los padres normales. Se estudió molecularmente los alelos del triplete CGG del gen FMR1 y 3 STRs (DXS8091, DXS8069 y DXS1205) asociados a POF1 en la hija, padres y abuelos maternos. Los resultados en la abuela materna de los alelos expresados en pares de base fue: 69/20, 86/98, 173/169, 181/185. En el abuelo: 61, 98, 169, 185. En la madre: 71/61, 98/98, 169/169, 185/185. En el padre: 27, 82, 173, 181. En la niña: 27/88*, 82/98*, 173/169*, 181/185* estando los alelos marcados con asterisco en muy pequeña proporción. Los abuelos maternos son consanguíneos. Se infiere que la madre tiene una FOP por la pre-mutación en los dos alelos Fra-X aparentemente sin deficiencia en los tres STRs asociados a POF1 estudiados y que la niña se originó de una cigota XX con una posterior no disyunción en el primer clivaje o subsiguientes. Si bien las mujeres con síndrome de Turner con mosaicos involucrando las líneas XX o XXX pueden ser fértiles, se señala que en presente caso la hija con mosaico 45,X/47,XXX igualmente tendría el mismo riesgo que la madre en desarrollar prematuramente una falla ovárica ya que el X transmitido por la madre es un X pre-mutado expandido (88 repeticiones). Si bien no está aún aclarado el mecanismo por el cual las mujeres pre-mutadas desarrollan POF, existe clara evidencia de tal asociación.

**EMBARAZO LOGRADO CON OVOCITOS VITRIFICADOS Y
CO-CULTIVO DE ENDOMETRIO**

PAPAYANNIS MARIA MERCEDES, EYHEREMENDY MARÍA VICTORIA,
GRANADOS MARÍA CINTIA, BARNES JULIA MARIANA,
BLAQUIER JORGE, RAFFO FERNANDA G.E.

OBJETIVO: presentar el caso de un embarazo obtenido a partir de ovocitos vitrificados cuyos embriones fueron co-cultivados sobre células endometriales autólogas.

MÉTODOS Y RESULTADOS: este es el caso de una pareja que en el año 2005 logró un embarazo mediante inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). En esa oportunidad se limitó el número de ovocitos a fertilizar debido a la decisión de la pareja de no criopreservar embriones. En el año 2008 se realiza un nuevo intento de ICSI en el cual se inyectaron 3 ovocitos metafase II (MII) y se vitrificaron 15 ovocitos MII. Se transfirieron 3 embriones de 72 horas clase 3-2-2 (Clasificación según Bolton et al.). Resultado de Beta HCG: negativo.

Los ovocitos fueron vitrificados siguiendo el protocolo de Kuwayama et al. El carrier utilizado fue el cryotop.

Debido a los resultados alentadores obtenidos con la técnica de co-cultivo de endometrio, se le ofrece a la pareja utilizarla a fin de aumentar las posibilidades de lograr el embarazo utilizando los ovocitos vitrificados.

Los ovocitos permanecieron vitrificados durante 4 meses. Se descongelaron 6 ovocitos. Sobrevida 5/6 (83%). De estos 5 ovocitos, se seleccionaron tres para ser inyectados. Se obtuvo un 100% de tasa de fertilización y división. Los embriones resultantes se cultivaron sobre las células endometriales autólogas a partir del estadio de pronúcleos hasta el día 5. Se transfirieron 2 blastocistos expandidos a las 120 hs. El embrión restante detuvo su desarrollo el día 3. Resultado de Beta HCG: positivo.

CONCLUSIONES: la vitrificación de ovocitos comienza a formar parte de los procedimientos de reproducción asistida habituales. La utilización de ovocitos vitrificados podría ser optimizada al co-cultivar los embriones obtenidos sobre células endometriales autólogas.

**BIOPSIA DE TROFOECTODERMO (BT): PERSPECTIVAS DE UNA
NUEVA ESTRATEGIA PARA EL DIAGNOSTICO Y SCREENING
GENETICO DE PREIMPLANTACION (DGP Y SGP) EN
BLASTOCISTOS HUMANOS**

PASQUALINI A

OBJETIVOS: 1) Desarrollar la puesta a punto de la técnica de biopsia de trofoectodermo en blastocistos humanos para protocolos de DGP y SGP. 2) Determinar su eficiencia y eficacia para la obtención de resultados median-

te la utilización de la técnica de FISH (Fluorescent In Situ Hibridization). 3) Realizar una evaluación comparativa de los alcances y limitaciones del análisis de cuerpos polares, blastómeros y blastocistos para DGP y SGP.

DISEÑO: revisión retrospectiva, con inclusión de datos de laboratorio.

MÉTODOS: se realizaron biopsias de trofoectodermo en 7 blastocistos que fueron diagnosticados como aneuploides mediante SGP en el 3er día del desarrollo. Luego de la fijación, se realizó el análisis de aneuploidías utilizando la técnica de FISH (Fluorescent In Situ Hibridization) con sondas para cromosomas 13, 21, 18, 16, X e Y, y en uno de ellos sondas específicas para cromosomas 5 y 20.

Los siguientes parámetros fueron evaluados para cada uno de los embriones:

- Nro de células obtenidas
- Relación de contigüidad de las mismas para garantizar confiabilidad del análisis mediante FISH.
- Eficiencia de la técnica de FISH para cada una de las sondas utilizadas.

RESULTADOS: se analizaron un total de 67 células provenientes de 7 embriones. La media de células obtenidas por embrión fue de 9.6. La eficiencia global del FISH fue del 97 %, siendo del 100 % para las sondas de los cromosomas 13, 18 y 21 y del 94 % para las restantes.

CONCLUSIONES: hemos demostrado que la biopsia de trofoectodermo de blastocistos humanos es técnicamente posible.

Esta nueva estrategia permitiría incrementar la eficiencia de los protocolos de DGP y SGP, dado que los blastocistos presentan una menor prevalencia de monosomías cromosómicas letales y anomalías caóticas que los embriones de 3er día de desarrollo.

