PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA
Reproducción Bilbao
Ginegorama S.L.

Activación de folículos primordiales en mujeres con baja reserva ovárica mediante factores de crecimiento.

Título del proyecto

Activación de folículos primordiales en mujeres con baja reserva ovárica mediante factores de crecimiento.

Datos del promotor

Reproducción Bilbao. Ginegorama S.L.
Morgan, 2B. 48014. BILBAO

Datos del investigador principal

Gorka Barrenetxea Ziarrusta MD, PhD
Director Médico de Reproducción Bilbao
Profesor titular de Ginecología y Obstetricia de la UPV/EHU
Correo electrónico: gbarrenetxea@reproduccionbilbao.es
Teléfono: 00 34 946 11 12 13

Investigadores colaboradores

Martín Axpe MD
Director Médico de Laboratorios Axpe, Bilbao

Irene Romero Romeo MD
Especialista en Ginecología y Obstetricia.
Reproducción Bilbao.
Osakidetza

Julen Barrenetxea Arrinda MD
Especialista en Ginecología y Obstetricia.
Reproducción Bilbao.
Osakidetza

Edurne Martínez Sanz
Embrióloga senior
Reproducción Bilbao

María de las Heras Martínez
Embrióloga senior
Reproducción Bilbao

Oihane Gómez Picado
Embrióloga senior
Reproducción Bilbao

Alaine Abio Monasterio
Enfermera. Reproducción Bilbao

Maitane Bilbao Zabala
Enfermera. Reproducción Bilbao

Responsabilidades y firmas

Al firmar el presente protocolo titulado " **Activación de folículos primordiales en mujeres con baja reserva ovárica mediante factores de crecimiento",**
Los abajo firmantes afirman que:

- El estudio respeta las normas éticas y legales aplicables a este tipo de investigación y seguirá las normas de buena práctica clínica en su realización.
- Cuenta con los recursos materiales y humanos necesarios para llevar a cabo el estudio, sin que ello interfiera en la atención médica habitual en el centro.
- Se comprometen a que cada sujeto sea tratado y controlado siguiendo las normas establecidas por el Comité Ético de Investigación Clínica.
- Los colaboradores incluidos en el estudio están adecuadamente formados para su realización, tendrán una participación activa y consienten la misma.

Fdo. Gorka Barrenetxea Fecha
Director Médico reproducción Bilbao
Investigador principal

Fdo. Martín Axpe Fecha
Director Médico Laboratorios Axpe

Índice Pág.

1. Resumen 5
2. Objetivo principal 6
3. Objetivos secundarios 6
4. Antecedentes y estado del arte 7
5. Metodología y Plan de Trabajo 14
6. Consideraciones éticas 23
7. Financiación 25
8. Seguros 25
9. Análisis de potenciales beneficios 28
10. Medios disponibles para la realización del estudio 30
11. CV del equipo investigador 35
12. Bibliografía 41

Resumen

Objetivos: el objetivo del presente trabajo es comparar de forma prospectiva la respuesta ovárica tanto cuantitativa como cualitativa en ciclos sucesivos de estimulación tras la administración de factores de crecimiento mediante la inyección de plasma autólogo rico en plaquetas (PRP) durante la punción ovárica para recuperación de ovocitos frente a la no administración de tales factores.

Metodología: estudio clínico aleatorizado prospectivo, con intervención, unicéntrico con el objeto de valorar procedimiento de mejora.
Se establecerán dos grupos de intervención de forma aleatorizada (aleatorización estratificada en base a los criterios de respuesta ovárica de Poseidón y asignación por bloques permutados). En el grupo estudio se administrará PRP tras la punción folicular en una primera punción (estableciéndose, a su vez, 3 subgrupos). En el grupo control se realizarán las sucesivas punciones según protocolo habitual sin administración de PRP.
Tras la recuperación ovocitaria de procederá a la fecundación según procedimiento habitual con desarrollo embrionario ulterior y biopsia embrionaria en su caso. La transferencia embrionaria en Reproducción Bilbao es siempre de embrión único por lo que se valorará comparativamente la tasa de implantación.

Hipótesis de trabajo

En el presente proyecto **se parte de la hipótesis de que existen en los ovarios células primordiales (ovogonias) capaces de ser activadas al reiniciar la división mitótica tras el nacimiento, en la edad adulta contrariamente al dogma científico establecido hasta el momento, bajo determinados estímulos como pueden ser los factores de crecimiento endógenos**. La inyección de factores de crecimiento en forma de PRP es capaz de activar folículos primordiales previamente a un nuevo ciclo de estimulación.

Objetivo principal

- Aumentar el número de ovocitos disponibles y su calidad en pacientes con baja respuesta ovárica tras un procedimiento de estimulación ovárica controlada mediante la activación de folículos primordiales quiescentes por acción de factores de crecimiento endógenos presentes en el PRP. Esto permitirá recuperar más ovocitos y de mayor calidad, así como reducir el número de estimulaciones en este tipo de pacientes.

Objetivos secundarios

1. Incrementar el conocimiento sobre los mecanismos de acción de factores de crecimiento presentes en el PRP sobre la reserva ovárica inicial de la paciente y la activación de folículos primordiales quiescentes.
2. Determinar el efecto que ejercen la dosis y concentración tales factores sobre el pool de reserva ovárica funcional.
3. Evaluar el efecto de tales factores sobre la calidad ovocitaria y posteriormente sobre el embrión en sus diferentes estadios de desarrollo.
4. Evaluar el aumento en el número de ovocitos disponibles en las pacientes tratadas con factores de crecimiento presentes en el PRP tras un nuevo procedimiento de estimulación ovárica controlada.
5. Desarrollar una herramienta terapéutica destinada a pacientes con baja respuesta ovárica con la que reducir el número de ciclos de estimulación ovárica controlada durante los TRA.
6. Reducir el número de estimulaciones necesario para conseguir un número determinado de ovocitos.
7. Mejorar la calidad de los ovocitos y las tasas de éxito de los TRA en pacientes con baja respuesta ovárica.
8. Proporcionar información cara al porvenir reproductivo de mujeres sometidas a tratamientos esterilizantes.

Antecedentes y estado del arte

Los procedimientos de medicina reproductiva se aplican con frecuencia creciente en mujeres y parejas no afectas de una esterilidad absoluta. La edad media del primer embarazo en España se sitúa en los 33 años y a los 35 años de edad un 70% de mujeres no han tenido hijos (1). Como consecuencia de ello el porcentaje de mujeres que deben recurrir a procedimientos de reproducción asistida (RA) es creciente. De hecho, España es, tras Estados Unidos y Japón (2), el tercer país en número de ciclos de RA registrados en el mundo. Ello conlleva un gasto económico tanto en términos individuales como sociales que supone un porcentaje no menor del PIB en países desarrollados (3). Nos encaminamos, pues, a un creciente e imparable incremento en procedimientos debidos a la tendencia social al retraso en la maternidad (4, 5).

El ovario humano es responsable tanto de la liberación de ovocitos maduros para la fecundación como de la producción y liberación de diferentes hormonas, fundamentalmente esteroideas, y factores de crecimiento y citoquinas que están involucradas en el proceso de foliculogénesis y ovogénesis (6). La capacidad reproductiva de una mujer depende de dos factores: del número de folículos (y por ende, ovocitos) a lo largo de su vida reproductiva y de la calidad de los mismos. El número de folículos está genéticamente predeterminado antes del nacimiento tras el proceso de fecundación y se conoce como reserva ovárica. Tradicionalmente, se ha considerado que las mujeres nacen con toda la población de ovocitos de la que van a disponer durante su vida, con el tiempo esos ovocitos se van perdiendo hasta agotarse completamente. Sin embargo, no todas las mujeres de la misma edad tienen una reserva similar existiendo una gran variabilidad. En condiciones normales un feto femenino cuenta con 4-6 millones de folículos durante su vida fetal (20 semanas de embarazo materno), nace con aproximadamente un millón, y comienza las menstruaciones (menarquia) con 300.000. Sólo unos cientos de estos folículos completarán todo su desarrollo hasta el estadio de folículo ovulatorio en condiciones normales mientras que el resto se volverán atrésicos (7). Cuando el número de folículos residuales decrece por debajo de un dintel (situado próximo a los 1000 folículos) la activación y desarrollo folicular se interrumpe conduciendo a un proceso de anovulación y amenorrea (8). Por tanto, el fallo ovárico es una consecuencia de una disminución de la reserva ovárica. Hablamos de menopausia, proceso de fallo ovárico primario en el que cesan las menstruaciones como consecuencia del agotamiento de la reserva folicular ovárica, proceso que ocurre a una edad media de 51 años (con un rango de 48-54 años). Hablamos de menopausia temprana cuando ocurre entre los 40 y 44 años de edad y de menopausia precoz cuando el agotamiento folicular tiene lugar por debajo de los 40 años. La menopausia tardía es la que tiene lugar a partir de los 55 años de edad (7,9,10).

El diagnóstico de la menopausia es fundamentalmente clínico (amenorrea secundaria tras fallo ovárico primario). La determinación de niveles elevados de gonadotropinas (FSH superior a 40 UI/l), bajos de estradiol (E2 por debajo de 30 pg/ml) confirma el fallo ovárico. Actualmente, la

determinación de la hormona antimulleriana (AMH) es considerado como el mejor marcador de depleción folicular (11).

El fallo ovárico prematuro (FOP) es definido como el cese de la función ovárica normal por depleción folicular, caracterizado por amenorrea hipergonadotropa en una mujer por debajo de los 40 años de edad (12). El término fue inicialmente propuesto por Welt (13) quien diferenció al FOP oculto (niveles normales de gonadotropinas, reglas regulares y fertilidad reducida), el FOP bioquímico (niveles elevados de gonadotropinas, reglas regulares y fertilidad reducida) y el FOP manifiesto (niveles elevados de gonadotropinas, reglas irregulares o ausentes y fertilidad reducida). Aunque el término de FOP sugiere un fallo ovárico irreversible, lo cierto es que entre un 5 y un 10% de estas mujeres pueden concebir naturalmente por lo que se ha propuesto el término insuficiencia ovárica prematura (IOP) (14,15).

