

PRESENTACIONES ORALES

PRESENTACION ORAL - 1

EXPRESION Y FUNCION DE LOS GLUCOTRANSPORTADORES EN EL ENDOMETRIO HUMANO: EFECTO DEL SINDROME DE OVARIO POLIQUISTICO Y EL TRATAMIENTO CON METFORMINA

M. PUSTOVRH [*];
IFIBYNE-CONICET-UBA- IDIMI, , AR

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es la endocrinopatía más frecuente de la mujer en edad reproductiva. Alteraciones metabólicas como la hiperinsulinemia, la resistencia a la insulina y la obesidad son características asociadas a este síndrome, que en la actualidad juegan un papel relevante en esta patología.

Objetivos: Evaluar la expresión y función de GLUT1 y GLUT4 en el endometrio de: mujeres control (C) en diferentes fases del ciclo menstrual, SOP con o sin insulinorresistencia (IR) y SOP IR tratadas con metformina (M). Metodología: El tejido endometrial C fue obtenido de mujeres con fertilidad comprobada que se sometieron a salpingoligadura (proliferativo, n=8 y secretor, n=6), mujeres SOP anovulatorias con o sin IR (n=8 y n=6) y SOP IR que recibieron 1700 mg/día de M durante 2 años. Protocolo aprobado por el comité de ética del HCSBA. Se extrajo ARN total del tejido para analizar la expresión de los GLUTs por qRT-PCR. La proteína GLUT4 fue evaluada por inmunohistoquímica. En explantes endometriales se estudió el transporte de glucosa por incorporación de 2-desoxy-[3H]-glucosa (2-DG) en condiciones basales y bajo estímulo de insulina (100 ng/ml).

Resultados: En endometrio secretor C la expresión de GLUT1 aumentó y de GLUT4 disminuyó comparado con el grupo proliferativo ($p < 0,01$ y $p < 0,05$). En el tejido endometrial de los diferentes grupos SOP la expresión de GLUT1 no presentó cambios. Los niveles de ARNm y proteína de GLUT4 fueron menores en el endometrio SOP IR comparado con proliferativo C, SOP nIR y SOP IR M ($p < 0,05$). El transporte de 2-DG, en el endometrio del grupo SOP IR se encontró reducido en condiciones basales ($p < 0,05$). Insulina aumentó la captación basal de 2-DG en los endometrios proliferativo C ($p < 0,02$), SOP nIR ($p < 0,05$) y SOP IR M ($p < 0,001$), siendo incapaz de estimular la incorporación de glucosa en el tejido endometrial de los grupos SOP IR y secretor C.

Conclusión: Existe una dinámica fisiológica en la expresión de GLUT1 y GLUT4 en el endometrio a lo largo del ciclo menstrual. Siendo GLUT1 preponderante en la fase secretora. El endometrio del grupo SOP IR, es resistente a la acción de insulina. Esta resistencia estaría asociada a la disminución en la expresión de GLUT4. Metformina es capaz de incrementar la expresión de este transportador, recuperando la capacidad moduladora de insulina sobre la captación de glucosa en el endometrio de pacientes SOP IR. (Fogarty Grant RFA-TW-05-002. FONDAF 150100006)

PRESENTACION ORAL - 2

FRAGMENTACION DEL ADN REDUCIDA EN ESPERMATOZOIDES SELECCIONADOS POR LA PROGESTERONA, Y SU POTENCIAL USO EN MEDICINA REPRODUCTIVA.

I. MORENO [*]; D. UÑATES; M. MONTESINOS; L. GATICA; A. GUIDOBALDI; L. GIOJALAS
Centro de Biología Celular y Molecular, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, AR

Introducción: Recientemente, en nuestro laboratorio hemos desarrollado un método denominado "ESE" (Ensayo de Selección Espermática; Patente en trámite), que selecciona y concentra los espermatozoides capacitados en base al movimiento quimiotáctico hacia la Progesterona. Por otra parte, la fragmentación del ADN espermático tiene una influencia negativa en el resultado de la fertilización asistida. Si bien el "ESE" selecciona a los espermatozoides capacitados, y sólo éstos están en condiciones fisiológicas de fertilizar al óvulo, no conocemos el estado de fragmentación del ADN de esta subpoblación espermática.

