



UBA
Universidad de Buenos Aires

SUPLEMENTO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Chorroarín 280 (C1427CWO) Bs. As., Argentina. Tel.(54 11) 4524 8400.
www.fvet.uba.ar



Facultad de Ciencias
VETERINARIAS
Universidad de Buenos Aires



Uso de un Sistema Computarizado de Análisis Seminal (CASA)

Ana Alonso, Clara Baca Castex, Deborah Neild y Marcelo Miragaya. mmirag@fvet.uba.ar

CÁTEDRA DE TERIOGENOLOGÍA, INITRA.

La evaluación de la calidad seminal ha sido y es actualmente un aspecto fundamental en el mercado de las biotecnologías reproductivas. La capacidad fecundante del semen puede estimarse a través de ciertos parámetros morfológicos y funcionales de los espermatozoides como la integridad del acrosoma, la movilidad, la morfología y la integridad del ADN.

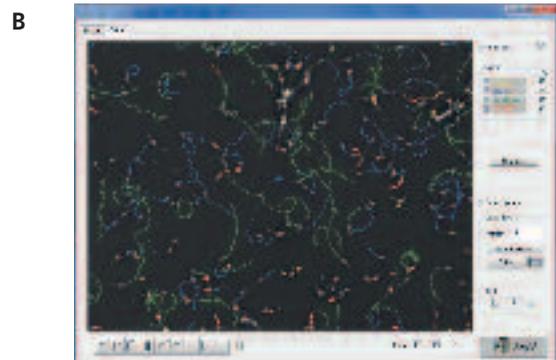
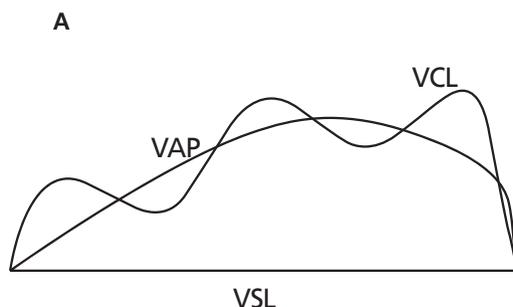
En muchos laboratorios, la evaluación de la calidad espermática está basada en un análisis subjetivo de parámetros como la movilidad individual. Es evidente que la evaluación de una sola característica espermática no es suficiente para predecir las posibilidades de fertilización u obtención de preñez y por lo tanto es necesario el análisis de múltiples aspectos, y en lo posible de forma sistemática, rápida y objetiva. No hay dudas de que el análisis objetivo, riguroso y simultáneo, de varios parámetros relativos a las características funcionales y morfológicas de los espermatozoides permitiría estimar razonablemente el potencial fecundante de una muestra de semen (Amann, 1989). Aún cuando se ha encontrado cierta correlación entre los sistemas objetivos y subjetivos, la evaluación microscópica de la calidad del semen depende de la persona que la realice, así como de muchas características funcionales y morfológicas de los espermatozoides, por todo esto se planteó el desarrollo de un método automatizado y objetivo. A

finis de los años 70 se introducen sistemas asistidos por computadora diseñados para analizar la cinética de los espermatozoides, denominados genéricamente CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*) (Amann y Katz, 2004).

El sistema CASA se introduce en el mercado originalmente para la evaluación de semen humano. Con el paso de los años se ha ido perfeccionando y modernizando, y gracias a que su precio fue descendiendo, ha sido incorporado a otros ámbitos además del de reproducción humana. En la actualidad se utiliza en veterinaria, tanto en la investigación como en la industria, como es el caso de los centros de inseminación artificial.

Un sistema CASA consta de varias unidades independientes: un microscopio de contraste de fases conectado a una cámara de video, que envía la imagen desde el microscopio a un monitor. La imagen se envía además a una computadora, donde un analizador digital de imágenes captura varias fotografías seriadas de cada campo. El software discrimina por tamaño a los espermatozoides de otras partículas que puedan aparecer en la imagen, y analiza la trayectoria recorrida por cada espermatozoide individual, velocidad y el movimiento rectilíneo, circular o lateral. Los parámetros incluidos en los sistemas CASA han sido modelados y refinados matemáticamente para describir de la mejor forma posible el

Figura 1: A: Representación esquemática de diferentes velocidades medidas por CASA: velocidad curvilínea (VCL), velocidad de línea recta (VSL) y velocidad promedio de la trayectoria (VAP) (de Versteegen y col., 2002) y B: vista del monitor durante la captura y análisis de la cinética de los espermatozoides.

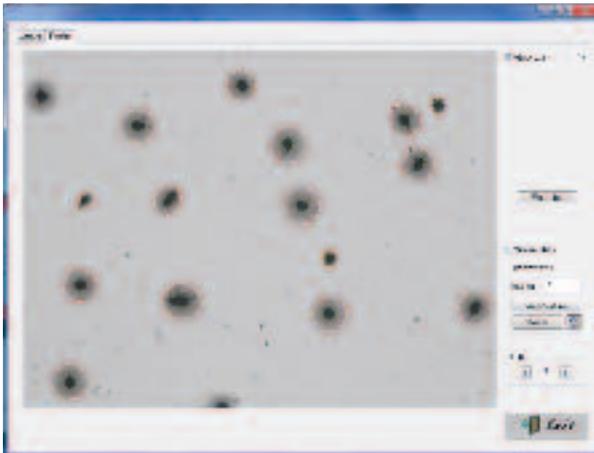


tipo de movimiento de cada espermatozoide a medida que se desplaza en un campo microscópico.