La etiología del FOP es desconocida en la mayor parte de casos. En ciertas ocasiones, causas genéticas, autoinmunes o iatrogénicas son las responsables del cuadro. La base genética de ciertos cuadros de FOP está sustentada por estudios realizados en familias afectas en varias generaciones (7,16). Algunas enfermedades autoinmunes conducen también a una depleción folicular causante de un FOP. Finalmente, ciertos tratamientos (fundamentalmente antineoplásicos) provocan un agotamiento de la reserva folicular (12, 17, 18).

Prevención y tratamiento del FOP

El primer paso para poder hacer un tratamiento de reproducción asistida como FIV o ICSI es la estimulación ovárica controlada en la cual se logra la maduración de varios folículos a la vez con el fin de aumentar el número de ovocitos obtenidos, lo que se consigue con tratamientos con gonadotropinas y agonistas o antagonistas de la GnRH. La baja respuesta ovárica es habitual en mujeres de mas de 35 años, no obstante, también hay casos de mujeres jóvenes con baja respuesta ovárica por fallo ovárico prematuro (FOP) o insuficiencia ovárica prematura.

Tanto la prevención como el tratamiento de un FOP son extremadamente dificultosos. A pesar de la existencia de un número (reducido) de folículos, lo cierto es que su desarrollo tanto espontaneo como estimulado son muy limitados (10).

Hasta ahora, la única opción en los casos de FOP es la preservación de corteza ovárica u ovocitos (tras un proceso de estimulación) previos al tratamiento quimioterápico que pudiere ocasionar una depleción folicular o la realización de un tratamiento de fecundación in vitro con ovocitos de donante (19). En cualquier caso, la posibilidad de embarazo en pacientes con FOP es limitada. Aunque se han propuesto diferentes agentes inductores de la ovulación las tasas de éxito han sido muy pobres (8). La búsqueda de un tratamiento efectivo para la baja respuesta ovárica, al ser todavía un cuadro sin una causa clara, es dificultosa. Por ello, las soluciones existentes se

limitan al uso de terapias adyuvantes con las que mejorar la sensibilidad ovárica, estimulación en fase lútea, preparación de folículos antrales con andrógenos (DHEA, testosterona), ciclos de acumulación de ovocitos o ciclos de estimulación mínima o ciclos naturales en casos seleccionados. De todas estas estrategias, la más utilizada consiste en la acumulación de ovocitos tras sucesivas estimulaciones ováricas. Estos ovocitos se acumulan criopreservados hasta el momento en el que se decide continuar con el ciclo. Esta estrategia genera mucha ansiedad para las pacientes porque deben desplazarse continuamente a la clínica y llevar controles muy exhaustivo. Aunque en determinadas situaciones la acumulación de ovocitos puede ser efectiva, lo cierto es que la propuesta terapéutica más frecuentemente indicada es la de la utilización de ovocitos de donante anónima.

Diferentes soluciones alternativas han sido propuestas incluyendo la terapia mediante células madres (stem cells) en lo que podríamos denominar terapia regenerativa (18, 20, 21).

El desarrollo folicular en los ovarios se produce a diferentes niveles. En un primer nivel, folículos primarios y folículos primordiales pequeños se desarrollan de forma ininterrumpida y sin necesidad de estímulo gonadotropo hasta el estadio de folículos primordiales grandes. Este proceso tiene lugar ya desde la vida fetal y explica la gran depleción que ocurre incluso antes de la menarquia. A partir de este nivel y bajo la influencia del estímulo gonadotropo los folículos primordiales pueden desarrollarse hasta el estadio de folículo preovulatorio o pueden volverse atrésicos. Diferentes factores incluyendo el VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial), BMP7, factor de crecimiento de fibroblastos, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de queratonocitos han sido implicados en la activación de los folículos primordiales quiescentes (22) aunque se desconoce qué tipo de señales intra e intercelulares son los responsables de que sólo ciertos folículos culminen su desarrollo (23).

Células madre

Las denominadas “stem cells” (células madre) son células indiferenciadas que han sido identificadas en diferentes estadios del desarrollo humano, incluyendo fase embrionaria, fetal y adulta. Las células madres son células no diferenciadas capaces de dividirse y renovarse de forma indefinida (24).

De hecho, se han utilizado células madre de origen embriológico (ESCs), mesenquimal (MSCs) de tejidos extraembrionarios, espermatogonias (SSCs) y de origen ovárico (OSCs) en diferentes terapias para la infertilidad (25).

Las células madre mesenquimales (MSCs) han sido aisladas de la médula ósea (18), placenta y cordón umbilical (10, 26) e incluso ovario (27). Se trata de células pluripotentes y poco inmunógenas con las consiguientes ventajas que ello conlleva (28).

Inicialmente, y debido a su pluripotencialidad y baja inmunogenicidad, las células madre procedentes de médula ósea (BMSCs) fueron utilizadas en casos de FOP inducido por cisplatino en ratas. Estudios ulteriores demostraron una reactivación de la función folicular en modelo murino de FOP causado por quimioterapia. Otros autores sugieren una inhibición de la apoptosis de células de la granulosa provocada por un agente quimioterápico. Tras estos estudios en modelos animales, se utilizaron terapias con BMSCs mesenquimales autólogas en casos de FOP idiopático con una recuperación de la menstruación en dos casos (20% y un embarazo (10%) (18).

La utilización de células madre mesenquimales procedentes de placenta (hPMSCs) debería dar resultados similares debido a su fácil aislamiento y baja inmunogenicidad pero os resultados preliminares no fueron tan satisfactorios (29).

Las células madre de línea germinal (GSCs) serían aquellas capaces de producir gametos y constituyen en este sentido una línea de investigación prometedora. El concepto surgió a raíz de unos trabajos sobre espermatogénesis de Regaud et al. (30,31). Los autores postulan que una población de células madres capaces de auto-renovarse han de estar presentes en el testículo cara a la producción ininterrumpida de espermatozoides. Actualmente sabemos que las espermatogonias, capaces de dividirse mitóticamente y diferenciarse ulteriormente hacia espermátidas, constituyen las GSCs testiculares (32).

Sin embargo, cuando nos referimos a los ovarios los datos no son tan claros. Se han identificado células madre germinales femeninas (fGSCs) capaces de mantener la ovogénesis a lo largo de toda la vida reproductiva en especies no mamíferas como el ovario de Drosophila (33) pero la presencia de tales células madre en ovarios de mamíferos es causa de un profundo debate (34). Lo cierto es que, tradicionalmente, existe un principio-dogma por el que se afirma que el número de ovocitos (folículos) en mamíferos es finito y está establecido antes del nacimiento. Esto es, una mujer tiene una dotación de folículos predeterminada que irá agotando a lo largo de su vida, pero, en ningún caso, existe una neo-ovogénesis. Tal hipótesis fue inicialmente sugerida en el siglo XIX por el embriólogo Waldeyer (35). Sin embargo, estudios recientes parecen poner en duda tal hipótesis y sugieren la posibilidad de una neo-ovogénesis en la mujer adulta (21,27). Ello conlleva la posibilidad de la existencia de células madre germinales en ovarios adultos, aunque existe ciertamente una controversia en este campo (34, 36).

Si se confirmara la existencia de células madre germinales (GSCs) en ovarios adultos y se encontrara la **manera de activarlas**, nos encontraríamos ante una posibilidad terapéutica para el FOP, tanto desde un punto de vista hormonal como reproductivo, ciertamente novedosa (34). De hecho, el tratamiento del FOP en ratones ya ha sido reportado. Debe existir una comunicación bidireccional entre ovocito y las células somáticas que lo rodean y, en cualquier

caso, deben analizarse los niveles de impronta genómica que acontecerían en los ovocitos resultantes de una activación durante la vida adulta (37).

Investigadores de la Universidad de Harvard inyectaron factores de crecimiento en ovarios murinos y comprobaron el desarrollo de ovocitos maduros a partir de las células madre embrionarias. De esta forma, se demostró la posibilidad de utilizar un activador (factor de crecimiento) para reiniciar la división y diferenciación de tales células madre ováricas (GSCs) (36, 38).

En esta línea de trabajo, estudios en investigación básica mediante activadores con PI3K consiguieron estimular folículos primordiales murinos y humanos mediante la activación de la vía PI3K-AKT-FOXO3 (39). Además, la fragmentación física de la corteza ovárica (tal como se realiza por ejemplo para la preservación de la misma previa a un tratamiento quimioterápico o radioterápico) ha sido capaz de inducir un crecimiento folicular secundario tanto en ratones como en humanos (8,40).

Plasma rico en plaquetas

La utilización de plasma autólogo rico en plaquetas (PRP) constituye una terapia relativamente novedosa ya utilizada en diferentes campos de la biomedicina como la traumatología, dermatología, cirugía plástica y la odontología entre otros. El PRP ha demostrado una capacidad de aceleración en diferentes procesos de curación y recuperación de tejidos (41,42). La eficacia de este producto se basa en su riqueza en factores de crecimiento y proteínas implicados en los procesos de regeneración tisular (42). Desafortunadamente y aunque este tipo de terapias se ha desarrollado durante los últimos 15 años, existe una falta de ensayos randomizados y controlados que avalen con un nivel máximo de evidencia su eficacia (43). En ausencia de tal nivel de evidencia, el debate se ha centrado en las diferentes concentraciones de células, plaquetas, factores de crecimiento y proteínas adecuados en cada caso (44).

