

# Programa Resolución de Retos Socio-Productivos



## PROGRAMA

### RESOLUCIÓN DE RETOS SOCIO PRODUCTIVOS

2021

#### FORMULARIO A: PRESENTACIÓN DE RETOS

Código Reto:	PR2021-12
--------------	-----------

#### TÍTULO: IDENTIFICACIÓN DE ANOMALÍAS ESPERMÁTICAS EN PACIENTES CON ESCA

##### I. DATOS INSTITUCIONALES

Razón Social:	Medicina Reproductiva S.A
CUIT:	30-70853430-3
Domicilio:	Pedro Molina 767
Ciudad, Provincia	Ciudad, Mendoza
Tel:	2615346470
Mail instituc.:	turnos@imreproductiva.com



##### II. INFORMACIÓN DEL SECTOR, ACTIVIDADES, PRODUCTOS Y/O SERVICIOS OFRECIDOS POR LA INSTITUCIÓN

Actividad Principal:	Asistencia médica en Medicina Reproductiva
Sector económico:	Servicios de salud reproductiva
Ámbito de desarrollo:	local
Productos y/o Servicios ofrecidos:	Diagnósticos y tratamientos de infertilidad
Clasificación de la empresa:	Salud Reproductiva de alta complejidad

##### III. PRESENTACIÓN DEL O LOS RETOS DESTINADOS AL SECTOR CIENTÍFICO TECNOLÓGICO

# Programa Resolución de Retos Socio-Productivos



El RETO que el laboratorio andrológico del Instituto de Medicina Reproductiva (IMR) plantea en el marco del “Programa Resolución de Retos Socio-Productivos” es el de identificar anomalías espermáticas en pacientes con esterilidad sin causa aparente (ESCA), vale decir indetectables en el espermograma de rutina. La infertilidad (usada aquí como sinónimo de esterilidad aunque estrictamente no lo es) se define como la incapacidad de una pareja heterosexual de lograr un embarazo después de un año de mantener relaciones sin el uso de anticonceptivos en días cercanos a la ovulación de la mujer. Es una condición que afecta al 13-18% de las parejas en el mundo. El tabaquismo, el estrés, el sedentarismo, la alimentación no saludable y la búsqueda de un hijo a edades cada vez más avanzadas, influyen negativamente en el logro del embarazo. La infertilidad puede deberse a factores femeninos o masculinos, siendo estos últimos responsables de aproximadamente el 50% de los casos; mientras un 15% corresponde a ESCA. En parejas que no logran un embarazo de forma natural a pesar de la ausencia de factores femeninos y no se puede explicar por alteraciones en el examen físico, hormonal ni espermograma, la infertilidad se clasifica como ESCA.

El espermograma es una prueba estandarizada de rutina utilizada en laboratorios andrológicos, como el del IMR, para analizar la calidad del semen siguiendo criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Consiste en la evaluación macroscópica (color, volumen, licuefacción, viscosidad y pH) y microscópica del semen. El examen microscópico incluye conteos del número total, concentración, morfología, viabilidad y movilidad de espermatozoides. Causas genéticas, anatómicas, hormonales, obesidad, exposición a tóxicos ambientales, quimio y radioterapias, tabaquismo, edad avanzada, infecciones, etc., pueden afectar la calidad del semen. Desde hace unos años, se ha reportado a nivel mundial un descenso en la cantidad de los espermatozoides en eyaculados. El espermograma es la herramienta habitual más usada para el diagnóstico y para seleccionar el abordaje terapéutico a seguir en caso que la pareja decida acudir a la clínica de medicina reproductiva.

El RETO que el laboratorio andrológico del IMR plantea es el de identificar posibles anomalías espermáticas en pacientes con ESCA, no detectables a través del espermograma estándar. Establecer dichas anomalías tiene un importante valor diagnóstico y servirán como indicador de la capacidad de fertilización de los espermatozoides, orientando al profesional sobre qué procedimiento de fertilización asistida ofrecer a la pareja que acude a nuestra clínica. Buscamos docentes-investigadores de la Universidad Nacional de Cuyo que puedan responder a este RETO ofreciendo los siguientes análisis para los varones con ESCA que llegan al IMR y que van a acceder a un tratamiento de inseminación intrauterina (IIU, ver IV):

- i) acrosoma: capacidad de sufrir la reacción acrosomal in vitro en respuesta a inductores.
- ii) movilización de calcio intracelular en respuesta a progesterona.
- iii) motilidad e hiperactivación inducidas in vitro.