Objetivo: Evaluar el nivel de fragmentación del ADN en la población de espermatozoides seleccionada con el "ESE".

Materiales y Métodos: La proporción de espermatozoides con el ADN fragmentado se evaluó mediante el “Comet Assay” en diferentes poblaciones espermáticas: antes de la capacitación, después de la capacitación, después de la selección con el “ESE” en presencia o ausencia de Progesterona.

Resultados: Los resultados preliminares indican que el porcentaje de espermatozoides con el ADN fragmentado antes de la capacitación es $27\% \pm 5\%$, valor que se eleva significativamente después de la capacitación espermática a $62\% \pm 6\%$ ($p < 0.05$). Cuando la población espermática pasa por la cámara del “ESE” en ausencia de Progesterona, el porcentaje de espermatozoides con el ADN fragmentado no se modifica ($60\% \pm 7\%$). Por el contrario, en presencia de Progesterona la proporción de espermatozoides con el ADN fragmentado se reduce significativamente a valores similares a los observados antes de la capacitación ($32\% \pm 7\%$; $p < 0.05$). **Conclusiones:** Estos resultados preliminares sugieren que la selección espermática con el “ESE” en presencia de Progesterona, no solo selecciona y concentra los espermatozoides capacitados, sino que también reduce significativamente la proporción de espermatozoides con el ADN fragmentado. El uso de esta población espermática podría mejorar significativamente el resultado de la fertilización asistida, especialmente en la aplicación de ICSI.

PRESENTACION ORAL - 3

USO DE ANTICONCEPTIVOS ORALES COMO PRETRATAMIENTO EN PROTOCOLOS DE ESTIMULO CON ANTAGONISTAS GNRH: ESTUDIO RANDOMIZADO.

L. PORRATI [*]; M. VILELA; M. VIGLIERCHIO; A. VALCARCEL; E. LOMBARDI; G. MARCONI;
IFER - Instituto de Ginecología y Fertilidad, C. A. B. A., AR

Introducción: Los anticonceptivos orales (ACO) permiten programar procedimientos de FIV, Su efecto sobre el resultado de dichos ciclos es controvertido. Realizamos un estudio prospectivo, randomizado, comparando los resultados en ciclos de FIV con y sin pretratamiento con ACO. **Materiales y Métodos:** Se randomizaron 150 pacientes con indicación de FIV. Criterios de inclusión: < 39 años, FIV primer intento, FSH < 12 mUI/ml. Pacientes con PCO, cirugía ovárica previa o realización de TESE fueron excluidos. Grupo A (N=75): pretratamiento con 0.02 mg etinilestradiol 0.1 mg levonorgestrel durante 21 días en el ciclo previo.

Estimulación: FSH recombinante (rFSH) 200 UI/día desde el día 2-3 del ciclo. Grupo B (N=75) Igual esquema de estímulo, sin pretratamiento. Ambos grupos recibieron antagonistas de GnRH (Cetrorelix 0.25 mg subcutáneo-protocolo flexible), comenzando con folículo de 14 mm, continuando diariamente hasta el día de aplicación de la hCG (250 μ g rec). Objetivo primario: tasa de embarazo. Objetivos secundarios: días de estímulo, dosis de gonadotrofinas, número de ovocitos MII, tasa de fertilización, embriones de buena calidad y tasa de implantación. Análisis estadístico: χ^2 test (datos categóricos), t test (datos paramétricos).

Resultados: Se asignaron 75 pacientes a cada grupo. Se cancelaron 6 ciclos (4 grupo A y 3 grupo B). No se observó diferencia significativa en la dosis de gonadotrofinas (2360 ± 748 UI vs 2233 ± 499 UI, NS), N° días de estímulo ($10,3 \pm 1,7$ vs $10,3 \pm 1,4$, NS), ovocitos captados [$10,1 \pm 6$ ($7,4 \pm 4,7$) vs $11,9 \pm 7,7$ ($9,1 \pm 5,9$)], tasa de fertilización (72.3% vs 76.6% , NS), N° de embriones ($5,2 \pm 3,6$ vs $6,2 \pm 3,9$, NS), tasa de embriones de buena calidad (48.8% vs 64.9% , NS), tasa de implantación (20.7% grupo A vs 15.8% grupo B, NS) La tasa de embarazo fue significativamente mayor en el grupo A ($40/71$, 56.3% grupo A vs $27/72$, 37.5% grupo B, $p < 0.05$).

