

XV Reunión Anual de la Sociedad de Andrología y Gametología de Chile (SAGACH)

Organizan: Sociedad de Andrología y
Gametología de Chile (SAGACH) &
Clínica Dávila

Auditorio Clínica Dávila, 9-10 de Marzo de 2017,
Santiago, Chile

Comité Organizador 2017:

Dr. Enrique Bley y Dr. Ismael Valdés
Presidente SAGACH: Dr. Cristian Palma
Past President: Dr. Marcelo Marconi

EFFECTO DE DIFERENTES GRADIENTES DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA POR DENSIDAD EN LA FECUNDACIÓN IN VITRO (FIV) EN BOVINOS. B Sepúlveda^{1,2}; F Zambrano¹; L Aguila¹; ME Arias^{1,3}; R Sánchez^{1,4} & R Felmer^{1,3}
¹Laboratorio de Reproducción, Centro de Excelencia en Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), ²Escuela de Obstetricia y Puericultura, Facultad de Ciencias, Universidad Mayor, Campus Temuco, Chile. ³Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, ⁴Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

En las técnicas de reproducción asistida (TRAs) es esencial obtener espermatozoides con alta motilidad, integridad de membrana y del ADN. Percoll® ha sido la gradiente de centrifugación de elección en los laboratorios de fecundación in vitro en bovino. Sin embargo, Percoll® induce respuesta inflamatoria, altera la adhesión, y ??su efecto endotóxico incrementa la fragmentación embrionaria y reduce las tasas de preñez. Al igual que en seres humanos, el uso de Percoll® se está discontinuando para FIV en bovinos. **Objetivo.** Evaluar la gradiente de centrifugación Isolate® como un sustituto adecuado de Percoll® en TRAs. **Material y método.** Se utilizó semen de toro criopreservado para la selección de espermatozoides con las 2 gradientes y por citometría de flujo se evaluó: viabilidad (SYBR14 / PI), acrosoma (PNA-FITC / PI), estrés oxidativo (CH2FDDA), integridad del ADN (TUNEL) y potencial de membrana mitocondrial (TMRM). Los parámetros de movilidad fueron determinados por CASA y la función espermática con FIV. Los datos se analizaron mediante ANOVA de una vía y para FIV con t de Student. **Resultados.** Los parámetros espermáticos no fueron diferentes entre ambos métodos. En FIV las tasas de división con Percoll® e Isolate® fueron similares

(81,8% y 84,3 respectivamente), al igual que las tasas de formación total de blastocistos (31,4% y 28,1% respectivamente). **Conclusión.** La separación de espermatozoides con Isolate® mantiene los parámetros de calidad en forma similar a Percoll®. Además, Isolate® es un método eficaz para la producción in vitro de embriones, proporcionando una buena alternativa para el reemplazo de Percoll® en TRAs.

KEY WORDS: Selección espermática, Percoll, Isolate, espermatozoide bovino

Agradecimientos. “Proyecto de Inserción de Capital Humano Avanzado en la Academia” Grant N° 79130018, PAI-CONICYT, Chile.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA DE INCUBACIÓN POST-DESIVITRIFICACIÓN SOBRE PARÁMETROS FUNCIONALES EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS. C Rojas¹; P Uribe^{1,2}; J Meriño^{1,2}; JV Villegas^{2,3} & Sánchez R^{1,4}
¹Centro de Excelencia en Medicina Traslacional (CEMT-BIOREN). ²Centro de Excelencia de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN). ³Departamento de Medicina Interna. ⁴Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Introducción. La criopreservación de espermatozoides es un procedimiento común en los laboratorios de reproducción asistida, proporcionando una valiosa opción terapéutica en pacientes en diversas condiciones clínicas. Diferentes líneas de investigación se han desarrollado para optimizar este proceso, sin embargo, el efecto de la temperatura de incubación post-descongelación ha sido escasamente estudiado. **Objetivo.** Analizar el efecto de la temperatura de incubación post-desvitrificación sobre parámetros funcionales en espermatozoides humanos. **Metodología.** Espermatozoides móviles de donantes normozoospermicos fueron seleccionados y criopreservados mediante vitrificación aséptica. Luego de la desvitrificación los espermatozoides fueron separados en dos alícuotas: A temperatura ambiente (22 – 25 °C) y a 37 °C. Se analizó mediante citometría de flujo la viabilidad, el potencial de membrana mitocondrial (DYM), la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la externalización de fosfatidilserina. La producción de ATP se analizó mediante luminiscencia y la motilidad mediante CASA. Los parámetros se analizaron a las 2, 4 y 6 horas de incubación. **Resultados.** En los espermatozoides incubados a temperatura ambiente la viabilidad y el DYM fue mayor, mientras que la producción de ROS fue menor en comparación con los espermatozoides incubados a 37 °C. No se observó una alteración significativa en la producción de ATP ni en la externalización de fosfatidilserina. La motilidad progresiva resultó significativamente disminuida en los espermatozoides incubados a temperatura ambiente. **Conclusión.** La incubación a temperatura ambiente permite una mejor preservación de espermatozoides humanos desvitrificados. Estos resultados sugieren que los espermatozoides desvitrificados para ser utilizados en tecnologías de reproducción asistida sean mantenidos a temperatura ambiente.