PRP en el FOP

La terapia mediante PRP en mujeres con FOP, denominada por algunos como “rejuvenecimiento ovárico” ya ha sido reportada (45) inicialmente en la reunión anual de la ESHRE de 2016 (Helsinki). Los autores inyectaron PRP en 8 mujeres con FOP refiriendo un “rejuvenecimiento” tras 13 meses del tratamiento consiguiendo embriones para su criopreservación. Sin embargo, tal estudio, **no se realizó con un grupo control por lo que no es descartable que el FOP no fuera total** (38).

En los últimos años se han llevado a cabo numerosas investigaciones acerca de la utilización de plasma rico en plaquetas (PRP) obtenido de sangre de los propios pacientes. El PRP induce la liberación de factores de crecimiento plaquetarios, un conjunto de sustancias proteicas que, junto con hormonas y neurotransmisores desempeñan una importante función en la comunicación entre las células, lo que les otorga numerosas propiedades biológicas como la

regeneración de tejidos. Por ello el PRP ya se está utilizando como terapia en diferentes campos de la biomedicina como la traumatología, dermatología, cirugía plástica y la odontología entre otros.

Debido al éxito de los PRP en diferentes campos de la biomedicina (41,42,43,44), se han empezado a realizar los primeros estudios de viabilidad para evaluar su efecto en el campo de la reproducción y más concretamente en la estimulación de folículos primordiales (38,45). Por un lado, se ha realizado una investigación en modelo animal (murino) en la que se han inyectado factores de crecimiento en los ovarios de los ratones y se ha conseguido la estimulación de folículos primordiales, siendo un gran hito en este campo de investigación. Por otro lado, se ha realizado el primer estudio en humanos con 8 mujeres con fallo ovárico prematuro a las cuales se le han inyectado factores de crecimiento. En este primer estudio se obtuvieron resultados muy prometedores, obteniendo finalmente embriones viables para su criopreservación. No obstante, este último estudio, que es el único que se ha publicado hasta la fecha en humanos, **no se realizó con un grupo control,** por lo que no se pudo determinar si esta estrategia consigue que se recuperen más ovocitos maduros durante la estimulación ovárica de las pacientes. Con ello, **a pesar de que hay indicios del éxito que podría tener el tratamiento con factores de crecimiento de mujeres con baja respuesta ovárica, todavía no se ha demostrado que pueda aumentar el número de ovocitos que se recuperan durante la estimulación ni que permita aumentar las tasas de éxito de los tratamientos**.

Mecanismo de acción del PRP

El mecanismo de acción del PRP no está totalmente definido. Las plaquetas son ricas en proteínas bioactivas con un papel activo en la hemostasia y el reclutamiento de leucocitos (46). La inflamación es una parte fundamental del proceso de reparación tisular. En una primera fase, las plaquetas acceden a la zona del daño tisular liberando su contenido interno incluidos diferentes factores de crecimiento. La alta concentración de factores de crecimiento en el PRP aceleraría el proceso de reparación del daño tisular. Las plaquetas proporcionan proteínas para la hemostasia primaria y secundaria incluyendo fibrinógeno y el factor Willebrand. Las plaquetas activadas secretan una variedad de citoquinas incluyendo CXCL4 y CXCL7 que atraerán los leucocitos a la herida. Los factores de crecimiento liberados por las plaquetas promueven la regeneración tisular siguiendo las siguientes etapas: resolución de la necrosis tisular, quimiotaxis, regeneración, proliferación y migración celular, síntesis de la matriz extracelular, remodelamiento, angiogénesis y re-epitelización. (38,43).

Contraindicaciones y riesgos

El tratamiento mediante PRP se considera seguro en pacientes adecuadamente seleccionadas. Una analítica previa debe evaluar hematológicamente a la paciente y descartar trastornos (congénitos o adquiridos) de la coagulación y de la función plaquetaria. Asimismo, pacientes con

tratamientos anticoagulantes o fibrinolíticos no deben ser incluidas en el protocolo. Cualquier proceso infeccioso supone una contraindicación para el procedimiento (42).

Es por ello que se plantea el presente proyecto de investigación y desarrollo que pretende establecer una solución para pacientes con baja respuesta ovárica, buscando superar una limitación al conocimiento existente y ofreciendo mayores garantías de éxito en los procesos de reproducción asistida. Con ello, el presente proyecto presenta novedades respecto al estado del arte y culminará con el desarrollo de una nueva herramienta terapéutica con la que aumentar **el número de ovocitos disponibles** en pacientes con baja respuesta ovárica **tras un procedimiento de estimulación ovárica controlada mediante la activación de folículos primordiales quiescentes por acción de factores de crecimiento endógenos presentes en el plasma autólogo rico en proteínas (PRP). Lo que permitirá recuperar más ovocitos y de mayor calidad reducir el número de estimulaciones en este tipo de pacientes.**

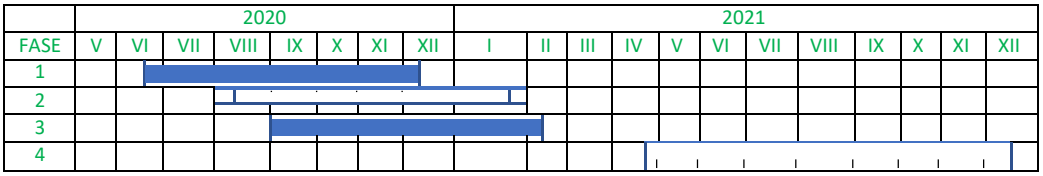
Metodología y Plan de trabajo

Planteamos el presente proyecto para evaluar el efecto beneficioso real que puede causar el uso de factores de crecimiento endógenos presentes en el PRP sobre una tipología concreta de pacientes, como son las que presentan baja respuesta ovárica. Para ello, llevará a cabo un estudio en el cual en diferentes subgrupos se inyectarán diferentes concentraciones y dosis de plasma rico en plaquetas durante la punción del primer ciclo de estimulación. Tras el tratamiento con se continuará con dos ciclos de estimulación adicionales para evaluar si en los siguientes ciclos se consiguen recuperar más ovocitos maduros y cuánto tiempo debe transcurrir para que el efecto de los factores de crecimiento presentes en el PRP se refleje en una mejora tanto de la cantidad como la calidad de los ovocitos recuperados en la punción. Asimismo, con los ovocitos que se acumulen de los tres ciclos de estimulación se procederá a realizar un seguimiento lineal de cada ovocito y embrión resultante aplicando la estricta política de screening genético de cada embrión resultante y transferencia de embrión único. De esta forma, se analizarán diferentes hitos reproductivos (madurez ovocitaria, fecundación, desarrollo de blastocisto, aeuploidía, implantación, evolutividad) de forma individualizada.

Todo esto se evaluará frente a un grupo control al que no se administrará el PRP, lo que supone una novedad crucial respecto al trabajo anterior. Asimismo, al tener la trazabilidad del origen de los ovocitos (número de punción de la que provienen) y dado que en Reproducción Bilbao se caracterizan por realizar siempre transferencias de un único embrión, se dispondrá de toda la información para conocer qué ovocitos han dado los mejores resultados reproductivos. Esto permitirá conocer en qué punción se consiguen ovocitos más viables (que den lugar a éxito de embarazo), así como qué dosis y concentración de factores de crecimiento permiten obtener los mejores resultados. Con ello, durante todo el tratamiento se irán recopilando todos los datos obtenidos de los subgrupos experimentales y del grupo control, **a partir de los cuales se desarrollará la nueva herramienta terapéutica**, definiendo las pautas sobre cómo, cuándo y a qué dosis se deben aplicar los factores de crecimiento para maximizar su eficacia.

Cronograma de las actividades técnicas previstas (Gantt, PERT). Metodología de ejecución de las tareas y sub-tareas a desarrollar en las diferentes actividades técnicas previstas indicando su interrelación, camino crítico y holgura de las mismas.

A continuación, se presenta el cronograma de las actividades técnicas previstas, de la metodología de ejecución de las tareas a desarrollar en las diferentes actividades técnicas previstas, indicando su interrelación:
Fase 1: Diseño del estudio y selección de pacientes.
Fase 2. Estimulación ovárica controlada, punción y tratamiento con PRP.
Fase 3. ICSI, desarrollo embrionario, biopsia y transferencia.
Fase 4. Seguimiento gestacional y análisis de datos.



FASE 1: Diseño del estudio y reclutamiento de pacientes

La duración de esta fase será aproximadamente de 6 meses, se iniciará a principios de junio de 2020 y tiene previsto terminar en Marzo del 2021.

Tras haber realizado una revisión bibliográfica en profundidad, se han definido los parámetros y variables a considerar en el proyecto, entre los que se incluye la participación de Laboratorios Axpe S.L. como asesores científicos para aprovechar su experiencia en la preparación de factores de crecimiento para otras áreas de la biomedicina. Laboratorios Axpe participa en el diseño del estudio, para plantear correctamente la investigación.

En el diseño del estudio se ha incluido la definición de cada uno de los parámetros evaluadores del proceso:

- Evaluación cuantitativa comparativa entre ciclos sucesivos de estimulación.
- Evaluación cuantitativa comparativa entre ciclos sin y con inyección previa de PRP.
- Evaluación cualitativa comparativa entre las diferentes concentración y dosis de PRP de los tratamientos.
- Evaluación (cualitativa) de la tasa de fecundación, desarrollo de blastocistos y ploidía en cada uno de los subgrupos.
- Evaluación (cualitativa) comparativa de tasas de fecundación en función de ovocitos vitrificados vs. Frescos.
- Evaluación (cualitativa) comparativa de tasas de fecundación en función de inyección previa de PRP.
- Evaluación (cualitativa) de desarrollo blastocitario en función de ovocitos vitrificados vs frescos
- Evaluación (cualitativa) comparativa de desarrollo blastocitario en función de inyección previa de PRP.
- Evaluación (cualitativa) de ploidía embrionaria en función de ovocitos vitrificados vs frescos.
- Evaluación (cualitativa) de ploidía embrionaria en función de inyección previa de PRP.