Conclusión: El tratamiento previo con ACO en ciclos de estimulación con antagonistas de GnRH, no afecta el número ni la calidad de ovocitos. En nuestra experiencia, aumentó significativamente la tasa de embarazo. Dado que además, permite programar el ciclo sin interferir con la respuesta ovárica, constituye una herramienta valiosa en este tipo de protocolos de estimulación ovárica.

PRESENTACION ORAL - 4

EFFECTO DE LPS EN LA RESPUESTA INMUNE MATERNA MEDIADA POR VIP EN EL MODELO IN VITRO DE DIALOGO MATERNO FETAL

L. FRACCAROLI [*]; E. GRASSO; V. HAUKE; S. AZZAM; E. LOMBARDI; C. PÉREZ LEIRÓS; R. RAMHORST
Laboratorio de Inmunofarmacología, Dpto. Química Biológica, UBA - Instituto de Fertilidad (IFER), AR

La implantación embrionaria requiere de una respuesta inflamatoria/Th1 controlada y su desregulación puede comprometer el embarazo. Las células trofoblásticas expresan receptores tipo Toll 4 (TLR-4) que a través de la interacción con LPS generan una respuesta inflamatoria controlada en la decidua materna. Dado que el VIP (péptido intestinal vasoactivo) posee efectos anti-inflamatorios y tolerogénicos, estudiamos su capacidad de modular la respuesta inmune materna en el diálogo materno-fetal en presencia de LPS. Para esto, se realizaron cocultivos de células trofoblásticas (línea celular Swan-71 de citotrofoblasto de primer trimestre) y células mononucleares totales (MNT) maternas de mujeres fértiles o con aborto recurrente espontáneo (ARE) en presencia de LPS (0.01ug/ul) y VIP (10-7M). VIP disminuyó significativamente la producción de nitritos y MCP-1 y aumentó la de IL-10 (método de Griess y ELISA respectivamente) ($p < 0.05$ M. Whitney test) en presencia de LPS en ambos grupos de mujeres.

Asimismo, VIP aumentó específicamente la frecuencia de células CD4+CD25+Foxp3+ y la expresión de TGF β . Sin embargo, en pacientes con ARE, el aumento fue significativamente mayor en presencia de VIP+LPS alcanzando los niveles observados en las mujeres fértiles. Seguidamente, investigamos la producción de VIP en linfocitos CD4+ por análisis de citometría de flujo y la expresión de su receptor VPAC1 por RT-PCR. Luego de 24 h de cocultivo con las células Swan-71, las pacientes con ARE presentaron menor frecuencia de células CD4+ VIP+ y menor expresión de VPAC1 comparadas con las mujeres fértiles (10,9 \pm 1,6% vs 1,5 \pm 1,5%; $p < 0.05$ M. Whitney test). LPS no aumentó la producción de VIP pero indujo un aumento en la expresión del receptor VPAC1 en estas pacientes. Por otra parte, analizamos la expresión de los receptores VPAC1 y 2 en las células Swan-71 luego de la incubación con LPS durante 6 h. El receptor VPAC1, constitutivo, aumentó su expresión en respuesta a LPS. Además, el receptor VPAC2 también fue inducido por LPS. El conjunto de los presentes resultados nos permiten concluir que VIP es capaz de modular la respuesta inmune materna tanto en las mujeres fértiles o con ARE; sin embargo, el LPS potenciaría sus efectos en las pacientes aumentando la expresión de VPAC1 en sus MNT. Además, en las células trofoblásticas, el LPS aumentaría tanto la expresión de VPAC1 así como la expresión de VPAC2.