KEY WORDS: Vitrificación, temperatura de incubación, espermatozoides humanos, función espermática

Agradecimientos: Programa de Formación de Investigadores Postdoctorales, Universidad de La Frontera y Proyecto de Inserción de Capital Humano Avanzado en la Academia N° 79160030 (Dra. Pamela Uribe), PAI-CONICYT, Chile.

¿VALE LA PENA PEDIR UNA SEGUNDA DE MUESTRA SEMEN EL DÍA DE LA IIU? EVIDENCIA DE 85 CASOS SUCESIVO. A Ortiz¹, R Ortiz¹, E Soto¹, F Valenzuela^{1,2} & M Marconi^{1,3} ¹Unidad de Andrología, ²Departamento de Endocrinología, ³Departamento de Urología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Introducción. La concentración y la motilidad espermática presentan una alta variabilidad intra-individuo, este factor, entre otros, explica porque en algunos pacientes el día de la Inseminación Intrauterina (IIU) la muestra puede ser inadecuada para el procedimiento a pesar de contar con muestras previas aceptables. El objetivo de este estudio es comparar la calidad de los parámetros seminales de dos eyaculaciones sucesivas con menos de 60 minutos de diferencia en pacientes que acuden a una IIU con una primera muestra de mala calidad. **Pacientes y Métodos.** Ochenta y cinco pacientes consecutivos que asistieron a nuestra unidad de Andrología de Junio del 2012 a Enero del 2017 fueron enrolados en el estudio. El día de la IIU todos los pacientes presentaban en la primera muestra al menos uno de los siguientes criterios: Concentración Espermática (CE) <15 x 106 /ml, Motilidad Progresiva (MP) (a+b) en semen nativo <10%, Recuento de Espermatozoides Motiles (REM) <3 x 106. Se consideró como “sucesiva” a la muestra realizada no más 60 minutos luego de la primera. **Resultados.** Comparado con la primera muestra la segunda mejoro de forma significativa (p<0,05) la CE (16,7±31,4 vs. 41,2±71,6 mill/ml), REM (8,33±16,7 vs. 23,9±33,8 millones) y MP (29,7%±17,5 vs. 49,9%±20,2). En relación al REM que es el parámetro más importante el día de la IIU 58 pacientes (68,2%) mejoraron en relación a la primera muestra. **Conclusión.** Solicitar una segunda muestra sucesiva en algunos casos es un recurso útil, fácil y de bajo costo que permite mejorar el REM de pacientes que se presentan con una mala muestra el día de la IIU.

KEY WORDS: Espermograma, inseminación intrauterina, muestras de semen sucesivas.

REVERSIÓN DE VASECTOMÍA EN UN LEÓN ESPECIE “PANTHERA LEO”: PRIMER REPORTE A NIVEL MUNDIAL. M Marconi^{1,2}; JM Latorre³; C Palma⁴, S Celis⁵, H Gallejos⁶ & M Álvarez⁶. ¹Unidad de Andrología y Departamento de Urología, Pontificia Universidad Católica de Chile, ²Unidad de Andrología, Clínica IVI Santiago, ³Hospital El Carmen, Maipú; Instituto Teletón. ⁴Departamento de Urología, Clínica Las Condes, ⁵Departamento de Medicina Veterinaria, Buin Zoo, ⁶Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