El análisis mediante FISH en célula única presenta mayores posibilidades de error técnico debido a dificultades de tinción o presencia de mosaicismos.

El nivel de mosaicismo de los blastocistos humanos es inferior que el observado en estadios más precoces del desarrollo embrionario y el nivel de mosaicismo del trofoectodermo no es superior al observado en el macizo celular interno.

La metodología implementada para la biopsia de trofoectodermo permite la obtención de un número mayor de núcleos trofoblásticos para el análisis, garantizando así una mayor fortaleza para la evaluación de aneuploidías y aneusomías cromosómicas, no sólo desde el punto de vista técnico sino biológico.

DETECCIÓN DEL GEN SUPRESOR TUMORAL PTEN PARA LA OPTIMIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER DE ENDOMETRIO

PERANDONES CLAUDIA, MONCALERO VERA, SIPOWICZ PABLO, PASQUALINI SERGIO, VIGHI SUSANA, RADRIZZANI MARTÍN.

Laboratorio de Neuro y Citogenética Molecular, Escuela e Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de San Martín.

Halitus Instituto Médico M.T. de Alvear 2084, Cap. Fed.

Centro de Diagnóstico Susana Vighi, Sánchez de Bustamante 2640, Cap Fed.

OBJETIVOS: 1. Optimizar, mediante el desarrollo de una nueva herramienta tecnológica, el diagnóstico precoz de las hiperplasias de endometrio precursoras directas del carcinoma endometrial (CE).

2. Desarrollar un anticuerpo sintético o aptámero de ADN dirigido contra el extremo amino terminal de la proteína PTEN, dado que los carcinomas y las hiperplasias endometriales han mostrado una disminución de la expresión de dicha proteína en el 97 y 100 % de los casos evaluados.

3. Validar el análisis de la expresión de PTEN como herramienta diagnóstica y pronóstica para las lesiones pretumorales y cancerosas endometriales. MATERIALES: se seleccionaron muestras de tejido endometrial provenientes de 10 histerectomías con diagnóstico de CE. La presencia de CE, hiperplasias complejas típicas (HCT) y atípicas (HCA) y endometrio normal (EN) en cada espécimen fueron identificadas mediante los criterios establecidos internacionalmente.

MÉTODOS: 1. Diseño del aptámero de ADN.

2. Realización de inmunohistoquímicas con el aptámero y con el anticuerpo policlonal contra PTEN comercialmente disponible en CE, HCT, HA y EN.

3. Ensayos de Western blots.

4. Adquisición y análisis de imágenes mediante microscopía confocal.

RESULTADOS:

- Fue desarrollado un anticuerpo sintético o aptámero de ADN dirigido contra el extremo amino terminal de la proteína PTEN.

• La utilidad del aptámero fue analizada mediante técnicas "inmunohistoquímicas" en muestras de tejidos correspondientes a EN, HCT, HCA y CE.

• Los resultados fueron comparados con anticuerpos monoclonales considerados como "gold standard" y los resultados fueron aún superiores. El reactivo desarrollado permitió la identificación de lesiones con potencialidad de evolución a carcinoma endometrial, que no habían podido ser identificadas como tales mediante la evaluación histológica habitual.

CONCLUSIONES: el aptámero de ADN desarrollado permitió detectar y cuantificar la alteración de la expresión de la proteína PTEN en la totalidad de las HCT, HCA y CE.

La disminución de la expresión o función de PTEN es un marcador precoz de las lesiones endometriales precancerosas. Esto nos permite proponer la utilización del oligoanticuerpo contra PTEN para la identificación temprana de hiperplasias susceptibles a la transformación neoplásica.

Los cambios de expresión de la proteína PTEN, son elementos de valor diagnóstico y pronóstico para patologías como: cáncer de mama, cáncer de tiroides, cáncer de próstata, cáncer de colon, gliomas y endometriosis.

DISPERSIÓN DE LA CROMATINA ESPERMÁTICA Y LOS RESULTADOS DEL DESARROLLO PREIMPLANTATORIO IN VITRO

POLO ME, DUCATELLI ME, GALLO A, GIMONDI F, NEUSPILLER N, COCO R

Fecunditas-Instituto de Medicina Reproductiva-afiliado a la UBA.

robertococo@fecunditas.com.ar

INTRODUCCIÓN: existen varios métodos que miden la fragmentación del ADN. Uno de ellos es el SCD, sperm chromatin dispersion conocido con el nombre comercial de Halosperm®. El test se fundamenta en la respuesta diferencial que tienen los espermatozoides con ADN fragmentado respecto de los que no lo tienen. Los que tienen ADN fragmentado no desarrollan halo o es mínimo, mientras que los que no tienen ADN fragmentado desarrollan halos de dispersión. Se ha comunicado que cuando la tasa de fragmentación en los espermatozoides supera el 30% la chance para el logro de un embarazo a término es menor del 1%.

OBJETIVO: correlacionar en forma prospectiva los resultados de la dispersión de la cromatina espermática con los resultados del desarrollo preimplantatorio in vitro.

PACIENTES Y MÉTODOS: se realizaron 97 procedimientos de FIV e ICSI, 39 de ellos FIV, 51 ICSI y 7 FIV+ICSI. La edad de las mujeres fue 31,1±4,9 años. Todas las pacientes fueron estimuladas con gonadotropinas más agonistas de la GnRh. El eyaculado fue procesado primero con Swim Down y luego Swim Up. Una fracción de la suspensión de espermatozoides recuperados fue congelado y posteriormente procesado para medir la dispersión de la cromatina. Se analizaron los halos de 200 espermatozoides con objetivo de inmersión 60% y se clasificaron de acuerdo al tipo de halo en grande, mediano y sin halo.

Se registraron los datos de los procedimientos en cuanto a tasa de fecundación, clívidos, embriones de buena calidad, implantación y embarazo. Se analizó la correlación entre los porcentajes de halo y las variables del desarrollo preimplantatorio in vitro con el coeficiente de correlación r de Spearman.