Una vez definido el diseño del estudio se empezará a trabajar en el reclutamiento y **selección de pacientes** que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión de la investigación. Estos serán los siguientes:

Criterios de inclusión:

- Mujeres de más de 18 años y menores de 42 que cumplan con los criterios de baja reserva ovárica funcional (Criterios Poseidon) **ya programadas para la realización de ciclos sucesivos de acumulación ovocitaria**.
- Mujeres sometidas a estimulación ovárica con la finalidad de acumular ovocitos de cara a un procedimiento de reproducción asistida (ciclo ICSI con screening genético preimplantacional, PGT-S).
- Ausencia de patología hematológica o infecciosa
- Ausencia de contraindicaciones médico-quirúrgicas para una punción folicular de un ciclo FIV.
- Ausencia de antecedentes de patología infecciosa intra-abdominal
- Ausencia de endometriosis
- Estar de acuerdo con el cumplimiento de los objetivos del estudio

Criterios de exclusión:

- Antecedentes de patología infecciosa intraabdominal.
- Contraindicación absoluta o relativa para una punción folicular.
- Diagnóstico de endometriosis.
- Antecedentes personales de cáncer de mama.
- Riesgo de cáncer de mama u ovario hereditarios.

Por tanto, cuando se identifique una paciente con estas características se pasará a informarles sobre el estudio para su posible inclusión. De las posibles pacientes de estudio se analizará su historial médico y para confirmar si finalmente puede incluirse en el proyecto o no. Miembros del cuerpo médico de la clínica se reunirán con las pacientes para informarles sobre la naturaleza del estudio y se solicitará su conformidad (mediante la firma del consentimiento informado correspondiente) de cara a participar en el mismo.

Se espera alcanzar un tamaño muestral de 60 pacientes (para una magnitud de 2 ovocitos de diferencia positiva (contraste unilateral), con una seguridad (α) del 95%, un poder estadístico (1-β) del 90% y una pérdida de seguimiento inferior al 10%, las cuales se dividirán en dos grupos"

- **Grupo de estudio**: formado por 30 pacientes las cuales serán tratadas con factores de crecimiento. A su vez este grupo se dividirá en los siguientes subgrupos:
  - **Subgrupo 1**: en el que se inyectará una dosis de 2 ml de PRP activado (Fracción F2) en cada ovario
  - **Subgrupo 2**: en el que se inyectará una dosis de 4 ml de PRP activado (Fracción F2) en cada ovario
  - **Subgrupo 3**: en el que se inyectará una dosis de 4 ml de PRP activado (Fracción F1+F2) en cada ovario.

    Fracción F2: fracción de PRP con una concentración 2,2-2,4 veces las plasmática.
    Fracción F1+F2: fracción de PRP con una concentración 1,8-1,9 veces la del plasma.
- **Grupo control**: formado por unas 30 pacientes a las cuales no se les tratará con factores de crecimiento.

La distribución de las pacientes en cada uno de los grupos de estudio se llevará a cabo de forma aleatoria (aleatorización estratificada en base a grupos de respuesta ovárica de Poseidón y asignación en bloques).

En la realización de esta fase será necesaria la participación de médicos, biólogas y enfermeras. Por una parte, Médicos y biólogos participarán en el establecimiento del proyecto adecuando las características de inclusión de pacientes en el estudio. Esta actividad estará liderada por el Dr. Gorka Barrenetxea y la bióloga Edurne Martínez, los cuales participarán en las reuniones tanto internas para el establecimiento de los criterios clínicos, como en las reuniones con Laboratorio Axpe para el establecimiento de las características de la subcontratación para la correcta preparación del PRP.
Para la selección de las participantes y para la revisión de las historias médicas y confirmación de los criterios de inclusión y exclusión será fundamental la participación del Dr. Gorka Barrenetxea, la Dra. Irene Romero los cuales contarán con la ayuda de las enfermeras Maitane Bilbao Zabala y Alaine Abio Monasterio.

Fase 2. Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento

La duración de esta fase será aproximadamente de 9 meses, se iniciará a principios de Octubre de 2020 y tiene previsto terminar en Junio de 2021 En esta fase, se llevará a cabo la estimulación ovárica y el tratamiento con factores de crecimiento de las pacientes incluidas en el estudio, además del estudio morfológico, la clasificación y de los ovocitos obtenidos.

A las pacientes finalmente introducidas en el estudio se les llevará a cabo la **estimulación ovárica controlada con suplementación hormonal** (EOC) bajo control ecográfico siguiendo el procedimiento considerado para cada una de las pacientes de manera individualizada. Atendiendo a los procedimientos clínicos se buscará obtener una respuesta suprafisiológica, aumentando el número de ovocitos aspirados para fertilizar, evitando picos espontáneos y prematuros de LH y con una maduración folicular dentro de la ventana temporal necesaria para su correcta maduración mediante la utilización de gonadotropinas recombinantes (FSHr) con utilización de antagonistas de la GnRH como medicación coadyuvante.

El protocolo habitual de EOC tiene una duración de entre 8-14 días, según la evolución y respuesta de la paciente al mismo. La administración de las hormonas para producir la estimulación de los ovarios se inicia en el segundo o tercer día de la menstruación. Además, se planifica la realización de controles ecográficos y hormonales con los que determinar el momento más adecuado para programar la punción folicular.

La punción folicular para la obtención de ovocitos tendrá lugar en el quirófano a las 35-37 horas tras la administración del agonista de la GnRH (trigger ovulatorio). Durante esta primera punción folicular, a las pacientes incorporadas en el grupo de estudio se les realizará una extracción de sangre a partir de la cual obtener y preparar el PRP autólogo que se le administrará durante la punción folicular en cada uno de los ovarios.

Cabe mencionar que se subcontratará a Laboratorios Axpe para que supervise y asesore en el proceso de preparación del PRP, para asegurar la correcta evolución del proyecto. Previamente a la extracción sanguínea la paciente ha sido sometida (entre otras) a las siguientes determinaciones: RPR, HBsAg, Anti-VHC y pruebas de amplificación genómica del ácido nucleico (NAT), anti VIH 1/II).

El protocolo a seguir para la obtención del PRP autólogo de la paciente será el siguiente:

- Obtención de una muestra de sangre de la paciente (18 ml) de una vía periférica en dos tubos con anticoagulante.
- Procesamiento de la muestra a 21-24 º C para evitar la activación plaquetaria durante la centrifugación.
- Centrifugación de la sangre a 1.200 rpm durante 12 minutos
- Tras la centrifugación la sangre se separa en 3 componentes:
  1. Plasma rico en plaquetas que contiene la mayor parte de las plaquetas distribuidas de acuerdo con un gradiente de concentración creciente (máxima concentración en niveles inferiores-F2- y mínima en niveles superiores-F2).
  2. Capa leucocitaria (buffy coat).
  3. Hematíes (en la parte inferior del tubo)

Activación del PRP
El PRP es activado para la liberación de factores de crecimiento antes de su eliminación por macrófagos tisulares.
La activación se realiza mediante la adición de Cloruro cálcico ($CaCl_2$) a razón de 2 unidades de $CaCl_2$ al 10% por cada ml de plasma.

Una vez obtenido el PRP en el laboratorio de Reproducción Bilbao, por parte del personal de enfermería y especialistas en embriología del centro, se procederá a realizar la punción folicular para la recuperación de ovocitaria como se realiza de forma habitual. La punción folicular es una intervención guiada por ultrasonografía transvaginal que se lleva a cabo en el quirófano y consiste en la recuperación de los ovocitos mediante aspiración de los folículos ováricos por

vía vaginal. La paciente recibe la indicación de acudir en ayunas y la punción se lleva a cabo bajo sedación. La aspiración se realiza en el momento previo a la ovulación, aproximadamente 36 horas tras la administración del agonista de la GnRH, que desencadena la maduración final ovocitaria (38)

En este proceso se puncionan los folículos, aplicando el vacío, una vez la aguja de punción se encuentre dentro de los folículos. Los tubos de aspiración de líquido folicular mantenidos a una temperatura de 37ºC, contendrán el líquido folicular que será llevado al laboratorio donde se mantendrá en condiciones adecuadas para proceder a la recuperación de ovocitos

Durante esta misma intervención, en el caso de las pacientes incluidas en el grupo de estudio, se llevará a cabo la inyección del PRP en cada uno de los ovarios. A cada paciente de estudio se le inyectará en cada ovario una concentración y volumen determinado en base al subgrupo de estudio al que pertenezca:

- **Subgrupo 1**: en el que se inyectará una dosis de 2 ml de PRP activado (Fracción F2) en cada ovario
- **Subgrupo 2**: en el que se inyectará una dosis de 4 ml de PRP activado (Fracción F2) en cada ovario
- **Subgrupo 3**: en el que se inyectará una dosis de 4 ml de PRP activado (Fracción F1+F2) en cada ovario.

Una vez obtenidos los ovocitos se procederá a evaluar el estado de madurez ovocitaria de cada uno de ellos. El estado de madurez se clasificará en vesícula germinal, metafase I, metafase II, degenerado o de otro tipo. Se considerarán ovocitos maduros aquellos ovocitos que se encuentren en estado de Metafase II (MII). También se realizará el estudio morfológico, teniendo en cuenta parámetros como: Agrupación de organelas/granulosidad localizada en el centro del ovocito, agregación de retículo endoplasmático liso (AREL), vacuolas, Inclusiones citoplasmáticas, exudados en el espacio perivitelino, etc.

Tras la primera EOC, se proseguirá con al menos dos ciclos sucesivos de estimulación siguiendo los mismos pasos descritos tanto para la EOC, punción como evaluación de ovocitos. En los siguientes ciclos de estimulación no se aplicará PRP. En base a la respuesta ovárica de cada paciente se valorará la realización de ciclos adicionales.