Introducción. Se presenta video de la técnica quirúrgica de una vaso-vasostomía realizada a un León de la especie “Panthera Leo”. Es el primer reporte a nivel mundial de la realización de esta cirugía en un León. **Objetivo.** Reportar la experiencia quirúrgica de tres Urólogos realizando la primera reversión de vasectomía a un León. **Material y Método.** A mediados del año 2016 se realiza el contacto del equipo de veterinarios del Buin Zoo de Santiago a tres Urólogos para evaluar la factibilidad de realizar la reversión de una vasectomía a un León en cautiverio de la especie Panthera Leo. El León había sido vasectomizado hace 5 años por control de natalidad en el mismo zoológico. Este método de control de natalidad ha sido descrito antes en estos felinos, y es considerado la elección ya que la castración está contraindicada por la pérdida de la melena del macho. Debido a la necesidad actual de ampliar la población de Leones se solicita realizar reversión de la vasectomía. **Resultados.** Un equipo de tres Urólogos asiste al pabellón del Buin Zoo para realizar la cirugía. En el video se muestran los detalles del posicionamiento del animal, ubicación del sitio de vasectomía previa, identificación de los cabos del deferente, anastomosis microquirúrgica y detalles anatómicos. Se observa gran similitud de las estructuras del cordón espermático y testículo entre el León y el humano, lo cual facilita la técnica quirúrgica. Por eventos anestésicos solo se pudo realizar la anastomosis del lado izquierdo. No se reportaron complicaciones quirúrgicas en el post operatorio. A los 6 meses de operado se reporta el nacimiento de 2 hembras que en actualidad se encuentran en perfectas condiciones junto a sus padres. **Conclusión.** Se reporta la realización de la primera reversión de vasectomía exitosa en León especie “Panthera Leo” a nivel mundial. La técnica es quirúrgicamente factible y la anatomía gonadal es muy similar a la especie humana.

KEY WORDS: León, vasectomía, reversión quirúrgica, recuperación de fertilidad

PROTOCOLO DE TRATAMIENTO ABREVIADO PARA BAJAR LOS NIVELES DE FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO: EXPERIENCIA PRELIMINAR. M Marconi^{1,2}, A Ortiz¹, R Ortiz¹, E Soto¹ & F Valenzuela^{1,3} ¹Unidad de Andrología, ²Departamento de Urología, ³Departamento de Endocrinología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Introducción. La medición de la Fragmentación del ADN Espermático (FADNE) se ha transformado en examen rutinario en la evaluación del hombre infértil. Las etiologías que explican una fragmentación elevada son múltiples y deben ser evaluadas en detalle en todos los pacientes. Sin embargo, en un porcentaje importante de casos no se logra identificar una etiología específica y son clasificados como idiopáticos. El objetivo de este estudio es evaluar la experiencia preliminar de un protocolo abreviado de tratamiento para bajar el porcentaje de FADNE en pacientes que se encuentran en tratamiento de medicina reproductiva de baja y alta complejidad. **Pacientes y Métodos.** Doce pacientes consecutivos que asistieron a nuestra unidad de Andrología de Octubre del 2016 a Febrero del 2017

fueron enrolados en el estudio. Todos las parejas consultaron por infertilidad primaria y en promedio llevaban 33,5 meses (rango 12 - 72) intentando embarazo. El 50% se había realizado ya tratamientos de fertilidad; en 4 casos al menos un ICSI y en 2 casos al menos una IIU. El porcentaje promedio de FADNE (Halosperm \dot{O}) fue de 37,5% (rango 28 - 65). En todos los casos se descartaron infecciones, varicocele clínico, Hipogonadismo y exposición a tóxicos. Para bajar la FADNE se siguió el siguiente protocolo: a) Vitaminas + Antioxidantes (Live Go \dot{O}), 1 sobre cada 12 horas por 15 días. b) Diclofenaco 100 mgs. vía oral al día, iniciando 4 días antes del examen. c) Actividad sexual mínimo dos veces por semana esos 15 días. d) Abstinencia de solo 12 horas para toma de nueva muestra de FADNE. **Resultados.** Comparado con la primera medición, en 10 de 12 casos (83,3%) la FADNE disminuyó; en un solo caso aumento (de 35% a 44%) y en otro se mantuvo sin variación. La disminución de la FADNE fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$), $38,4\% \pm 11,0$ versus $20,8\% \pm 13,7$ luego del protocolo abreviado. **Conclusión.** En casos de FADNE elevada idiopática el uso de un protocolo abreviado de tratamiento por 15 días es efectivo para disminuirla. Son necesarios más estudios para corroborar estos hallazgos.