RESULTADOS: de las 97 pacientes, 94 fueron transferidas con embriones. Las tasas de fecundación normal, clívidos tempranos, embriones de buena calidad e implantación fueron: 70,0%±21,0%, 18,0%±26%, 31,0%±26,0% y 12,0%±24,0%. El promedio de embriones transferidos fue 2,5±1.0. La tasa de embarazo clínico 30,8%.

El estadístico Rho de Spearman evidenció ausencia de correlación entre la dispersión cromatínica y las tasas de fecundación, clívidos, embriones de buena calidad e implantación. Tampoco se halló diferencia entre la dispersión cromatínica en los grupos de embarazo y no embarazo ni con el test no paramétrico Mann-Whitney ni el de Student.

DISCUSIÓN: de acuerdo con nuestra revisión de la literatura no encontramos trabajos similares al nuestro en los que relacionan dispersión cromatínica con los resultados del desarrollo preimplantatorio in vitro. Sin entrar a discutir si el test mide o no fragmentación del ADN, lo que sí podemos decir de acuerdo con nuestros resultados que el mismo no tiene influencia ni en la tasa de fecundación, clivaje temprano, buena calidad embrionaria e implantación. Por lo tanto, si tuviera un probable efecto se manifestaría luego del desarrollo preimplantatorio.

SEPARACION MAGNÉTICA POR COLUMNAS DE ANEXINAS V: FILTRADO MOLECULAR PARA LA SELECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES NO APOPTÓTICOS

VANESA Y RAWE, CRISTIAN ALVAREZ SEDÓ, HEYDY URIONDO, SERGIO PAPIER, SANDRA MIASNIK, FLORENCIA NODAR

OBJETIVO: la presencia de una elevada cantidad de espermatozoides apoptóticos tiene un impacto negativo en los resultados de reproducción asistida. La exposición de fosfatidilserina en los espermatozoides pre-apoptóticos es una propiedad que sirve para poder detectarlos y separarlos de la población afectada. La detección se logra por incubación con Anexina V acoplada a pequeñas esferas metálicas, y la separación se lleva a cabo a través del pasaje por un campo magnético. El objetivo del presente trabajo fue optimizar la integración de este nuevo método de 'filtrado molecular' de espermatozoides y probar su eficacia en la remoción de espermatozoides apoptóticos.

DISEÑO: descriptivo/Experimental

MATERIALES Y MÉTODOS: se analizaron 18 muestras de semen que previamente realizaron estudios de fragmentación de ADN espermático por la técnica de TUNEL y fueron agrupadas en 4 grupos: - Fragmentación del ADN $\geq 20\%$ con Inmovilidad total (GRUPO I) o con variables grados de movilidad (GRUPO II), con fragmentación del ADN 10-20% (GRUPO III) y con fragmentación del ADN $\leq 10\%$ (GRUPO IV). Se realizó Swim-up o Gradiente y pasaje de la suspensión de espermatozoides por las Columnas de Anexina V según especificaciones del proveedor. Se estudiaron 3 poblaciones: -la recuperada luego del Swim-up o Gradiente (Fracción Inicial), -la filtrada por la Columna de Anexina V (Fracción Negativa) y -la adherida a la matriz magnética (Fracción Positiva) evaluando la fragmentación del ADN (TUNEL), caspasa-3 activa (Inmunofluorescencia), movilidad y sobrevida. El análisis fue por microscopía de epifluorescencia y el estadístico usado fue ANOVA.

RESULTADOS: promedio de niveles de Fragmentación del ADN y caspasa-3 activa en las diferentes fracciones y grupos.

Grupos	FRACCIÓN INICIAL		FRACCIÓN NEGATIVA		FRACCIÓN POSITIVA	
	TUNEL	CASPASA-3	TUNEL	CASPASA-3	TUNEL	CASPASA-3
GRUPO I	35,50%	8,00% ^{NS}	17,00%	3,50% ^{NS}	82,50%	31,50% ^{NS}
GRUPO II	25,62%	11,12%	8,5%	3,12%	51,62%	14,12%
GRUPO III	15,33%	13,67% ^{NS}	6,33%	6,00% ^{NS}	35,33%	18,00% ^{NS}
GRUPO IV	6,50%	7,50% ^{NS}	3,00%	2,00% ^{NS}	32,00%	13,00% ^{NS}

Dentro de cada grupo se compararon los valores de TUNEL y CASPASA-3 de cada una de las tres fracciones estudiadas. Los valores de TUNEL en todos los casos y caspasa-3 en el GRUPO II son significativamente diferentes ($p < 0,03$). Movilidad y sobrevida no fueron diferentes en ninguna población. NS: No significativo.

CONCLUSIÓN: el uso de Columnas de Anexinas V no afecta la movilidad ni sobrevida y es muy efectivo en la remoción de espermatozoides apoptóticos. La Fracción Negativa muestra niveles normales de fragmentación del ADN y caspasa 3 activa en todos los grupos. Los espermatozoides apoptóticos quedan retenidos en la columna (Fracción Positiva). Este novedoso método demuestra la ventaja de la filtración molecular en la separación de espermatozoides apoptóticos lo que podría optimizar los resultados de técnicas de reproducción asistida.

ULTRAESTRUCTURA DE LA CROMATINA Y SU RELACIÓN CON EVENTOS DE APOPTOSIS EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS

VANESA Y RAWE, CRISTIAN ALVAREZ SEDÓ, HEYDY URIONDO, GUSTAVO ALVAREZ, HÉCTOR CHEMES

OBJETIVO: determinar si existen diferencias en la fragmentación del ADN en dos poblaciones con diferentes valores de alteración de la compactación de la cromatina estudiada por microscopía electrónica.

Diseño: Estudio retrospectivo.