# Programa Resolución de Retos Socio-Productivos



Las probabilidades de un embarazo en parejas heterosexuales saludables menores de 30 años y que tengan relaciones con regularidad son de aproximadamente de 20% cada mes. El éxito de los procedimientos de reproducción asistida oscilan alrededor de ese número, pero el costo emocional, físico y económico (a pesar de la Ley 26.862 de Reproducción asistida) cuando éstos fracasan es enorme y por lo tanto no lograr el embarazo deseado representa una grave problemática social. En muchos casos las personas que desean ser madres o padres se someten a más de un tratamiento de fertilización asistida, empezando por los de más baja complejidad, hasta llegar a los de mayor complejidad (ver IV).

La detección de posibles anomalías espermáticas planteadas en nuestro RETO tendría valor diagnóstico y predictivo para seleccionar el procedimiento de fertilización asistida con más posibilidades de éxito. Además, dejará sentado bases para el uso de nuevas pruebas diagnósticas como un sólido predictor de las tasas de éxito en las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA).

#### **IV. DETALLE DEL PROCESO PRODUCTIVO, DE GESTIÓN, COMERCIALIZACIÓN, ETC. EN EL QUE SE DA LA PROBLEMÁTICA A RESOLVER**

# Programa Resolución de Retos Socio-Productivos



Las TRA son variadas y se clasifican de acuerdo a su nivel de complejidad: i) baja complejidad: la fecundación se produce dentro del cuerpo de la mujer, ii) alta complejidad: los óvulos son extraídos del cuerpo femenino y se logra la fertilización en el laboratorio. Dentro de las primeras se encuentra la IIU y dentro de las segundas la fertilización in vitro convencional (FIV) y la inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI, del inglés “intracytoplasmic sperm injection”). En el IMR se realizan las tres; a continuación, una breve descripción de cada método en orden de complejidad creciente.

## Inseminación intrauterina

Si el espermograma es normal y no hay infertilidad por factor femenino, se aconseja realizar esta técnica en primer lugar, por ser la más parecida a la fecundación natural y por su menor invasividad y costo. Consiste en colocar espermatozoides lavados dentro de la cavidad uterina en el momento en que la mujer está ovulando. La tasa de éxito por intento es del orden del 10-15%, por esta razón se aconseja repetirlo entre tres y cuatro ciclos antes de descartar su utilidad o pasar a un tratamiento más complejo.

En el caso de pacientes que ya accedieron a la IIU y no lograron el embarazo, los resultados de los análisis ayudarán a los profesionales a decidir si se justifica repetir el procedimiento o si conviene pasar a otros de alta complejidad. Este diagnóstico es valioso para aumentar las probabilidades de éxito y disminuir los costos emocionales y económicos que afrontan los pacientes al someterse a varios ciclos frustrados.

## Fecundación in vitro (FIV)

Consiste en fertilizar óvulos con espermatozoides en una cápsula de cultivo en el laboratorio. En un ciclo natural, la mujer produce un óvulo cada mes. Para un tratamiento de FIV se necesitan 9-12 óvulos, lo que se logra mediante la administración de hormonas que “hiperestimulan” el ovario. Luego los ovocitos obtenidos por punción transvaginal se co-incuban con espermatozoides (aproximadamente 50.000 espermatozoides/óvulo) previamente seleccionados por medio de una técnica de mejoramiento. Algunos espermatozoides se adhieren a la capa externa del óvulo y sólo uno logra la penetración. Para que se logre la fecundación es necesario que los espermatozoides, además de móviles con patrón de movilidad hiperactiva, sean capaces de responder a la presencia del ovocito movilizando calcio intracelular y sufriendo la reacción acrosomal. Luego entre 16 y 18 horas después de la inseminación se constata la fertilización, y luego de 3 a 5 días se transfieren uno o dos embriones al útero. Se calcula que el embarazo se produce en el 25-35% de los casos, aunque las chances son variables según la edad, la calidad de los espermatozoides y la respuesta de la mujer a la estimulación ovárica en ese ciclo.

# Programa Resolución de Retos Socio-Productivos



## Inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)

Es una variante de FIV convencional, en la que la diferencia radica en la manera de realizar la fertilización del óvulo: en lugar de incubar los espermatozoides con el óvulo, se introduce un solo espermatozoide dentro del citoplasma de cada óvulo maduro (en metafase II) mediante la microinyección con utilización de micromanipuladores. Se inyectan 9-10 ovocitos por ciclo y se incuban hasta transferir 1-2 embriones al útero. Se utiliza cuando los análisis previos del semen hacen suponer que habrá dificultades para fecundar (bajo número de espermatozoides, motilidad deficiente, mala morfología), o cuando la pareja tenga el antecedente de una mala fertilización en intentos previos. Este método es tan invasivo como FIV y la fecundación del ovocito por parte del espermatozoide ocurre con intervención del biólogo.