KEY WORDS: Estrés oxidativo, fragmentación del ADN espermático, antioxidantes.

EFEECTO PROTECTOR DEL ANTIOXIDANTE METALOPORFIRINA FeTPPS FRENTE AL DAÑO INDUCIDO POR ESTRÉS NITROSATIVO EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS *IN VITRO*. J Meriño^{1,2}, P Uribe^{1,2}, C Rojas¹, Sánchez R^{1,3} & JV Villegas^{2,4}. ¹Centro de Excelencia en Medicina Traslacional (CEMT-BIOREN), ²Centro de Excelencia de Biotecnología de Reproducción (CEBIOR-BIOREN), ³Departamento de Ciencias Preclínicas, ⁴Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Introducción. El anión peroxinitrito es una especie altamente reactiva que, cuando se produce a niveles elevados, causa el denominado estrés nitrosativo. El estrés nitrosativo es causa importante de alteración de la función espermática en humanos. El antioxidante metaloporfirina FeTPPS (5,10,15,20-tetrakis(4-sulfonatophenyl) porphyrinato iron III), es una molécula sintética que cataliza la conversión de peroxinitrito en moléculas menos tóxicas, contribuyendo a reducir la toxicidad de peroxinitrito. Antioxidantes metaloporfirinas están siendo desarrollados como agentes terapéuticos para varias aplicaciones clínicas y han demostrado un efecto beneficioso sobre la motilidad en espermatozoides humanos expuestos a peroxinitrito. Sin embargo, no se ha descrito su efecto sobre otros parámetros de función espermática. **Objetivo.** Evaluar el efecto de FeTPPS sobre espermatozoides humanos expuestos *in vitro* a peroxinitrito. **Metodología.** Espermatozoides móviles de donantes normozoospermicos fueron divididos en tres grupos: (i) espermatozoides incubados con SIN-1, compuesto que genera peroxinitrito; (ii) espermatozoides co-incubados con SIN-

1 y FeTPPS y (iii) espermatozoides control sin tratamiento. Se analizó el potencial de membrana mitocondrial (DYm), la fragmentación del DNA y la viabilidad mediante citometría de flujo; el nivel de ATP mediante quimioluminiscencia. **Resultados.** Los espermatozoides co-incubados con SIN-1 y FeTPPS durante 4 horas mostraron menor alteración del DYm y niveles de ATP más altos en comparación con los espermatozoides incubados con SIN-1. Además, los espermatozoides co-incubados con SIN-1 y FeTPPS durante 24 horas evidenciaron menor fragmentación del DNA y mayor viabilidad en comparación con los espermatozoides expuestos a SIN-1. **Conclusión.** El antioxidante FeTPPS demostró evitar, al menos en parte, el efecto nocivo de peroxinitrito sobre el DYm, la producción de ATP, la integridad del DNA y la viabilidad en espermatozoides humanos, evidenciando el potencial terapéutico de FeTPPS en andrología.

KEY WORDS: Estrés nitrosativo, función espermática, FeTPPS.

Agradecimientos: Programa de Formación de Investigadores Postdoctorales, Universidad de La Frontera y Proyecto de Inserción de Capital Humano Avanzado en la Academia N $^{\circ}$ 79160030 (Dra. Pamela Uribe), PAI-CONICYT, Chile.

VITRIFICACIÓN DE ESPERMATOZOIDES HUMANOS: UNA ALTERNATIVA DE BAJO COSTO PARA PRESERVAR LA FERTILIDAD. M Schulz^{1,2,3}, J Risopatrón^{1,4}, RJ Sánchez⁴ & R Sánchez^{1,6}. ¹Centro de Excelencia en Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), ²Departamento de Ciencias Preclínicas, ³Doctorado en Ciencias Morfológicas, ⁴Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile; ⁵Carrera de Medicina, Universidad Mayor, Temuco, Chile; ⁶Centro de Excelencia en Medicina Traslacional (CEMT-BIOREN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Introducción. La infertilidad masculina se ha incrementado en continentes que mantienen conductas sexuales de riesgo y escasos programas de educación sexual, junto con reducidos programas de medicina reproductiva. África y América Latina presentan un 52% de infertilidad por factor masculino. Esto hace necesario implementar programas de preservación de fertilidad, y la vitrificación espermática puede contribuir al ser una técnica simple y con óptimos resultados. **Objetivo.** Reducir el costo de la vitrificación espermática convencional utilizando medios de cultivos básicos y suero sanguíneo autólogo. **Material y método.** La selección y vitrificación espermática se realizó con PBS suplementado con suero humano pretratado (SHP) a 56°C. Se realizó swim-up con PBS al 5% de SHP (T $^{\circ}$ ambiente, 60 minutos) y el sobrenadante se centrifugó 5 minutos a 300 g. Los espermatozoides fueron vitrificados con PBS al 5 y 10% de SHP más sacarosa (S) 0,25 M. El control fue PBS al 5% de SHP. La desvitrificación se realizó con PBS-SHP 1% a 43°C.