Materiales y Métodos: se estudiaron 45 pacientes con indicación de microscopía electrónica de transmisión (ME) por presencia de teratozoospermia severa (criterio estricto de Tygerberg $\leq 4\%$). Los parámetros evaluados

fueron: edad, índice de fragmentación del ADN (técnica de Tunel) y grado de compactación de la cromatina (ME evaluado en 100 cabezas espermáticas). Los trastornos de la compactación-maduración cromatínica visualizados por ME (rarefacciones y vacuolas intranucleares) fueron clasificados como 'baja incidencia' cuando el porcentaje de las cabezas espermáticas afectadas fue $\leq 49\%$ (GRUPO I) y 'alta incidencia' cuando el porcentaje fue ≥ 50 (GRUPO II). Los pacientes fueron evaluados teniendo en cuenta la presencia de alguna noxa que afecte la espermatogénesis o a los espermatozoides durante el tránsito epididimario (varicocele, orquitis, criptorquidia, hidrocele, infecciones, etc.). El estudio de la fragmentación del ADN fue realizado a través de la técnica de Tunel con el conteo de 500 espermatozoides bajo microscopía de epifluorescencia. El estadístico utilizado fue Análisis de Varianza (ANOVA).

RESULTADOS: en el GRUPO I, el valor promedio de fragmentación del ADN (9,5%) fue significativamente inferior al del GRUPO II (15,3%, $p < 0,05$). Cabe notar, que en los pacientes del GRUPO I con presencia de alguna noxa, se observó un valor promedio de fragmentación del ADN del 11%, valor que no es estadísticamente significativo respecto de aquellos pacientes del mismo grupo sin las noxas (promedio de la fragmentación del ADN=8%). Por otra parte, en los pacientes del GRUPO II con presencia de alguna noxa, se observó un valor promedio de fragmentación del ADN del 20%, valor que es estadísticamente significativo respecto de aquellos pacientes del mismo grupo sin las noxas (fragmentación del ADN=10%, $p < 0,05$).

CONCLUSIÓN: los valores de fragmentación del ADN son significativamente mayores en los pacientes con porcentaje de alteración cromatínica mayor al 50% en relación con los pacientes con alteraciones $\leq 49\%$ y ésta es más evidente ante la presencia de algún factor que altere la calidad espermática. Se podría sugerir que los defectos en la compactación de la cromatina 'predisponen' al espermatozoide a una mayor susceptibilidad al daño oxidativo durante el pasaje por el tracto genital masculino.

REPRODUCIBILIDAD INTERCÍCLICA DE LA HORMONA ANTI-MÜLLERIANA Y SU CORRELACIÓN CON FOLÍCULOS ANTRALES, FSH Y ESTRADIOL.

RÉ IRMA, LIMA ANABELLA, LÓPEZ CARLA, SERPA IDELMA, BOTTI GUSTAVO, MORENTE CARLOS.

OBJETIVO: comparar las variaciones intercíclicas de Hormona Anti-Mülleriana (HAM), recuento de folículos antrales (FA), Hormona Folículo Estimulante (FSH), estradiol (E2), en dos ciclos menstruales consecutivos y establecer la correlación existente entre estas determinaciones en ambos ciclos.

DISEÑO: estudio prospectivo de cohorte.

MATERIALES Y MÉTODOS: se estudiaron 30 mujeres de parejas infértiles que realizaron tratamiento de alta complejidad en PROAR entre julio de 2007 y enero de 2008. La selección se llevó a cabo según los siguientes criterios: edad menor de 40 años, ciclos menstruales regulares (25-35 días), presencia de ambos ovarios y ausencia de administración previa de preparados hormonales. Se tomaron muestras de sangre de dos ciclos menstruales consecutivos para realizar las determinaciones séricas de HAM, FSH, E2 y se realizaron ecografías transvaginales para el recuento de folículos antrales (2-10mm) en fase folicular temprana (día 2-4). Las determinaciones de FSH y E2 fueron realizadas mediante quimioluminiscencia y las de HAM mediante ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), por el mismo operador.

Se calcularon los coeficientes de correlación intraclase en dos ciclos subsiguientes para HAM, FSH, E2, recuento de FA, y el coeficiente de correlación entre estas determinaciones.

RESULTADOS: la mayor reproducibilidad intercíclica se encontró para la HAM ($r=0.90$, $P=0.000$) y en menor proporción para FSH ($r=0.64$, $P=0.000$), ambas estadísticamente significativas. La reproducibilidad para FA fue débil ($r=0.32$, $P=0.04$) y no se halló correlación intercíclica para el E2.

En fase folicular temprana, la HAM se correlacionó fuertemente y en forma positiva con el número de FA ($r=0.76$, $P=0.000$ y $r=0.72$, $P=0.000$, respectivamente para cada ciclo), mientras que se encontró una correlación moderada y negativa con la FSH (-0.54 , $P=0.002$ y -0.49 , $P=0.006$), todas estadísticamente significativas. No hubo correlación entre HAM y E2.

CONCLUSIÓN: se encontró una notable consistencia ciclo a ciclo de los valores de HAM, en comparación con los marcadores habituales del status folicular. Esta evidencia respalda su rol como fidedigno predictor de la función ovárica.

EFFECTO DEL FACTOR MASCULINO SOBRE EL DESARROLLO DE EMBRIONES HASTA EL ESTADIO DE BLASTOCISTO

RUHLMANN CLAUDIO, TESSARI LAUTARO, GOROSITO FERNANDO, RUIZ RIVADENEIRA LUCIANO, GALANTE GABRIELA, MARTÍNEZ A GUSTAVO
Unidad de Fertilidad San Isidro, Buenos Aires, Argentina.

INTRODUCCIÓN: el espermatozoide aporta el 50% del genoma del embrión por lo cual tendrá vital importancia sobre el desarrollo del mismo. Esto ha sido considerado en forma insuficiente, especialmente desde el advenimiento del ICSI.

OBJETIVO: el objetivo del presente estudio fue comparar el resultado de la producción de blastocistos en parejas con diagnóstico de factor masculino alterado moderado o severo, en las cuales se realizó fertilización in vitro con técnica de ICSI vs. aquellos blastocistos provenientes de parejas con diagnóstico de factor masculino normal o levemente alterado en las cuales se realizó fertilización in vitro convencional.