PRESENTACION ORAL - 5

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE BPA EN ETAPAS CLAVE DE LA MADURACION SEXUAL

N. CARDOSO [*]; M. PANDOLFI; O. PONZO; S. CARBONE; R. PENALBA; M. DICUGNEO;
P. SCACCHI; R. REYNOSO

Laboratorio de Endocrinología Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina UBA Facultad de Medicina CONICET. Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. FCEyN-UBA.
Hospital Británico, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, AR

El Bisfenol A (BPA) es un compuesto estrogénico utilizado en la fabricación de plásticos policarbonatos, que tiene efectos deletéreos sobre el eje reproductor de los individuos expuestos y el de su descendencia. Los datos disponibles sugieren que BPA actúa sobre el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal de ratas hembra modificando los procesos de maduración del mismo. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del BPA sobre la maduración del eje reproductor de ratas hembra peripúberes (30 días de edad) expuestas al DE desde el inicio de la gesta y durante la lactancia (Grupo 1, 2.5 mg/kg/día) y otro grupo (Grupo 2, 6.0 mg/kg/día) expuesto desde los 21 días de vida y hasta los 30 días de edad. Se administró BPA en el agua de bebida a la rata madre y etanol al 0.1% (grupo control), (n=10/grupo). Se determinó LH, FSH, (RIA,ng/ml), estradiol (ELISA, pg/ml), se evaluaron peso corpo-

ral y pesos relativos de útero y ovario. Se realizó estudio histológico de cortes de ovario y útero. En el grupo 1, los niveles de LH y estradiol aumentaron significativamente (Control: 11 ± 1.0 vs BPA: 40 ± 4.0 , $p < 0.001$; Control: 20 ± 0.5 vs BPA: 40 ± 2.0 , $P < 0.0001$), mientras los de FSH mostraron tendencia al aumento pero el mismo no fue significativo. Los pesos corporales y los pesos relativos de ovario y útero no se modificaron con el tratamiento. El estudio histológico mostró mayor número de folículos maduros y desarrollo de células de la teca y estroma ovárico y epitelio cilíndrico en útero de los animales tratados. En el grupo 2, LH y estradiol aumentaron significativamente (Control: 3.3 ± 0.3 vs BPA: 5.1 ± 0.3 , $p < 0.01$; Control: 25.0 ± 0.5 vs BPA: 27.1 ± 0.7 , $p < 0.05$) y FSH si bien mostró tendencia a aumentar, ésta no fue significativa. Los pesos corporales y los pesos relativos de ovario y útero no se modificaron con este tratamiento. En la histología se observa mayor desarrollo de la teca interna y un mayor número de folículos maduros en los animales tratados. No se encontraron diferencias evidentes en el alto del epitelio uterino ni en las características histológicas del endometrio y miometrio. La exposición aguda o crónica a BPA en etapas clave de la maduración sexual modifica la actividad del eje reproductor. Los resultados obtenidos sugieren que BPA ejercería su efecto estrogénico, reforzando el mecanismo de retroalimentación positivo.

PRESENTACION ORAL - 6

DIFERENCIAS SEXUALES EN EL EFECTO DE LA EXPOSICION POSNATAL A FTALATO SOBRE EL EJE REPRODUCTOR Y EL COMPORTAMIENTO SIMIL ANSIEDAD EN RATAS PUBERES

M. GOBETTO [*]; R. CUTRERA; P. SCACCHI; O. PONZO; R. REYNOSO; N. CARDOSO;
J. MOGUILEVSKY; S. CARBONE

Laboratorio de Neuroendocrinología; Laboratorio de Neurobiología y Ritmos. Depto. de Fisiología, Facultad de Medicina, UBA., Ciudad Autónoma de Buenos Aires, AR