Se evaluó movilidad (OMS, 2010) e integridad de membrana a través de HOSTest. **Resultados.** Los espermatozoides vitrificados con PBS-S-SHP 5% presentaron mayor movilidad ($67,0 \pm 2,2\%$) e integridad de membrana plasmática ($82,4 \pm 4,8\%$) en comparación al control (movilidad $32,1 \pm 2,4\%$; HOST $34,3 \pm 2,2\%$) y con PBS-S-SHP 10% (movilidad $44,7 \pm 7,2\%$; HOST $68,8 \pm 5,0\%$) ($p < 0,05$). **Conclusión.** La vitrificación con PBS y suero sanguíneo autólogo mantiene una alta movilidad y adecuada función espermática. Esto permite reducir el costo del procedimiento haciéndolo asequible a un mayor número de pacientes.

KEY WORDS: Vitrificación espermática, función espermática, PBS.

Agradecimientos. MS Beca de Doctorado, CONICYT, Gobierno de Chile; Dirección de Investigación, Proyecto DI07-104-2008, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

LA EXPRESIÓN DE PEDF (SERPINA 1F) EN EL TRACTO REPRODUCTOR MASCULINO DE RATAS WISTAR ES REGULADO POR ANDRÓGENOS. M

Monclus^{1,2}, BT Piñeiro¹, MI Conte¹, MG Tagle¹ & M Fornes¹
¹Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM), Centro Científico Tecnológico (CCT), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, ¹Universidad del Aconcagua. Mendoza, República Argentina.

Introducción. PEDF (Factor Derivado del Epitelio Pigmentario), también conocida como Serpina 1F, es una proteína expresada en numerosos tejidos con propiedades neurotróficas, antiangiogénicas, antiinflamatorias y antioxidantes. Existen escasas referencias sobre su actividad en el sistema reproductor masculino excepto en cáncer de próstata y la regulación de la conjugación de espermatozoides en el cauda epididimario de la rata. **Objetivos.** Determinar la expresión de PEDF a lo largo del tracto reproductor masculino en ratas Wistar y analizar si depende de andrógenos. **Metodología.** RT-PCR y PCR con primers específicos en testículo, epidídimo, vesículas seminales y próstata de ratas Wistar. Inmunohistoquímica en los mismos órganos. Inmunofluorescencia indirecta sobre espermatozoides del lumen epididimario. La andrógeno-dependencia se evaluó mediante administración de flutamida, 50 mg/Kg peso/día durante 15 días. **Resultados.** RT-PCR: el RNAm de PEDF se expresa a lo largo de todo el conducto epididimario, próstata y vesículas seminales, pero notablemente no en testículo. Estas observaciones coinciden con la inmunohistoquímica. Los espermatozoides del lumen epididimario son reactivos para PEDF. Flutamida inhibió la expresión de esta proteína en todos los órganos donde se la observó previamente. La inhibición fue revertida luego de cesar la administración del fármaco durante un lapso de 30 días. **Conclusiones.** El epidídimo es clave en la maduración y almacenamiento de los espermatozoides. En algunas especies se almacenan formando conjugados

espermáticos. El papel del PEDF en este proceso fisiológico no ha sido totalmente dilucidado, pero podría relacionarse con la protección de los espermatozoides mientras se almacenan debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiapoptóticas.

KEY WORDS: Serpina 1F, andrógenos, tracto reproductor, epidídimo.

¿ES EL ESTRÉS OXIDATIVO INDUCTOR DE TOLERANCIA A ESTRÉS EN EMBRIONES BOVINOS?