DISEÑO: análisis retrospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: se compararon 488 ciclos consecutivos realizados con semen fresco en los que se transfirieron blastocistos, los cuales fueron separados en aquellos provenientes de casos con factor masculino normal o levemente alterados en los cuales se realizó FIV (217) y los provenientes de parejas con factor masculino moderado o severo como diagnóstico principal en las cuales se realizó fertilización in vitro con microinyección espermática con técnica de ICSI (271). Se excluyeron los casos en los cuales los espermatozoides fueron recuperados por biopsia testicular, punción de epidídimo y semen congelado. No se excluyeron parejas por edad, tiempo evolución de la esterilidad, ni intentos previos fallidos con técnicas de fertilización asistida.

Ambos grupos fueron comparables en edad, número de intentos previos, número de oocitos totales y número de oocitos maduros recolectados.

Luego de inseminados (FIV) o microinyectados (ICSI) los oocitos fueron cultivados entre 16-18 hs., momento en que se evaluó la fertilización. Luego del cultivo in vitro los embriones fueron transferidos en el día 5.

En todos los casos la transferencia se realizó con catéter de Frydman (CCD Laboratoires). El embarazo clínico fue confirmado por ultrasonografía transvaginal 28 a 30 días luego de la transferencia.

Las diferencias estadísticas fueron analizadas empleando el test de t o el test exacto de Fisher según correspondiera. $P < 0.05$ fue considerado significativo.

RESULTADOS: se encontraron diferencias significativas tanto en las tasas de oocitos fertilizados que llegaron al día 5 en un estadio transferible (mórula o blastocisto), como en la proporción de embriones producidos en los diferentes estadios evaluados. Se encontraron, además, diferencias significativas en la tasa de implantación (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de ciclos de transferencia de blastocisto producidos en factor masculino normal vs. factor masculino alterado.

	NORMAL	ALTERADO
Número de casos	217	271
Edad	34,2±3,9	33,9±4,1
Número de intentos	2,3±1,7	2,5±1,8
Número de oocitos recuperados	12,6±7,0	13,2±8,0
Número de oocitos maduros recuperados	9,7±5,9	10,0±5,3
Tasa fertilización	1374/1709 (80%)	1810/2298 (79%)
Embriones transferibles totales (día 5)	741/1374 (54%) *	845/1810 (47%) **
Mórulas	127/741 (17%) *	209/845 (25%) **
Blastocistos tempranos	146/741 (20%) *	203/845 (24%) **
Blastocistos en expansión	185/741 (25%) *	151/845 (18%) **
Blastocistos expandidos	253/741 (34%) *	248/845 (29%) **
Blastocistos eclosionando	30/741 (4%)	34/845 (4%)
Embriones transferidos	2,5±0,7	2,6±0,
Tasa de embarazo clínico	108/217 (50%)	124/271 (46%)
Tasa de implantación	122/553 (22%) *	123/709 (17%) **
Tasa de embarazos múltiples	23/108 (21%)	18/124 (15%)
Tasa de abortos	11/108 (10%)	13/124 (10%)
Tasa de embarazos ectópicos	2/108 (2%)	2/124 (2%)
Tasa de nacimientos	95/217 (44%)	109/271 (40%)

CONCLUSIONES: nuestros resultados sugieren que en pacientes con factor masculino alterado moderado o severo, los espermatozoides podrían tener un efecto negativo en la producción y desarrollo embrionario en cultivo prolongado. Esto se manifiesta en un crecimiento promedio mas lento en los embriones derivados de sémenes patológicos.

Estudios prospectivos aleatorizados comparando resultados de ICSI en factores masculinos normales y patológicos permitirán confirmar nuestros hallazgos.

IMPORTANCIA DE LOS NIVELES DE GHRELINA, ESTADO NUTRICIONAL Y BMI, COMO MARCADORES PREDICTIVOS DE EMBARAZO, EN UN PROGRAMA DE FIV (FERTILIZACIÓN IN VITRO)

SABATINI L.; YOUNG E (H); INZA R; PAZ D; MARCONI G; LOMBARDI E
IFER (Instituto de Ginecología y Fertilidad) Buenos Aires, Argentina.

OBJETIVO: el objetivo principal de nuestro trabajo fue comparar la relación que existe entre los niveles plasmáticos de Ghrelina y el BMI, con los resultados reproductivos de pacientes que realizaron tratamientos de alta complejidad en nuestro instituto.

El objetivo secundario correlacionar los niveles de Ghrelina en plasma con los de líquido folicular.

DISEÑO: estudio prospectivo, descriptivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: se analizaron 492 procedimientos de alta complejidad realizados en el IFER, entre el 05/06/07 y el 28/12/07. Se reclutaron así 39 pacientes que cumplieron con los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

- 1- Indicación de un tratamiento de alta complejidad, sea FIV o ICSI
- 2- BMI < 26
- 3- Ritmos menstruales conservados
- 4- FSH basal < 12
- 5- Edad < 40 años

Criterios de exclusión:

- 1- factor masculino severo
- 2- síndrome de ovario poliquístico o insulino-resistencia
- 3- Antecedente de falla previa de fertilización in vitro

Criterios de eliminación:

Se eliminaron del estudio pacientes con transferencias embrionarias que no fueran clase A. Se realizó dosaje de Ghrelina en el suero de la paciente del día de la punción ovárica y además se midió de Ghrelina en líquido folicular libre de lavado. En todas las pacientes se evaluó causa de infertilidad, FSH basal, BMI, ovocitos captados, ovocitos MII, ovocitos fertilizados, tasa de implantación, tasa de embarazo.

Resultados: Las 39 pacientes que cumplían los criterios de inclusión fueron divididas en 2 grupos: Grupo A (19) presentaban un BMI < 19 (16.57 ± 1.01) y Grupo B (20) con un BMI entre 20-25 (23.15 ± 2.03). No se hallaron diferencias en las características clínicas de ambos grupos. Las pacientes con bajo BMI presentaron niveles significativamente mayores de Ghrelina en plasma, menores valores de estrógeno y progesterona y menor tasa de embarazo clínico tal como muestra la tabla 1.