Los ovocitos obtenidos durante el primer y segundo ciclo de estimulación serán vitrificados hasta obtener los ovocitos del último ciclo con el fin de mantener sus características intactas hasta proseguir con su posterior fecundación mediante ICSI en la siguiente fase. Lo que permitirá, además, evaluar posteriormente si se producen diferencias entre los resultados en la tasa de fecundación de ovocitos vitrificados frente a ovocitos frescos.

Todos los ovocitos obtenidos a lo largo de esta fase serán correctamente etiquetados y registrados para controlar la trazabilidad de todo el proceso, teniendo en cuanta en que ciclo de estimulación se han obtenidos con el fin de evaluar si se producen diferencia entre los diferentes ciclos tras el tratamiento.

En la realización de esta fase será necesaria la participación de médicos, biólogos y enfermeras. Para la realización de las estimulaciones ováricas controladas, punción folicular e inyección de factores de crecimiento participarán los médicos Gorka Barrenetxea e Irene Romero, los cuales contarán con la asistencia en estas intervenciones de las enfermeras Maitane Bilbao Zabala y Alaine Abio Monasterio. Además, para la preparación del PRP, evaluación del estado de maduración de los ovocitos y vitrificación participarán las biólogas y bioquímicas Edurne Martinez Sanz, María De Las Heras Martinez y Oihane Gómez Picado.

Durante esta fase del estudio será necesario el uso de diferente material fungible que incluye material genérico para revisiones y manipulación de muestras obtenidas de las pacientes como guantes, mascarillas, funda para la sonda del ecógrafo, gel ecográfico, espéculo, etc. En el control hormonal serán necesarias jeringas para la obtención de muestras sanguíneas y para la preparación de PRP serán necesarios materiales como tubos y jeringas.

Además, será necesario el uso de equipamiento inventariable que incluirá el uso de ecógrafo, cabina fría y estación de trabajo para la estimulación y vitrificación de los ovocitos.

Finalmente, según se ha explicado anteriormente, también se incurrirá en gastos con Laboratorios Axpe como asesor científico en el proyecto.

Fase 3. ICSI, desarrollo embrionario y biopsia del trofoectodermo.

La duración de esta fase será aproximadamente de 9 meses, se iniciará a principios de Septiembre de 2020 y tiene previsto terminar en Junio de 2021. En esta fase se llevará a cabo la fecundación de los ovocitos tanto vitrificados como frescos mediante ICSI y el seguimiento y transferencia de los embriones tras la cual se estudiarán los diferentes resultados obtenidos a lo largo del proyecto para el desarrollo del protocolo final en el que se basará la nueva herramienta terapéutica.

Para ello se procederá a la a recoger las muestras de semen y se evaluará su calidad espermática. La obtención de la muestra seminal se realizará por masturbación y se recogerá en un frasco estéril. Se realizarán análisis macroscópicos (pH, volumen, licuefacción, color y aspecto) y microscópicos (concentración espermática, movilidad, morfología y presencia de otros elementos celulares) indicados según los criterios dictados por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2010). Tras ello, se capacitará la muestra mediante gradientes de densidad o *swim-up*.

Por otro lado, se decumularán los ovocitos, el proceso de decumulación consiste en incubar los ovocitos rodeados de las células de la granulosa en una solución tamponada con HEPES con cierta cantidad de enzimas hialuronidasas. A continuación, los ovocitos son aspirados de manera constante utilizando durante el proceso pipetas de diámetro cada vez más pequeño (de 300 a 150 micras), hasta que, finalmente, se lavan y se incuban de nuevo en un medio simple o en uno secuencial adaptado al desarrollo del embrión durante sus primeros estadios (hasta el día 3 después de la fecundación).

Tras realizar la capacitación del esperma, se realiza una ICSI. Una vez decumulados todos los ovocitos, se inyectarán aquellos que se encuentran en metafase II, utilizando un microscopio invertido, y se procede a la inyección de un espermatozoide por cada ovocito con una micropipeta de inyección.

Una vez capturado el espermatozoide, la micropipeta de Holding sujeta por succión al ovocito. Una vez que el ovocito está bien sujeto, se procede a microinyectar el espermatozoide.

Con la micropipeta inyectora se atraviesa la zona pelúcida del ovocito y entra en contacto con el citoplasma, hasta alcanzar el "centro" de la célula. Una vez se tiene el espermatozoide en la pipeta de inyección listo para su microinyección en el ovocito inmovilizado, correctamente enfocado y colocado:

- Con la pipeta de inyección se presiona suave y gradualmente sobre la zona pelúcida. Una vez traspasada la zona pelúcida, se continúa presionando la membrana del ovocito procurando que se perfile perfectamente un cono alrededor de la pipeta, moviéndola de arriba abajo hasta conseguirlo. La introducción de la pipeta de inyección dentro del ovocito está determinada por las características de la Zona Pelúcida, de la membrana plasmática y del citoplasma del ovocito. El tipo de ruptura de la membrana plasmática del ovocito depende de las características de éste y condicionaba su desarrollo posterior.
- Una vez rota la membrana se procede a aspirar ooplasma para cerciorarse de que la membrana está rota y ponerlo en contacto con el espermatozoide.
- Se deposita suavemente el espermatozoide
- Se anota el lugar donde se deposita el espermatozoide

A continuación, se procede a colocar los ovocitos ya fecundados en incubadores para comenzar el seguimiento del embrión.

La evolución de los embriones se evaluará en un sistema Embryoscope plus, un sistema de control de la evolución de los ovocitos hasta su transferencia controlado por cámaras que permite el registro de todos los acontecimientos hasta llegar a la transferencia, permitiendo realizar un análisis muy detallado del desarrollo morfocinético.

Los ovocitos fecundados/embriones se cultivan en placa específicamente diseñadas para el EmbryoScope, en gotas de medio de cultivo específico. Se evaluará la fecundación a las 24 horas de la realización de ICSI. Se consideran fecundados todos aquellos ovocitos en los cuales se observe la presencia de dos pronúcleos y dos corpúsculos polares tras las 17 y 20 horas después del procedimiento.

Previamente a la transferencia, a los embriones que se consideren viables se les realizará una biopsia de trofoectodermo lo cual consiste en aislar un grupo de células del embrión para realizar un análisis genético que permitirá evaluar su ploidía mediante un estudio PGS (cribado genético preimplantacional) en el que se analiza que los embriones tengan una carga genética correcta. Los embriones serán vitrificados hasta obtener los resultados del estudio PGS, momento en el que se decidirá qué embrión se transfiere.

En el momento de la transferencia embrionaria, el embrión seleccionado se cargará en una cánula para ser transferido en el útero materno. La técnica consiste en introducir el embrión seleccionado (un único embrión por paciente) en el útero materno a través de un catéter intrauterino flexible muy fino. Este procedimiento se realiza bajo control ecográfico para garantizar que el embrión se deposite en el lugar adecuado de la cavidad uterina.

A lo largo de todos estos ensayos se irán registrando todos los datos obtenidos, los cuales se utilizarán para determinar las variables a estudiar establecidas en el diseño del estudio. De este modo se realizará el análisis comparativo de las pacientes pertenecientes al grupo de estudio y las pacientes control.

Una vez finalizado el seguimiento se llevará a cabo el análisis de cada una de las variables estudiadas de forma que en base a los resultados obtenidos **se establecerá el protocolo sobre el cual se basará la nueva herramienta terapéutica definiéndose las concentración y volumen de factores de crecimiento a introducir en cada uno de los ovarios de las pacientes con baja respuesta ovárica.** Cabe mencionar que se contará con el asesoramiento de la entidad subcontratada, Laboratorios Axpe, para establecer la herramienta terapéutica.

En la realización de esta fase será necesaria la participación de médicos, biólogas y enfermeras. De la decumulación de los ovocitos, la preparación y capacitación del semen, los procedimientos ICSI, las biopsias embrionarias y la evaluación del desarrollo embrionario se encargarán las biólogas del equipo. Participarán las biólogas y bioquímicas Edurne Martinez Sanz, Maria De Las Heras Martinez y Oihane Gómez Picado.

Para la realización de la preparación endometrial y las transferencias embrionarias participarán los médicos Gorka Barrenetxea e Irene Romero, los cuales contarán con la asistencia en estas intervenciones de las enfermeras Maitane Bilbao Zabala y Alaine Abio Monasterio. El equipo médico también se encargará de realizar el seguimiento a las pacientes para evaluar las tasas de gestación, implantación y recién nacido vivo.

Durante esta fase del estudio será necesario el uso de diferente material fungible que incluye material genérico para revisiones y manipulación de muestras obtenidas de las pacientes como guantes, mascarillas, funda para la sonda del ecógrafo, gel ecográfico, espéculo, etc. Será necesario nitrógeno líquido para la vitrificación de ovocitos hasta el momento de su fecundación, así como para la vitrificación de embriones hasta obtener los resultados del estudio PGS. En el caso de los ovocitos serán necesarios medios específicos para su manejo así como pipetas de denudación. Para la fecundación de los mismos serán necesarias placas como soporte y pipetas de microinyección y holding para la microinyección. Para el cultivo de embriones serán necesarias placas de cultivo y medios específicos para cada etapa del desarrollo embrionario. Para el mantenimiento de las instalaciones de trabajo en el laboratorio, así como en parte del instrumental será necesario el uso de desinfectantes específicos.

Además, será necesario el uso de equipamiento inventariable que incluirá el uso de, estación de trabajo, microscopio invertido e incubadora para el manejo, preparación y microinyección de ovocitos. También será necesario utilizar el embryoscope para el seguimiento de la evolución de embriones y un ecógrafo para la transferencia de los embriones.

Fase 4. Seguimiento gestacional y análisis de datos.