P Loren¹, E Sánchez-Villalba¹, J Risopatrón^{1,2}, ME Arias^{1,3}, R Felmer^{1,3} & R Sánchez^{1,4}
¹Laboratorio de Reproducción, Centro de Excelencia en Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), ²Departamento de Ciencias Básicas, ³Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, ⁴Departamento de Ciencias Preclínicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile,

Introducción. La exposición de ovocitos mamíferos a diferentes tipos de estrés induce tolerancia a estrés en embriones mamíferos, mejorando su resistencia y rendimiento en procedimientos *in vitro*. **Objetivo.** Evaluar el efecto de la exposición de complejos ovocito-cumulus (COCs) bovinos a peróxido de hidrógeno (H₂O₂) sobre el potencial de desarrollo embrionario, calidad y expresión génica. **Metodología.** COCs maduros fueron incubados con H₂O₂ (0, 25, 50, 75 y 100 μ M) por 1 hora antes de la fecundación *in vitro* (IVF = día 0). Los presuntos cigotos fueron cultivados hasta el día 7. El desarrollo embrionario fue evaluado al día 3 y al día 7. La calidad embrionaria se determinó por tinción diferencial y ensayo TUNEL. La expresión génica relativa fue evaluada luego de la extracción de ARN y síntesis de ADNc. Diferencias entre los grupos experimentales se determinó utilizando ANOVA de una vía, y la expresión génica fue evaluada utilizando REST 2009. **Resultados.** La división no fue afectada por el tratamiento utilizado, mientras que la formación de blastocistos disminuyó en elevadas concentraciones de H₂O₂. La calidad embrionaria fue similar entre blastocistos pre-tratados con 25 y 0 μ M, no así con las otras dosis empleadas. La expresión génica demostró una regulación negativa comparada con el control en: SOD1, HIF1A, nNOS, iNOS, CDX2, OCT4 y NANOG. **Conclusión.** Bajos niveles de H₂O₂ mantienen el desarrollo embrionario, no perjudican la calidad y no inducen estrés oxidativo en embriones bovinos, por lo que este tratamiento podría inducir tolerancia a estrés, mejorando procesos altamente estresantes, como la criopreservación.

KEY WORDS: Estrés oxidativo, embriones bovinos, tolerancia a estrés, peróxido de hidrógeno.

Agradecimientos. P Loren, beca de Doctorado Conicyt, Proyecto Fondecyt 1130888-R Sánchez

SECUENCIA DE EVENTOS DE MUERTE CELULAR EN RESPUESTA A ESTRÉS OXIDATIVO EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS IN VITRO. R Boguen^{1,2},

P. Uribe^{1,3}, A Bravo¹, D González¹ & JV Villegas^{1,2} ¹Centro de Biotecnología en Reproducción (CEBIOR-BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. ²Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. ³Centro de Excelencia en Medicina Traslacional (CEMT), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Introducción. El estrés oxidativo (EO) es postulado como la principal causa de muerte en espermatozoides humanos. La muerte celular por EO es un proceso extensamente caracterizado en células somáticas, sin embargo, en espermatozoides humanos los procesos bioquímicos que conducen a la muerte celular no están completamente comprendidos. **Objetivo.** Determinar la secuencia de eventos asociados a muerte celular en respuesta a estrés oxidativo en espermatozoides humanos. **Materiales y método.** Espermatozoides humanos seleccionados por swim-up fueron incubados por 30, 60, 90 y 120 minutos con 1, 2, 3 y 4 mmol/l de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) como fuente de EO. Los marcadores de muerte celular analizados mediante citometría de flujo fueron: pérdida del potencial de membrana mitocondrial (DYm), aumento de la permeabilidad de la membrana plasmática (MP) y pérdida de la integridad de la MP. La motilidad se evaluó por CASA y los niveles de ATP por quimioluminiscencia. **Resultados.** El DYm se alteró significativamente a los 30 minutos de incubación con 1 mmol/l de H₂O₂, acompañado de caída en los niveles de ATP y también de la motilidad. La permeabilidad de la MP aumentó a los 60 minutos con 2 mmol/l de H₂O₂. Finalmente, la integridad de la MP disminuyó recién a los 120 minutos con 2 mmol/l de H₂O₂. **Conclusión.** El estrés oxidativo produce inicialmente alteración del DYm, de la motilidad y del ATP, seguido de un aumento en la permeabilidad de la MP para finalizar con la muerte de la célula.

KEY WORDS: Muerte celular, estrés oxidativo, espermatozoides humanos, función espermática.