Para llevar a cabo este RETO, reclutaremos pacientes que asistan al IMR a partir de la aprobación del proyecto. Cabe destacar que el IMR cuenta con un importante flujo de parejas que presentan el diagnóstico de ESCA que pretendemos analizar. En el momento del reclutamiento, los pacientes firmarán un consentimiento informado y recibirán la información requerida. Las muestras de semen obtenidas a partir de los pacientes para su diagnóstico, una vez procesadas en el IMR, serán separadas y almacenadas en óptimas condiciones de temperatura para luego ser analizadas en el laboratorio de la UNCUYO que ofrezca una solución a nuestro RETO.

- V. RESOLUCIÓN DEL O LOS RETOS
  - a. Descripción de la solución esperada

# Programa Resolución de Retos Socio-Productivos



El espermograma, aunque constituye la principal prueba diagnóstica para determinar la fertilidad masculina, no es suficiente para demostrar su capacidad de fertilizar los ovocitos. Por lo cual, utilizar pruebas que evalúen este aspecto de la función espermática representan un método de evaluación más confiable del potencial de fertilidad de los espermatozoides, permitiendo además seleccionar la TRA más adecuada. Para que ocurra la fertilización, los espermatozoides requieren experimentar eventos tales como la capacitación, la hiperactivación, incrementar el calcio intracelular y sufrir la reacción acrosomal frente a estímulos fisiológicos.

Entre las pruebas funcionales diagnósticas que proponemos como soluciones para identificar anomalías espermáticas en pacientes con ESCA podemos destacar:

-Test de reacción acrosomal: Evalúa la presencia o no de acrosoma a partir de un estímulo fisiológico. Requiere de sondas fluorescentes y puede evaluarse por citometría de flujo y microscopía de fluorescencia.

-Evaluación de la motilidad e hiperactivación: A través de un sistema computarizado se miden distintas variables que la definen.

-Medición de calcio intracelular: Evalúa el incremento del calcio intracelular luego de un estímulo con agonistas fisiológicos. Puede evaluarse por espectrofluorimetría y microscopía de fluorescencia. El incremento de calcio es muy importante para que ocurran los dos eventos anteriores.

Los pacientes que por indicación médica acceden a tratamientos de fertilidad, primero realizan tres ciclos de IIU, esto es porque así lo requieren los protocolos de las obras sociales, según la ley 26862.

Los nuevos estudios diagnósticos de laboratorio propuestos, que se realizarán en espermatozoides de varones de parejas diagnosticadas con ESCA, nos permitirán definir dos grupos: a) varones normales según los parámetros analizados y b) varones con alteraciones en los parámetros analizados.

- Todos los pacientes van a realizar tres ciclos de IIU. Esto es porque así lo requieren los protocolos de las Obras Sociales, según la Ley 26862. De aquí surgen dos poblaciones: a) embarazadas y b) NO embarazadas, lo cual nos permitirá un primer análisis para correlacionar con los resultados de los tests diagnósticos propuestos.

- El grupo NO embarazadas pasa automáticamente a tratamiento de alta complejidad. Los óvulos obtenidos se dividirán en dos grupos: b.1) se tratan por FIV convencional y b2) se fertilizan por ICSI. Luego se compararán los resultados obtenidos en términos de porcentajes de fertilización de cada grupo con los tests realizados. asociado al fracaso de las de las repetidas fallas de sus tratamientos sin conocer la causa.

# Programa Resolución de Retos Socio-Productivos



- En caso de encontrar correlaciones significativas, estos tests permitirían identificar una porción de pacientes diagnosticados como ESCA, que deberían ir directamente a tratamiento con ICSI, evitando así los tiempos y costos, además del desgaste emocional

## **b. Presupuesto estimado y comprometido**

Los requerimientos financieros necesarios para el abordaje de Reto serían de \$ 300.000.- los cuales se destinarán a la compra de reactivos, descartables, medios de cultivo celular y otros insumos de uso diario en los laboratorios.