El seguimiento gestacional se efectúa en el propio centro hasta la semana 12 del mismo. A partir de esa semana la paciente puede ser controlada en el mismo centro o en otro (tanto de la red pública como privada). El parto se registra incluyendo los siguientes parámetros

- Fecha del parto
- Semanas de gestación
- Tipo de parto
- Peso del neonato
- Sexo del neonato
- Incidencias y posibles complicaciones.

Consideraciones éticas

El presente proyecto respeta los principios fundamentales establecidos en la Declaración de Helsinki, en el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina, en la Declaración Universal de la UNESCO sobre el genoma humano y los derechos humanos, así como cumplir los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de datos de carácter personal de todos los sujetos participantes en el estudio se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal. Como consideraciones generales, todas las partes implicadas en este estudio aceptan las normas éticas nacionales e internacionales sobre investigación.

El protocolo ha sido sometido a la evaluación del CEIC-Euskadi, previamente a la inclusión de pacientes. Cualquier dato requerido por el protocolo podrá estar sujeto a auditorías por el promotor, organizaciones independientes y/o autoridades competentes, pero la confidencialidad de los datos de acuerdo a la ley anteriormente citada será siempre condición indispensable.

Para la inclusión de las pacientes en el estudio se precisa la firma del consentimiento informado, aprobado por el centro investigador. A cada paciente que se le proponga participar en el estudio se le entregará un documento escrito denominado “Hoja de información a la paciente” en la que de forma detallada, se referirán el objetivo y descripción del estudio, procedimientos duración y número de sujetos participantes, beneficios y riesgos posibles de su participación en el mismo, confidencialidad de los datos de carácter personal, así como datos de contacto del médico responsable del estudio (ver anexo). Este documento estará redactado con un vocabulario que permita que su contenido sea completamente legible y comprensible para la paciente.

El investigador deberá informar a la paciente sobre la naturaleza voluntaria de su participación y que no supone ningún cambio en la atención médica que recibiría de no participar en el mismo. Asimismo, contestará a sus dudas y preguntas y, de acuerdo con la normativa vigente, obtendrá el consentimiento (Anexo).

La participante en el estudio podrá revocar en cualquier momento su consentimiento para su participación en el mismo o la utilización de sus datos en el análisis, sin expresión de causa y sin que se derive de ello responsabilidad o perjuicio alguno.

Monitorización de datos

Existe un Comité Externo de Monitorización de datos (dependiente de Osakidetza Bio-Cruces) (ver documento anexo “Monitorización de datos) cuyos cometidos son:

- Verificación de los derechos y bienestar de los sujetos humanos incluidos en el ensayo.
- Comprobación y verificación de la exactitud de los datos recogidos.
- Comprobación de que el ensayo está ajustado al protocolo y las enmiendas aprobadas, con la buena práctica clínica y la normativa vigente.

Seguridad

El referido comité Externo de Monitorización velará por la seguridad del ensayo incluyendo los análisis intermedios pertinentes. (ver anexo Monitorización de seguridad) según lo especificado en el Real Decreto 1090/2015 de 4 de diciembre por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos y el reglamento europeo 536/2014.

Se define como acontecimiento adverso (AA) cualquier suceso médico adverso que se produce en un paciente o sujeto participante en una investigación clínica que recibe un producto farmacéutico o sanitario y que no necesariamente tiene una relación causal con el referido tratamiento. Un AA puede ser, por tanto, cualquier signo desfavorable y no deseado (tal como un dato analítico anómalo), síntoma o enfermedad asociada cronológicamente con el uso de un medicamento o producto sanitario, se considere o no relacionado con el mismo. Se define como acontecimiento adverso grave (AAG) cualquier suceso médico adverso grave producido que conlleve la muerte del paciente o sujeto participante, riesgo grave de muerte, hospitalización o prolongación de la misma, produzca invalidez o incapacidad permanente o importante o de lugar a una anomalía o malformación congénita.

Reacción adversa (RA) a un medicamento o producto sanitario es cualquier respuesta nociva y no intencionada al mismo, incluyendo reacciones adversas derivadas del uso en condiciones de la Autorización de Comercialización y/o el uso fuera de las condiciones de Autorización de Comercialización (sobredosis, uso incorrecto, uso off-label y error en la medicación). Una reacción adversa grave (RAG) se define como aquella que en cualquier dosis sea mortal(*), pueda poner en peligro la vida del sujeto (**), exija la hospitalización del sujeto o la prolongación de la hospitalización previamente programada, ocasione una discapacidad o invalidez significativa o persistente o constituya una anomalía congénita o un defecto de nacimiento.

(*) La muerte es una consecuencia, no un acontecimiento. El término muerte súbita se utilizará sólo cuando la causa es de origen cardíaco, de acuerdo con la definición habitual. Los términos “muerte” y “muerte súbita” son distintos y no deben intercambiarse.
(**) El término “poner en peligro la vida” en la definición RAG se refiere a una RA que puso en riesgo la vida del sujeto cuando ocurrió la RA. No se refiere a una reacción que, teóricamente, podría haber producido la muerte si se hubiera agravado.

Todas las RAG que se produjeran en el transcurso del estudio, deberán registrarse en el CRD. El investigador informará al Promotor del estudio mediante el formulario de notificación de RAG correspondiente en el plazo máximo de 24 horas desde su conocimiento y éste notificará a las autoridades sanitarias competentes a la base de datos de EudraVigilance y de acuerdo con los plazos establecidos en el RD 1090/2015. Además, el Promotor se compromete a facilitar los datos de seguridad que le sean solicitados por parte de las Autoridades Sanitarias.

En función del tipo de RA, el investigador se compromete a un seguimiento clínico del sujeto cuya duración dependerá del tipo y gravedad de la RA.

Considerando que el estudio incluye un procedimiento de estimulación ovárica, inducción ovulatoria y captación ovocitaria, las posibles reacciones adversas comunes a todos los tratamientos de fecundación in vitro, incluirían

Síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO)

- Todo procedimiento de estimulación ovárica controlada (EOC) conlleva un riesgo del SHEO). Tal cuadro incluye dolor y distensión abdominal, náuseas y vómitos y en casos graves, ascitis, hidrotórax y oliguria).
- Actualmente, las estrategias preventivas incluyen la utilización de agonistas de la GnRH para el trigger ovulatorio (en lugar de HCG) y la vitrificación (bien ovocitaria o embrionaria) para la realización de un transfer embrionario diferido.
- Tales estrategias son seguidas de forma sistemática en el centro sede de la investigación por lo que no es esperable la aparición de tal cuadro. Por otra parte, tal SHEO es propio de mujeres con respuesta ovárica alta, y en presente estudio, sólo se incluyen mujeres con fallo ovárico oculto (FOO).

Infección/hemorragia post punción

- La captación ovocitaria es realizada mediante punción transvaginal de los ovarios. Ocasionalnente (<0,04%) puede haber un cuadro infeccioso o hemorrágico.

Complicaciones derivadas de la anestesia

- La referida punción ovárica es realizada bajo sedación. Por tanto, las posibles complicaciones derivadas de la misma pueden incluirse.

Seguros

Reproducción Bilbao tiene contratada una póliza de Seguro de Responsabilidad Civil General para ensayos clínicos.

Cobertura básica

En los términos y condiciones consignados en la póliza, conforme a la regulación que de esta actividad establece la legislación vigente, el Asegurador garantiza el pago de las indemnizaciones de que pueda resultar civilmente responsable el Asegurado conforme a derecho, por daños corporales y perjuicios que de los anteriores se deriven, ocasionados involuntariamente a los sujetos del ensayo clínico cubierto.

Serán requisitos imprescindibles para la efectividad de la cobertura que los sujetos del ensayo clínico hayan firmado previamente su consentimiento al mismo, y éste cuente con la pertinente resolución del Ministerio de Sanidad y Consumo que lo califique como tal, con el dictamen favorable del correspondiente Comité Ético de Investigación Clínica, así como con la autorización de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios o, en su caso, organismo autonómico que ejerza las competencias de ésta última.

Quedan igualmente garantizados:

- Los daños corporales causados como consecuencia de las pruebas previas a la persona que va a ser sometida a ensayo, siempre que dichas pruebas previas se hayan realizadoexclusivamente con ocasión del ensayo.

- Daños corporales causados por el uso de medicamentos o materiales utilizados durante dicho ensayo clínico siempre que dichos medicamentos o materiales se hayan prescrito exclusivamente con ocasión del ensayo.
- **Daños materiales que sufran los bienes propiedad de los sujetos** sometidos al ensayo clínico, objeto del presente seguro.
  En caso de siniestro se indemnizará el valor venal del objeto dañado, entendiéndose como tal, el valor del objeto dañado en el momento anterior al siniestro, descontando la depreciación por uso y atendiendo al estado de conservación y mantenimiento.

  No se consideran cubiertos el dinero en metálico, valores, tarjetas de crédito, libretas de ahorro y otros objetos de valor como relojes, joyas u objetos de bisutería.
- Protección de datos personales. Queda amparada la Responsabilidad Civil en que pueda incurrir el Asegurado por daños y perjuicios causados a Terceros (incluidos los empleados del asegurado), así como las sanciones que la Agencia de Protección de Datos pueda imponer al Asegurado, por el incumplimiento de las **obligaciones de protección de datos de carácter personal que impone la Ley Orgánica 15/99, de Protección de datos de carácter personal, el Real Decreto 994/99, de 11 de junio o cualquier otra norma legal posterior que regule esta misma materia.**

Quedan cubiertas las indemnizaciones por daños morales y otros perjuicios evaluables económicamente que pueda sufrir un Tercero.