	BMI < 19 (19)	BMI 20-25 (20)	P
Tasa Implantación	12% (7/54)	33% (18/54)	NS
Tasa Embarazo	26% (5/19)	65% (13/20)	<0.05
Calidad Embrionaria	Clase IV 28% III 46%	IV 32% III 49%	NS NS
Estradiol plasmático	823.52 ± 501.54	1317.35 ± 661.59	<0.05
Progesterona plasmática	9.8 ± 5.85	17.04 ± 10.14	<0.05
Ghrelina Plasmática (ng/ml)	2.38 ± 0.63	0.47 ± 0.24	<0.05

Los niveles de Ghrelina encontrados en plasma sanguíneo muestran una correlación lineal con los encontrados en líquido folicular.

CONCLUSIONES: probablemente la causa de los pobres resultados reproductivos en pacientes con bajo peso que realizan TRA no es una sola. Sin lugar a dudas existen muchos factores conocidos como son los bajos niveles de Leptina, las alteraciones en la secreción de la CRH, la alteración en el eje tiroideo, y muchos otros factores que probablemente se develarán en el futuro. Creemos que la Ghrelina, debido al importante rol que cumple en la homeostasis energética del organismo y su relación con la función reproductiva, sería uno de los tantos mediadores que intentarían impedir el desarrollo de un embarazo en aquellos estados donde el organismo no se encontraría en condiciones para llevarlo a cabo. Además el hecho de presentar una correlación lineal entre los niveles de Ghrelina en plasma y líquido folicular, dosajes sanguíneos de esta hormona nos permitiría saber también que es lo que está sucediendo a nivel gonadal.

EFFECTO DEL CELULAR SOBRE LOS PARÁMETROS SEMINALES EN PACIENTES QUE CONSULTAN POR INFERTILIDAD

SAD JOSÉ,^{1,3} MOLINA ROSA,² TISSERA ANDREA,² MOLINA GUILLERMO,¹ METREBIAN SERGIO,¹ ESTOFAN DANIEL³

¹ Hospital Privado de Córdoba.

² Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR).

³ Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción (CIGOR).
Info@lablar.com Te/Fax: (0351) 468-2562 469-1986

INTRODUCCIÓN: los teléfonos celulares se han convertido en una herramienta indispensable para la vida moderna. Hay varios trabajos publicados sobre el efecto de ondas de electromagnéticas (EMW) y de radio frecuencia (RF) emitidas por estos dispositivos sobre los sistemas biológicos animales y humanos. Estudios recientes sugieren que las EMW emitidas por teléfonos celulares pueden disminuir la fertilidad de los hombres (Davoudi et al. 2002; Fejes et al., 2005; Kilgallon and Simmons, 2005; Eroglu et al., 2006; Agarwal et al., 2007).

OBJETIVO: evaluar el efecto adverso del uso de celular en los parámetros seminales y su posible potenciación con la presencia o no de varicocele, en un grupo de pacientes que consultan por infertilidad.

DISEÑO: estudio prospectivo.

MATERIAL Y MÉTODO: se realizó la investigación prospectiva desde Enero hasta Noviembre 2008 de 1.977 pacientes. Se completó para cada paciente un cuestionario específico a tal fin. Los parámetros seminales fueron evaluados según normas OMS 1999. Luego de excluir los pacientes que presentaban hábitos tóxicos (fumar/beber), antecedentes de trabajar con agroquímicos, tomar medicación crónica, criptorquidia, fiebre urleana, alteraciones hormonales y cirugías genitourinarias, se estudiaron 928 pacientes, los cuales fueron divididos para el estudio en dos poblaciones: con varicocele (CV) y sin varicocele (SV). Ambas poblaciones fueron divididas a su vez en 3 grupos según horas de portar celular en la cintura C1 (1 a 4 hs), C2 (5 a 10 hs) y C3 (>10 hs).

Para el análisis estadístico se realizaron Análisis de la Covarianza (AnCova). Se utilizó prueba de Tukey como post-hoc (alfa < 0,05). Se realizó también un Análisis de la Covarianza Multivariado (MANCOVA), utilizando todos los parámetros a la vez y como post-hoc a la Prueba Hotelling con ajuste Bonferroni. Una p < 0,05 se consideró estadísticamente significativa.

RESULTADOS: tomados individualmente, no existió diferencia significativa en ningún parámetro seminal entre los grupos de ambas poblaciones.

Tomando todos los parámetros a la vez, se encontraron diferencias significativas multivariadas, tanto para el efecto varicocele (F=2,19; p=0,014), como para el efecto portar celular (F=1,68; p=0,026).

El uso de celular más de 10 hs en los pacientes SV, y de 5 o más hs en los CV deteriora los parámetros seminales. Además en los pacientes SV que usan celular más de 10 hs, se observan parámetros globalmente similares a los pacientes CV que portan más de 5 horas.

CONCLUSIÓN: se observa un deterioro de los parámetros seminales al portar celular en la cintura, mayor a más horas de portación. La combinación varicocele y portar celular es más nociva que ambos factores por separado. Estos resultados preliminares conllevan a sugerir a los pacientes que buscan fertilidad, no portar el celular en la cintura y menos aun si tienen varicocele.

TRATAMIENTO ANTIANGIÓGENICO CON UN AGONISTA DE GnRH EN EL SÍNDROME DE HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA (OHSS) DESARROLLADO EN ROEDOR

SCOTTI LEOPOLDINA,¹ ABRAMOVICH DALHIA,¹ IRUSTA GRISELDA,¹ HERNANDEZ FÁTIMA,¹ TESONE MARTA,^{1,2} Y PARBORELL FERNANDA¹

¹ Instituto de Biología y Medicina Experimental, Buenos Aires, Argentina

² Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

El Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (OHSS) es una complicación iatrogénica ocasionada por la inducción de la ovulación en tratamientos de fertilización asistida, que involucra una sobreproducción de hormonas esteroideas y sustancias vasoactivas como el VEGF. Estos factores contribuyen al aumento de permeabilidad vascular y a la formación de quistes ováricos. Previamente, en nuestro laboratorio se mostró, en un modelo de OHSS desarrollado en roedor, que el tratamiento con un agonista de GnRH (LA) aumenta el % de folículos antrales tempranos y disminuye el % de cuerpos lúteos en formación (CL). En base a estos resultados, el objetivo del presente estudio fue analizar en dicho modelo el efecto in vivo de LA sobre los niveles de VEGF, el peso ovárico, la apoptosis, la luteólisis estructural, la proliferación celular y la estabilidad vascular.