Para apoyar el desarrollo del proyecto el Instituto de Medicina S.A aportará reactivos para determinaciones de laboratorio específicas, el equipamiento de su laboratorio de andrología para el procesamiento de muestras de semen, personal médico que seleccionará a pacientes según el diagnóstico a estudiar, personal del laboratorio que explicará a los pacientes acerca del reto bajo la firma de un consentimiento y luego analizará y almacenará las muestras de semen.

## **c. Recursos humanos y físicos comprometidos**

# Programa Resolución de Retos Socio-Productivos



## - Recursos Humanos

Dr. Antonio R. Martínez, Doctor en Medicina, médico ginecólogo especialista en Medicina Reproductiva, Fundador y Director Médico del Instituto de Medicina Reproductiva de Mendoza. Sector Socio productivo IMR.

Dr. Leonardo Pelletan. Doctor en Ciencias Biológicas. Director del Laboratorio de Fertilización in vitro del Instituto de Medicina Reproductiva. Sector Socio productivo IMR.

Docentes investigadores y sus equipos propuestos para la resolución del Reto.

Facultad de Ciencias Médicas , U.N.Cuyo:

-Dr. Gerardo A. De Blas. LaTIT-IHEM-FCM-UNCuyo. Sector Docente-Investigador. Investigador Adjunto CONICET, Jefe de Trabajos Prácticos. Director del Laboratorio de Telediagnóstico e Investigación Traslacional (LaTIT). Antecedentes: experiencia en investigación básica en biología espermática humana.

-Lic. Rodolfo Arias, LaTIT-IHEM-FCM-UNCuyo. Becario doctoral-CONICET. Inscripto en el programa de doctorado de PROBIOL en la Facultad de Ciencias Médicas. Proyecto de tesis asociado al estudio de la fisiología espermática en el laboratorio del Dr. Gerardo De Blas.

-Dra. Esperanza Mata Martinez, LaTIT-IHEM-FCM-UNCuyo . Becario Post-doctoral-CONICET. Laboratorio de Telediagnóstico e Investigación Traslacional (LaTIT). Proyecto asociado al estudio de la fisiología espermática en el laboratorio del Dr. Gerardo De Blas.

-Carlos Lucciano Agostini: estudiante de 4º año de Medicina en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Cuyo.

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, U.N. Cuyo

-Dra Claudia Tomes. IHEM-FCEN-UNCuyo. Sector Docente-Investigador, Investigador Principal CONICET, Profesor Asociado. Antecedentes: amplia experiencia en investigación básica en biología espermática humana

-Fabiana Benegas Guerrero: estudiante avanzada de la Licenciatura en Biología en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Cuyo. Receptora de beca del Consejo Interuniversitario Nacional años 2020-2021 para trabajar en proyecto relacionado a la fisiología espermática en el laboratorio de la Dra Tomes

-Lic Luis Enrique Hernández Tellez, biólogo. Becario doctoral CONICET, cursando la carrera de doctorado en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Cuyo ; proyecto de tesis relacionado a la fisiología espermática en el laboratorio de la Dra Tomes



# Programa Resolución de Retos Socio-Productivos



## -Recursos físicos

El Instituto de Medicina Reproductiva ubicado en calle Pedro Molina 767 de Ciudad-Mendoza cuenta en sus laboratorios con Microscopio invertido Olympus IX73 con Platina térmica y controlador Tokai Hit TP-110R05 a coplado a Sistema completo de micromanipuladores Narishige modelo ON3-99D-2. Lupa Olympus, Microscopio optico de contraste de fase, Nikon. Estufas de cultivo: Incubadora CO2 Forma Scientific Modelo 3111, incbadora Trigas K-System, Estufa de cultivo CSE N° 101. Además cuenta con Campana de flujo laminar BIOBASE modelo BBS-DDC, Centrífuga IEC, Mod. Centra CL2 (N° de serie 42701753).

El Instituto de Histología y Embriología (IHEM-CONICET-UNCuyo) y el LaTIT que funciona en el Área de Farmacología de la Facultad de Ciencias Médicas-UNCuyo (IHEM-CONICET-FCM-UNCuyo) cuentan con un microscopio Zeiss AXIOLAB, una cámara digital BaslerSC780gc, cámara Makler, PC All-in-one marca Dell y el software de CEDAI para realizar espermogramas computarizado (CASA), microscopios confocales FV1000 de Olympus y C1 de Nikon, microscopio invertido Nikon TE300 con iluminación LED (3 colores) con cámara EMCCD Luca EM R 604 (Andor Technology), citómetros de flujo BD FACS Aria III y Accuri C6, estufas gaseadas y todos los instrumentos necesarios para realizar todas las metodologías propuestas.