Estudios recientes asocian la disminución en la distancia anogenital y cambios en el comportamiento de neonatos con la presencia de ftalato en orina de mujeres embarazadas. Previamente demostramos el efecto transgeneracional de la exposición prenatal al disruptor endocrino antiandrógeno DEHP (di-2(etil hexil ftalato) sobre el eje reproductor de ratas macho. Además, se sabe que los andrógenos poseen un rol ansiolítico. Objetivo: estudiar el efecto de la exposición postnatal de ratas púberes al DEHP sobre el eje hipófiso-gonadal y el comportamiento símil-ansiedad. Materiales y métodos: se utilizaron ratas Wistar de 45 días ($n=8-10$ /grupo). En un primer experimento se comparó DEHP (30mg/kg en agua de bebida) con su control (C), dosando gonadotrofinas plasmáticas por RIA (ng/ml) y evaluando el comportamiento símil-ansiedad por la prueba del laberinto elevado en cruz (Elevated-plus maze test). Esta prueba evalúa la permanencia (%TSO) y la frecuencia de entrada (%FEO) del animal en los brazos abiertos del laberinto (mayor ansiedad a menor permanencia y frecuencia en los brazos abiertos). Por los resultados obtenidos se hizo un segundo experimento para verificar un posible efecto antiandrogénico del DEHP. Machos púberes de los grupos DEHP y C recibieron testosterona (T), 1mg/kg BW o salina (S), durante 15 días cada 72 hs. Se midieron nuevamente gonadotrofinas y el comportamiento símil-ansiedad. Resultados: las hembras tratadas con DEHP no mostraron cambios significativos en LH (10.3 ± 1.7 vs 8.1 ± 0.4) y FSH (133.58 ± 12.41 vs 117.6 ± 14.6). En los machos se observó aumento significativo de LH (171.7 ± 20.8 vs 11.1 ± 3.9 , $p < 0.01$) sin modificaciones en FSH. En la prueba del laberinto elevado en cruz, los machos tratados con DEHP mostraron un incremento en el comportamiento símil-ansiedad (disminución del %TSO; 1.6 ± 0.6 vs 8.2 ± 2.3 , $p < 0.05$). En las hembras no se observaron diferencias. En el segundo experimento, los machos tratados con T presentaron una caída de LH (C+T: 4.46 ± 0.78 vs C+S: 17.98 ± 6.14 , $p < 0.001$) sin cambios en FSH. Además la T revirtió la acción ansiogénica del DEHP sobre el %TSO (DEHP+T: 11.8 ± 2.1 vs DEHP+S: 1.8 ± 0.6 , $p < 0.01$) y el %FEO (DEHP+T: 50.3 ± 8.0 vs DEHP+S: 15.0 ± 5.6 , $p < 0.01$). Conclusiones: la exposición al DEHP en ratas púberes provoca diferencias entre sexos sobre la respuesta del eje reproductor y el comportamiento símil- ansiedad. Se postula que el efecto ansiogénico del DEHP en machos se debe a su acción antiandrogénica.

PRESENTACION ORAL - 7

PARTICIPACION DE FACTORES PROTEICOS INDUCIDOS POR PROGESTERONA EN LA PREVENCION DEL ABORTO SEPTICO

J. AISEMBERG [*]; C. VERCELLI; S. BILLI; M. WOLFSON; A. DOMINGUEZ RUBIO; A. FRANCHI
CEFYBO (CONICET-UBA), BUENOS AIRES, AR

Las infecciones del tracto genital inducen aborto y parto prematuro pero los mecanismos involucrados no están fehacientemente dilucidados. En nuestro laboratorio hemos establecido un modelo de aborto séptico donde la administración de dosis bajas de lipopolisacárido de *E. Coli* (LPS) a hembras preñadas Balb/C en el día 7 de gestación produce un alto porcentaje de reabsorción embrionaria (RE) con la posterior expulsión fetal. En este efecto hemos encontrado que están implicados el sistema nitrérgico y las prostaglandinas. El tratamiento con Progesterona (P), hormona que se encuentra disminuida en este modelo, retrasó en más de 48 h la RE y en un alto porcentaje la previno. Al mismo tiempo inhibió el aumento observado de óxido nítrico, PGE₂ y TNF α . Uno de los mecanismos que explican que el feto no sea rechazado es la presencia de moléculas inmunomoduladoras inducidas por P en la unidad feto-placentaria. Por ello caracterizamos la producción por el útero y la decidua de dos de estas moléculas: PP14 o glicodelina (Proteína endometrial dependiente de P) y LIF (Factor inhibidor de leucemia). La glicodelina se expresa en el tracto reproductivo materno, especialmente durante la preñez temprana y tiene efectos anti-inflamatorios. El LIF es una citoquina indispensable para la implantación del blastocito murino. Obtuvimos la secuencia del ARNm de una proteína tipo Gd murina, la cual presentó alta homología con la secuencia de la Gd humana. Además observamos que el LPS es capaz de inhibir la expresión proteica de éste péptido en decidua, quizás como parte del desarrollo del mecanismo pro-inflamatorio. El LPS estimula los niveles del ARNm de LIF in vivo. Esta citoquina podría cumplir un rol anti-inflamatorio ya que es capaz de revertir in vitro los niveles de NO y PGE inducidos por LPS. La progesterona, induce el ARNm de LIF in vitro y parece ser parte del mecanismo anti-inflamatorio a nivel del útero, ya que revierte el aumento en los niveles de PGE inducidos por LPS y reduce parcialmente los de NO. En este último caso el mecanismo regulatorio ejercido por la progesterona, parece estar mediado por LIF. Los resultados del presente trabajo nos muestran la participación de distintos factores inmunomoduladores en la reabsorción embrionaria inducida por la sepsis. Los múltiples mecanismos que se ponen en juego en la respuesta a la infección dan cuenta de lo complicado que resulta el abordaje terapéutico de esta patología.