Se utilizaron ratas hembras prepúberes y se dividieron en 3 grupos. El grupo control fue inyectado con PMSG (10UI) y luego de 48 hs con hCG (10 UI) para inducir la ovulación. El grupo OHSS fue inyectado con altas dosis de PMSG (50UI) durante 4 días y luego de 24 hs se le inyectó hCG (25 UI). El grupo OHSS+LA recibió además LA (100 µg/kg/día) desde el primer día de PMSG durante 4 días consecutivos. Las ratas se sacrificaron 48 hs después de la inyección de hCG. Se realizaron cortes de ovario para tinción con H&E e inmunohistoquímica (IHQ) para PCNA (marcador de proliferación) y para pericitos y se extrajo el líquido peritoneal para medir VEGF. Se utilizó el programa Prism (GraphPad software). El análisis de varianza se realizó usando el test de Tukey que compara todos los grupos entre sí.

Los resultados mostraron que en el grupo OHSS+LA disminuyen los niveles de VEGF comparado al grupo OHSS (p<0,001). Además, el tratamiento con LA disminuyó el peso ovárico, el diámetro de los CL (indicador de luteólisis estructural) asociado a un aumento en el número de células apoptóticas y disminuyó la proliferación de células luteales (p<0,05). Además, LA disminuyó el área de pericitos en los CL, indicando una disminución en la estabilidad vascular.

En conclusión, estos resultados muestran en un modelo de OHSS desarrollado en roedor, que el LA disminuye los niveles de VEGF en líquido peritoneal, aumenta la apoptosis de células luteales y disminuye su proliferación, además se ve afectada la estabilidad vascular del CL, llevando a la regresión del mismo. Estos datos sugerirían que en ciclos de hiperestimulación ovárica, la administración continua de LA podría reducir el riesgo de contraer OHSS severa.

POCOS ÓVULOS EN PACIENTES JOVENES: ES SINONIMO DE MAL PRONOSTICO?

TERRADO GUILLERMO, DE ZÚÑIGA IGNACIO, KOPCOW LAURA, SOBRAL FABIO, MONTANARI CARLOS Y BISIOLI CLAUDIO.

Pregna Medicina Reproductiva – CEMIC, Buenos Aires, Argentina.

A - OBJETIVO: evaluar y comparar los resultados reproductivos en términos de tasas de fertilización, implantación y embarazo en un grupo de pacientes de buen pronóstico por edad y FSH, pero con baja respuesta folicular y número de ovocitos captados (≤ 5).

B - DISEÑO: estudio de cohorte, retrospectivo.

C - MATERIAL Y MÉTODO: entre Agosto de 2007 y Julio de 2008, sobre 315 pacientes del programa de FIV se analizaron, 78 pacientes de buen pronóstico (menores de 36 años, eumenorreicas, con niveles de FSH basal < 12 mUI/ml y Estradiol basal < 60 pg/ml). Se dividieron las pacientes en dos grupos, de acuerdo al número de ovocitos captados: grupo A (≤ 5) y grupo B (>5). Ambos grupos eran similares respecto a la edad, FSH, estradiol basal, tipo de esquema de inducción y nº de ampollas utilizadas.

Se ingresaron los datos al sistema estadístico Stata 8.0. De acuerdo a las variables analizadas (numéricas o comparación de proporciones) se utilizó: Ttest y los Test de Chi2 o Test de Fisher según el tamaño muestrario.

D - RESULTADOS: en la tabla nº 1 se describen los resultados comparativos entre ambos grupos y su significancia estadística.

Tabla Nº 1

	Grupo 1 (≤5 ovos)	Grupo 2 (> 5 ovos)	p
Nº de pacientes	16	62	.
Edad	32.1 ± 2.9	31.5 ± 2.8	0.4
Fsh (mIU/ml)	6.6 ± 1.9	6.5 ± 1.8	0.8
Ovocitos captados	3.2 ± 1.0	11.8 ± 4.5	0.001
Tasa de fertilización	88.8 ± 18.5	79.1 ± 16.0	0.04
Tasa de embarazo	31 % (5 / 16)	43 % (27 / 62)	0.1
ET	1.9 ± 0.6	2.3 ± 0.5	0.01
Emb. múltiple	20 % (1 / 5)	33 % (9 / 27)	0.7

E - CONCLUSIONES: pacientes de buen pronóstico clínico que "inesperadamente" presentan una baja respuesta folicular, pueden lograr tasas de fertilización (88%) y embarazo (31%) acordes a las expectativas iniciales. Resultado reproductivo en FIV en pacientes con endometriosis en diferentes estadios.

RESULTADO REPRODUCTIVO EN FIV EN PACIENTES CON ENDOMETRIOSIS EN DIFERENTES ESTADIOS

VALCARCEL ALBERTO, TIVERON MARISA, AUGÉ LUIS, SABATINI LUCIANO, MARCONI GUILLERMO, VILELA MARTÍN
 IFER (Instituto de Ginecología y Fertilidad de Buenos Aires), Argentina.

OBJETIVO: la endometriosis constituye una de las principales causas de infertilidad. Sin embargo, la clasificación de la ASRM genera el hecho de encontrarnos ante pacientes con el mismo diagnóstico, pero con un pronóstico diferente según el estadio. Por ello nos propusimos como objetivo evaluar el desempeño en fertilización in Vitro (FIV) de pacientes con Endometriosis I-II y Endometriosis III-IV en comparación con dos grupos control: pacientes con factor tuboperitoneal (FTP) y ESCA.

Diseño: Retrospectivo de casos y controles.