Los parámetros de movimiento que registra son: células estáticas, células móviles progresivas y no progresivas, y a su vez con movimiento rápido, medio o lento. Promedios de velocidad curvilínea (VCL), velocidad de línea recta (VSL) y velocidad promedio de la trayectoria (VAP) (Figura 1). Promedios de índice de linealidad (LIN), índice de desplazamiento en línea recta (STR), índice de oscilación (WOB) y promedio de la amplitud del movimiento lateral de cabeza (ALH).

Con respecto al núcleo espermático, el programa analiza el halo y el núcleo de cada célula, pudiendo clasificarla en función de dos alternativas: por el tamaño del halo o por la relación halo/núcleo. (Figura 2).

Figura 2: Análisis de la integridad del ADN espermático mediante la medición del núcleo y del halo de dispersión de la cromatina.



Los nuevos sistemas computarizados para el análisis de la movilidad y la morfometría espermática (Figura 3), junto con las técnicas de fluorescencia para viabilidad (Figura 4), permiten adquirir de forma rápida y objetiva, datos precisos sobre múltiples parámetros relativos a características estructurales y funcionales de los espermatozoides. Esta evaluación no sería posible con métodos de análisis visual.

Figura 3: Análisis morfométrico de espermatozoides.

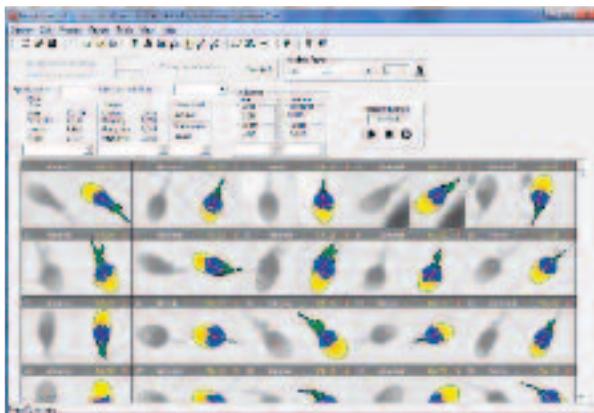
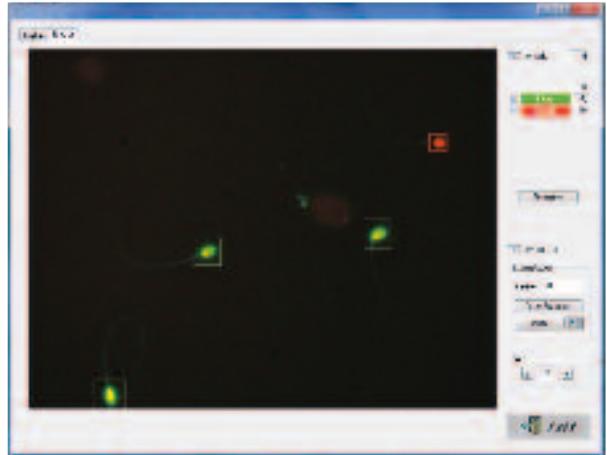


Figura 4: Análisis de la viabilidad espermática mediante la tinción con fluorocromos.



El sistema también permite realizar sobre las mismas muestras una evaluación de la morfología espermática, calculando no sólo el porcentaje de células anormales totales, sino también discriminando por el tipo de defecto presente. El registro de los datos cuantitativos por parte del CASA facilita la rápida comparación con valores de referencia, permitiendo la clasificación del eyaculado y posterior evaluación de la fertilidad como así también el análisis estadístico de los datos recogidos. Es un método fiable, de fácil ejecución y elevada repetibilidad, por lo que permite estandarizar objetivamente la evaluación espermática.

Es así que el uso del CASA representa una poderosa herramienta ya sea en el campo de la investigación, como en la aplicación de técnicas de reproducción asistida como la inseminación artificial. De este modo se hace posible llegar a un rápido y efectivo análisis de resultados tanto en semen fresco, refrigerado o congelado-descongelado.

Recientemente el Instituto de Investigación en Tecnología y Reproducción Animal (INITRA) de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires ha adquirido, mediante un proyecto ARAI, un equipo de este tipo, permitiendo así ofrecer a la comunidad un servicio de análisis de la calidad seminal en diversas especies.

Referencias

- Amann, R.P. Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? *J. Androl.* 1989; 10:89.
- Amann, R.P. and Katz, D.F. Reflections on CASA after 25 years. *J. Androl.* 2004; 25:317-325.
- Dott HM, Foster GC. The estimation of sperm motility in semen, on a membrane slide, by measuring the area change frequency with an image analyzing computer. *J. Reprod Fertil* 1979; 55:161-166.
- Verstegen J, Iguer-Ouada M, Onclin K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology.* 2002 Jan 1;57(1):149-79.
- http://www.selinion.com/index.php?option=com_content&view=article&id=73&Itemid=183.