PRESENTACION ORAL - 8

IMPLEMENTACION EN MEDICINA REPRODUCTIVA DE UN DESARROLLO TECNOLÓGICO REFERIDO A LA VITRIFICACION Y DESVITRIFICACION DE OOCITOS HUMANOS

A. VALCARCEL; E. LOMBARDI; M. ZAPPACOSTA [*]; L. AUGÉ; G. MARCONI; E. YOUNG;
IFER - Instituto de Ginecología y Fertilidad, C. A. B. A., AR

Introducción: Se presentan resultados preclínicos obtenidos de la vitrificación de oocitos humanos activados partenogénicamente y resultados reproductivos hasta la fecha por el uso clínico de esta técnica en pacientes infértiles. **MATERIALES Y METODOS:** Grupo 1: activación oocitaria con ionomicina seguido de 6-dimetilaminopurina. 128 oocitos de 18 pacientes que realizaron Tratamiento de Reproducción Asistida de alta complejidad y donaron oocitos excedentes. De ellos, 104 fueron vitrificados/desvitrificados utilizando dos metodologías Cryotop (n=38) y CryoTip (n=66), los 24 restantes fueron utilizados en fresco como controles. Grupo 2: resultados reproductivos de la vitrificación/descongelado de 36 pacientes (< 8 oocitos cada una). Se descongelaron 184 oocitos MII, los sobrevivientes fueron inseminados con la técnica de ICSI. **RESULTADOS:** Grupo 1: 29 oocitos (43,9%) sobrevivieron a la desvitrificación con CryoTip y 34 oocitos (89,5%) con Cryotop. Tasas de activación partenogénica: 91,7% (22/24) para oocitos en fresco, 48,2% (14/29) para vitrificados con CryoTip y 61,7% (21/34) para vitrificados con Cryotop. Resultados de tasas de desarrollo a día 3, 4 y día 5 para el grupo con Cryotop fueron

66,7% (14/21), 7,1% (1/14) y 0% (0/14); utilizando CryoTip fueron 64,3% (9/14), 0% (0/9) y 0% (0/14); en los controles frescos fueron 90,9% (20/22), 30% (6/20) y 25,0% (4/20). Resultados de la implementación clínica de la vitrificación/ desvitrificación en el grupo 2: tasa de supervivencia al descongelado 88,6% (163/184) y tasa de fertilización 71,1% (116/163). Las tasas de implantación y embarazo clínico fueron 17,0% (15/88) y 33,3% (12/36). De las 12 pacientes con embarazo clínico, 8 presentan embarazos evolutivos a la fecha (6 simples, 1 doble y 1 triple); 2 fueron abortos espontáneos a las 7 semanas con saco gestacional y actividad cardíaca presente en la primer ecografía. A la fecha nacieron 2 niños sanos de 2 pacientes. **CONCLUSION:** La vitalidad de oocitos vitrificados/desvitrificados puede ser evaluada eficientemente por el uso de la activación partenogenética. La vitrificación de oocitos es un avance en las técnicas de reproducción asistida y una alternativa para parejas que no desean congelar embriones y para pacientes que desean postergar su maternidad. En este estudio se logró implementar un desarrollo tecnológico de punta en medicina reproductiva como la vitrificación/desvitrificación de oocitos humanos, asegurando estándares de calidad, eficiencia y eficacia.