En ningún caso quedan cubiertas por el Asegurador las reclamaciones por responsabilidades derivadas de:

- **Los daños o menoscabos en la salud del sujeto sometido al ensayo cuando estos sean:**
  - **Inherentes a la patología objeto de estudio**
  - **Que se derive de la evolución propia de su enfermedad como consecuencia de la ineficacia del tratamiento**
- **Reclamaciones procedentes del sujeto del ensayo basadas en que el producto no alcance los fines curativos previstos.**
- **Daños congénitos o malformaciones ocasionadas en las mujeres embarazadas participantes de los ensayos.**
- **Daños genéticos y enfermedades genéticas o hereditarias, tales como las cromosopatías, metabolopatías, anomalías del óvulo, embrión o feto.**
- **El contagio o inoculación de VHC y VIH, así como las enfermedades por ellos producidas.**
- **Las reclamaciones fundadas en pactos o acuerdos que modifiquen la legalmente exigible en ausencia de ellos.**
- **Actos u omisiones intencionados dolosos o fraudulentos, así como la que pudiera resultar de la inobservancia dolosa de las disposiciones legales relacionadas con el riesgo asegurado.**
- **Actos clínicos realizados en el ensayo, estando el facultativo que realice dichos actos clínicos suspendido o inhabilitado, mediante resolución judicial o resolución del Colegio profesional respectivo o resolución administrativa, para el ejercicio profesional, en el momento de realizar**

aquellos.
Esta exclusión sólo afectará a los actos clínicos correspondientes al ámbito concreto a que se refiere la suspensión o inhabilitación.

- **El pago de multas, penalizaciones o sanciones impuestas por los Tribunales y demás Autoridades, así como las consecuencias de su impago, excepto para la cobertura de protección de datos personales.**
- **Los daños patrimoniales primarios, es decir, aquellos perjuicios que puedan sufrir terceros cuando no sean consecuencia directa de un daño corporal o material cubierto por esta póliza, excepto para la cobertura de protección de datos personales.**
- **La prestación de fianzas y la defensa judicial que puedan tener su origen en siniestros no amparados por esta póliza.**
- **Hechos ocurridos fuera del ámbito territorial o límite temporal de la póliza, indicados en la misma.**
- **Daños ocasionados como consecuencia de pruebas, medicamentos o materiales que no se hayan realizado, prescrito o utilizado exclusivamente con ocasión del ensayo, sino dentro de la asistencia sanitaria que se preste al paciente como consecuencia de su enfermedad.**
- **En caso de haberse agotado el límite por año de la póliza quedando algún siniestro total o parcialmente no indemnizado, en ningún caso se podrá aplicar el límite de la siguiente/s anualidad/es para cubrir la parte pendiente**

Análisis de potenciales beneficios

La nueva herramienta permitirá ofrecer por primera vez a mujeres con baja respuesta ovárica un tratamiento para aumentar el número de ovocitos disponibles en cada estimulación mediante la activación de folículos primordiales quiescentes permitiéndoles la continuación del ciclo TRA de forma exitosa. El éxito de del presente proyecto supondrá una revolución en pacientes con baja respuesta ovárica ya que hasta la fecha no existe nada similar en el sector y muchas pacientes o bien tienen que abandonar el ciclo de reproducción por falta de ovocitos viables o bien se ven obligadas a recurrir a programas de ovodonación. En cualquier caso, se reducirá el número de estimulaciones necesarias para alcanzar un número adecuado de ovocitos maduros con la consiguiente ventaja económica (tanto para paciente como para el sistema de salud) y psicológica para la paciente.

Ámbitos de Impacto del proyecto

El desarrollo de esta nueva herramienta terapéutica supondrá un impacto que alcanza diversos ámbitos, entre los cuales cabe destacar los siguientes:

Impacto clínico: De los resultados que se obtengan de este proyecto podrán establecer protocolos más personalizados para mujeres con baja respuesta ovárica mejorando de esta manera el número de ciclos necesarios para llevar a cabo su correcta estimulación ovárica. De esta manera se pretende obtener una nueva herramienta terapéutica para regenerar la funcionalidad de los ovarios en su producción de óvulos, siendo eso, una gran novedad y avance en el sector.

Impacto económico/social: De los resultados del proyecto podrá establecerse un protocolo concreto basando en el uso de factores de crecimiento para el tratamiento de pacientes con baja respuesta ovárica. Esto implica aumentar la tasa de éxito de estas pacientes las cuales en la mayoría de casos deben recurrir a programas de ovodonación. El reducir y mejorar los ciclos de estimulación ovárica evitará el desperdicio de material y recursos. En cuanto, a nivel ético y económico, este proyecto repercutirá en la conservación de un menor volumen de embriones criopreservados, con el impacto económico que supone tanto en recursos como en tiempo, hecho que genera un coste elevado para los pacientes y un problema cada vez mayor de espacio para las clínicas.

Impacto tecnológico: Hasta el momento no se utiliza en reproducción ninguna herramienta terapéutica para pacientes con baja respuesta ovárica basada en el uso de factores de

crecimiento, lo cual supondrá para este grupo de investigación una evaluación de la potencialidad de abordar el estudio a partir de publicaciones anteriores, hecho que le confiere un carácter innovador y único a este nuevo tratamiento. La ejecución del proyecto estará íntimamente ligada a la formación de especialistas cualificados científica y tecnológicamente, que desarrollarán su labor en el área de la Reproducción.

Impacto bibliométrico: Con los resultados del estudio se ampliará el conocimiento referente al efecto de los factores de crecimiento en aspectos concretos de la reproducción relacionada con las tasas de éxito y fracaso de los tratamientos de fecundación en pacientes con baja respuesta ovárica. Está previsto que los resultados se publiquen en forma de artículos en revistas con alto índice de impacto en el área específica del estudio.

En la siguiente figura se resume en que consiste la innovación y las dimensiones que alcanza el impacto del proyecto:

Medios disponibles para la realización del estudio

En la realización del presente proyecto dentro del área de la reproducción asistida y atendiendo a las características del mismo intervendrá, por una parte, Ginegorama S.L., con más de 10 años de experiencia en el tratamiento de los procesos de fertilización, y se complementará el equipo investigador mediante la subcontratación de Laboratorio Axpe como empresa asesora en la preparación de PRP, empresa con 100 años de experiencia en el sector.

Ginegorama es un equipo especializado en medicina reproductiva ubicado en Bilbao. Sus inicios como una pequeña empresa se forjaron ***con el objetivo de ofrecer servicios de reproducción asistida y ginecología avanzados, enfocados a ofrecer la mayor tasa de éxito a pacientes con problemas de fertilidad y un servicio profesional de nivel a clínicas que ofrecieran tratamientos de reproducción asistida a sus pacientes.*** En sus primeros años el principal cliente de Ginegorama fue la clínica Quirón Bilbao, donde ofrecía sus servicios a las pacientes que acudían al servicio de reproducción asistida de Quirón. En 2014 Ginegorama dejó de trabajar para la clínica Quirón y pasó a ubicarse en la clínica Praxis Bilbao (desde 2014 hasta 2015). Tras este cambio, Ginegorama decidió dejar de prestar servicios a otras clínicas y empezar a posicionarse como referente para ofrecer servicios directamente a las pacientes, naciendo la clínica **Reproducción Bilbao en 2016.** La clínica Reproducción Bilbao ha reabierto sus puertas en 2018 en una nueva ubicación, en la calle Calle Morgan Kalea número 2. **En esta nueva ubicación han conseguido posicionarse como la clínica de Reproducción Asistida más grande ubicada en la ciudad de Bilbao.**

Ginegorama estrena unas instalaciones modernas y equipadas con la última tecnología. Los materiales elegidos para la arquitectura interior, son materiales utilizados para la construcción de áreas críticas, siendo todos materiales no porosos, no emisores de partículas y con un acabado estanco debido a los sellados de todas las juntas de unión interna. A continuación se muestran fotografías de las nuevas instalaciones:

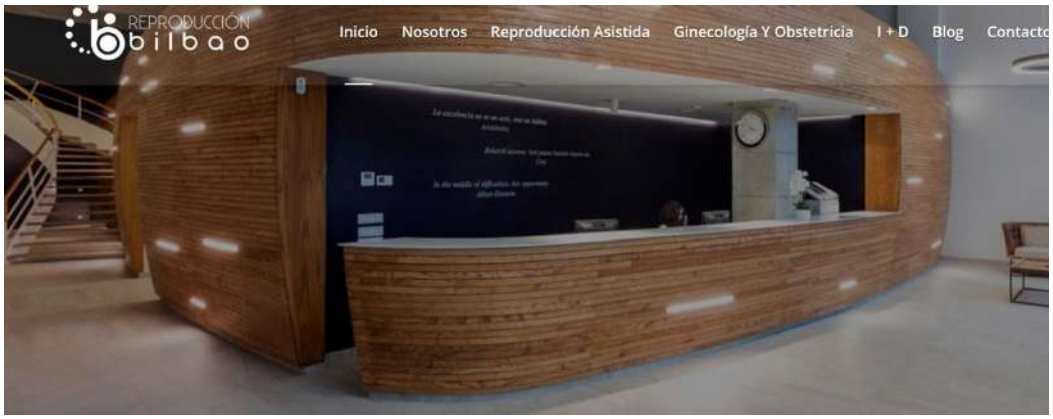


Figura 1. *Recepción Reproducción Bilbao*

Figura 2. *Hall Reproducción Bilbao*

Las instalaciones del laboratorio de Reproducción Bilbao han sido diseñadas como Salas Limpias, siguiendo criterios GMP, y aplicando soluciones exigidas para procesos asépticos críticos. Tanto el diseño y distribución de todas las estancias como las instalaciones se han diseñado con este criterio.

De este modo la calidad de aire interior es óptima. Se mantiene controlado el número de partículas en suspensión en el interior del laboratorio, a través de un complejo sistema de filtros de aire. La instalación cuenta con sistema de eliminación de componentes orgánicos volátiles y posibles restos de hidrocarburos derivados de la polución exterior. Esto hace que la calidad del aire interior en la zona de trabajo del laboratorio sea de alta pureza. Todo el laboratorio y el quirófano asociado dispone de un sistema de control de presiones de aire, de tal modo que se evita la entrada de posibles contaminantes a las zonas de trabajo, derivados del tránsito de personas y materiales al laboratorio.