MATERIALES Y MÉTODOS: se evaluó a la totalidad de pacientes que realizaron fertilización in Vitro en el IFER durante el período 2004-2005; se incluyeron a aquellas que cumplieran con diagnóstico único de ESCA, Factor Tubo Peritoneal y endometriosis y con muestras de semen normales según la OMS; se excluyeron a aquellas parejas con factores combinados. De las 2113 pacientes que realizaron FIV en ese período, 231 cumplieron con los criterios de inclusión y fueron divididas en 4 grupos; Grupo A: ESCA (57); Grupo B: FTP (54); Grupo C: EDT I-II (62); Grupo D: EDT III-IV (58). Las variables estudiadas para cada grupo fueron: Edad; promedio de ovocitos MII; tasa de fecundación; calidad embrionaria; embriones transferidos; tasa de embarazo; tasa de implantación; tasa de aborto y tasa de nacidos vivos.

RESULTADOS: el número de ovocitos MII captados resultó significativamente menor en pacientes con EDT III-IV (3.7 ± 2.6), comparado con las pacientes con EDT I-II (6.1 ± 3.1), FTP (7.7 ± 3.2) y ESCA (8.7 ± 3.4). No se encontró diferencia significativa en las tasas de fecundación, sin embargo, el número de embriones logrados en pacientes con EDT III-IV (2.5 ± 1.6) fue significativamente menor al de los grupos control (EDT I-II 3.4 ± 1.4; FTP 3.7 ± 1.2 y ESCA 4.4 ± 1.3). De igual manera las pacientes con EDT III-IV presentaron tasas de embarazo e implantación significativamente inferiores al de las pacientes con EDT I-II y los grupos control.

Población	ESCA	FTP	EDT 1 Y 2	EDT 3 Y 4
Tasa de Embarazo (%)	64,9 a (37/57)	44,4 b (24/54)	40,3 b (25/62)	27,8 c* (15/54)
Tasa implantación (%)	25,3 a (48/190)	23,5 a (38/162)	19,9 a (36/181)	15,3 b (18/118)
Tasa de aborto/transfer (%)	16,2 (6/37)	16,7 (4/24)	16,0 (4/25)	16,7 (3/18)
Tasa de nacimiento/transfer (%)	54,4 a (31/57)	37,0 ab (20/54)	33,9 b (21/62)	22,2 b (12/54)

* los índices distintos presentan diferencias estadísticamente significativas

CONCLUSIONES: el desempeño reproductivo inferior que caracteriza a las pacientes con endometriosis severa se originaría principalmente por el menor número de ovocitos captados y no por la calidad de los ovocitos que presentan estas pacientes. La consecuencia de ello se demuestra por las tasas significativamente menores de embarazo e implantación de las pacientes con estadios más avanzados de la enfermedad.

CORRELACIÓN ENTRE MARCADORES ANGIOGÉNICOS ENDOMETRALES Y PATRONES DE RESPUESTA ECOGRÁFICOS EN PACIENTES ESTÉRILES

YOUNNG EDGARDO (H); PAZ DANTE; YURI MÓNICA; AUGÉ LUIS; YOUNG EDGARDO; SABATINI LUCIANO.

IFER (Instituto de Ginecología y Fertilidad) Buenos Aires.

OBJETIVO: evaluar si existen diferencias en los parámetros vasculares uterinos entre mujeres estériles, comparado con un grupo control de pacientes sin trastornos de fertilidad, analizando para ello parámetros histoquímicos, cuantificados según la abundancia de VEGF en endometrio, y dinámicos, analizados a través de ecografía Power Doppler uterina.

Diseño: Se realizó un estudio observacional de corte transversal en el que se analizaron dos grupos de mujeres: las pacientes fértiles, y las que consultan por esterilidad.

MATERIAL Y MÉTODOS: mujeres menores de 40 años, en edad fértil, que consultan al IFER (Instituto de Ginecología y Fertilidad, Buenos Aires, Argentina) en forma consecutiva en el período comprendido entre 01/09/2002 y 31/07/2004 y que consintieron en participar del presente estudio.

Se dividió a las pacientes en 2 grupos: Grupo control (9) consultaron para realizar control ginecológico y presentaban antecedentes de paridad cumplida al momento de la consulta y Grupo de pacientes estériles (55), con diferentes diagnósticos de esterilidad.

A todas las pacientes se les practicó una biopsia endometrial entre los días 11 y 16 del ciclo menstrual, y se le realizó Inmunohistoquímica e inmunofluorescencia, para poder confirmar la presencia de VEGF en el endotelio de los vasos sanguíneos.

El mismo día se realizó una ecografía Doppler color transvaginal con el objetivo de evaluar el flujo sanguíneo del útero en condiciones basales. El análisis estadístico se realizó mediante un T-test en aquellos casos en los que se compararon variables continuas de distribución paramétrica en dos grupos, y un análisis de regresión lineal para aquellos casos con resultados continuos que requerían ajuste por otras variables posiblemente confundidoras.

RESULTADOS: el promedio del índice de pulsatilidad (IP) en el grupo de pacientes infértiles fue mayor a 3 mientras que en el grupo de las fértiles fue menor a 1,95, resultando ser esta diferencia significativa (P<0,05). No se observan diferencias de acuerdo al diagnóstico de esterilidad. Aquellas mujeres con diagnóstico de endometriosis presentaron mayor porcentaje de tejido marcado con VEGF que las mujeres sin trastornos en la fertilidad (46% vs 29,7%, p=0.05); esta diferencia no se describe en mujeres con otros diagnósticos de esterilidad. Las diferencias en el grupo de pacientes con endometriosis no se hallaron cuando fue evaluado el parámetro Doppler.

CONCLUSIONES: las pacientes con diagnóstico de esterilidad presentan un elevado índice de pulsatilidad constituyendo una limitante de la tasa de implantación tal como ya ha sido demostrado. Las pacientes con diagnóstico de endometriosis presentaron una mayor marcación con VEGF. Si bien estas pacientes son eumenorreicas, dicho aumento en la proliferación vascular puede explicar la presencia de mecanismos inflamatorios que alteran la implantación embrionaria. No existe correlación lineal entre vascularización endometrial y los parámetros ecográficos e inmunohistoquímicos.