Figura 3. *Laboratorio Reproducción Bilbao*

Al frente de Ginegorama siempre ha estado el Doctor Gorka Barrenetxea. Gorka ha ejercido la Dirección del Servicio de Ginecología, Obstetricia y Reproducción Asistida, además de ejercer como Profesor Titular de Ginecología y Obstetricia de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea.

El crecimiento en experiencia y tratamientos aplicables favoreció el crecimiento de la empresa que se ha dotado a través del tiempo tanto de formación y como de tecnología confiriéndoles un trato distintivo tanto en los tratamientos aplicados como en la incorporación de tecnología, dado que la reproducción asistida ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años, sobrepasando el diagnóstico y tratamiento de la esterilidad.

La complejidad de las nuevas técnicas reproductivas y sus implicaciones éticas han exigido por parte de la empresa una formación específica y una mejora continua a través de la investigación e implementación de las nuevas tecnologías.

La aplicación de las mejores tecnologías disponibles y la formación especializada de sus profesionales permitieron el nacimiento de 5.700 niños provenientes de tratamientos de

infertilidad, sólo en su etapa Quirón Bilbao. Y su crecimiento profesional como empresa continúa con pasos firmes hacia un afianzamiento en el País Vasco.

Los proyectos realizados por la empresa en anualidades anteriores, algunos de los mismos presentados en anteriores convocatorias de GAITEK y HAZITEK, son los siguientes:

- "Efecto de la suplementación dietética con ácido docosahexaenoico (DHA) sobre la composición en ácidos grasos de la membrana espermática y su relación con la calidad seminal"
- "Implicación de las diferentes subpoblaciones de las células Natural Killers (NK) en el aborto de repetición y en estadíos precoces del desarrollo gestacional". (GAITEK 2012-2013).
- "Fragmentación del DNA espermático pre-microinyección en tratamientos ICSI". (GAITEK 2012-2013).
- "Influencia de la expresión de genes apoptóticos en el desarrollo de la competencia ovocitaria". (GAITEK 2013-2014).
- "Correlación entre el fallo ovárico prematuro (POF) y el gen FMR1: Determinación del tamaño y estructura de la repetición CGG y análisis de factores en CIS"
- "Evaluación de la receptividad endometrial por medio de estudio in vitro de biomarcadores tisulares en pacientes tratadas con fecundación in vitro."
- "Estudio comparativo de eficacia de la α-corifollitropina (Elonva®) en relación con la FSH recombinante diaria en ciclos de fecundación in vitro."
- Epiginema, nuevas herramientas diagnósticas en ginecología mediante microarrays de metilación" (GAITEK 2014-2015)
- "Desarrollo de una nueva herramienta de diagnóstico in vitro para predecir la calidad y competencia ovocitaria" (HAZITEK 2017-2018)

Con el objetivo de seguir con este importante crecimiento, Ginegorama va a continuar embarcándose en proyectos de I+D, para tratar de ofrecer el mejor servicio asistencial en su clínica. Por otra parte, Ginegorama tiene en cuenta que son muy importantes las investigaciones que se centran en grupos sociales concretos, que debido a sus circunstancias, necesitan de protocolos y técnicas especiales diferentes a las utilizadas de forma rutinaria, y como consecuencia, necesitan de una investigación y puesta a punto de las técnicas a utilizar.

Cabe destacar que en la actualidad, los desarrollos en cualquier área de la Medicina y, sobre todo, en Medicina Reproductiva, requieren de una investigación básica en la que sustentar su crecimiento y evolución así como de una proyección social para la información de las personas que puedan ser beneficiarios de estos tratamientos.

Estas investigaciones sirven como punto de partida para mejorar sustancialmente los protocolos ya existentes, con el objetivo de aumentar las tasas de éxito de embarazo. Estas investigaciones se han trasladado en un aumento en el número de pacientes que acuden a la clínica.

Además de ofrecer servicios de reproducción asistida, Ginegorama también ofrece servicios de investigación tanto para entidades públicas como privadas, y se muestra abierta a la cooperación de proyectos en este sector, tal y como se refleja en sus escrituras de constitución.

Los profesionales de Ginegorama también ofrecen docencia sobre los últimos avances para los especialistas en Medicina Reproductiva, mediante conferencias, congresos, cursos y másteres. Estos eventos dan la oportunidad de divulgar los conocimientos de investigación y las nuevas técnicas que se desarrollan en la empresa.

CV equipo investigador

Gorka Barrenetxea

El Dr. Gorka Barrenetxea es el Director médico de Ginegorama y máximo investigador de la misma con gran número de publicaciones en revistas científicas. Es licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Navarra en 1985 y Doctor por la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea y por Gynecology & Obstetrics Departement, Hospital Universitario de Cruces de Bilbao. Realizó el MIR en Ginecología y Obstetricia del Hospital de Curces de Bilbao y seguidamente ejerció de especialista y Responsable de la Unidad de Patología Mamaria en este mismo hospital. En el año 2000 pasa a ser Responsable de la Unidad de Reproducción Asistida y del Servicio de Ginecología de Quirón Bilbao hasta el 2014. Posteriormente pasó a ocupar el puesto de Jefe de Servicio de Obstetricia, Ginecología y Reproducción Asistida de la Clínica Praxis de Bilbao desde 2014 hasta 2015. Actualmente ocupa el puesto de Director de la nueva clínica Reproducción Bilbao (primera clínica propia de Ginegorama, desde 2016 hasta la actualidad). Asimismo, lleva desde el año 1993 compatibilizando su actividad asistencial con su actividad docente ejerciendo de profesor tanto como Colaborador o Asociado como Titular interino en la Universidad del País Vasco, en el Servicio Vasco de Salud, etc. Además, es miembro del Comité Ejecutivo de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) y ha participado en diferentes proyectos de investigación financiados por la beca de intercambio con países de la CEE y COST, destacando los siguientes:

- Efecto del DHA sobre características morfológicas y análisis bioquímico de la composición de la membrana plasmática de los espermatozoides.
- Evaluación de la receptividad endometrial por medio de estudio in vitro de biomarcadores tisulares en pacientes tratadas con fecundación in vitro. Estudio de cohortes prospectivo de evaluación de prueba diagnóstica.
- Estudio exploratorio no experimental para identificar y validar biomarcadores en el fluido folicular, en células del cúmulus o de la granulosa o en medios de cultivo embrionario para la predicción del resultado de la implantación y embarazo del ciclo de la Tecnología de Reproducción Asistida.

- Realización de multitud de publicaciones nacionales e internacionales. Algunos ejemplos de publicaciones recientes:
  - ✓ ***Barrenetxea G**, García-Velasco JA, Aragón B, Osset J, Brosa M, López-Martínez N, Coroleu B. Comparative economic study of the use of corifollitropin alfa and daily rFSH for controlled ovarian stimulation in older patients: Cost-minimization analysis based on the PURSUE study. Reprod Biomed Soc Online. 2018 Feb 21;5:46-59. doi: 10.1016/j.rbms.2018.01.001. eCollection 2018 Apr.*

- ✓ *Barasoain M, **Barrenetxea** G, Huerta I, Télez M, Criado B, Arrieta I. Study of the Genetic Etiology of Primary Ovarian Insufficiency: FMR1 Gene. Genes (Basel). 2016 Dec 13;7(12). pii: E123. Review.*
- ✓ *Huerta I, Barasoain M, Télez M, Longa M, Muga J, **Barrenetxea G**, Ortiz-Lastra E, González J, Criado B, Arrieta I. Genotoxic evaluation of five Angiotenin II receptor blockers: in vivo and in vitro micronucleus assay. Mutat. Res., 2014, 767: 1-7*
- ✓ *Barasoain M, **Barrenetxea G**, Ortiz-Lastra E, González J, Huerta I, Télez M, Ramírez JM, Domínguez A, Gurtubay P, Criado B, Arrieta I. Single nucleotide polymorphism and FMR1 CGG repeat instability in two Basque valleys. Ann Hum Genet, 2012; 76: 110-20. Doi: 10.1111/j.1469-1809.2011.00696.x Epub 2012*
- ✓ *Barasoain M, **Barrenetxea G**, Huerta I, Télez M, Carrillo A, Pérez C, Criado B,Arrieta I. Study of FMR1 gene association with ovarian dysfunction in a sample from the Basque Country. Gene. 2013 May 25;521(1):145-9. doi: 0.1016/j.gene.2013.03.032. Epub 2013 Mar 26.*
- ✓ *Barrenetxea G. Iatrogenic diseases in humans: an update. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2012 Dec;165(2):165-9. doi: 10.1016/j.ejogrb.2012.08.014. Epub 2012 Aug 28*
- ✓ *Abanto E, **Barrenetxea G**., Agirregoikoa JA, Anarte C, De Pablo JL, Burgos J.a Oocyte donors: why not avoid the ovarian hyperstimulation syndrome? Hum Reprod, 2011; 26 (suppl.1): 234.*
- ✓ *Abanto E, Agirregoikoa JA, Anarte C, De Pablo JL, Delas Heras M. **Barrenetxea G**. Oocyte donors: is it worth a second attempt if we do not achieve pregnancy in the first ovarian stimulation? Fertil Steril, 2011; 96 (3): s264.*
- ✓ *Agirregoikoa JA, Ausin I, Jiménez R, Ganzabal T, López de Larruzea A,* **Barrenetxea G**. *Which is the best day for embryo transfer? Fertil Steril, 2008; 90: s437.*
- ✓ *De las Heras M, De Pablo JL, Navarro B, Agirregoikoa JA, **Barrenetxea G**. Vitrification and ovarian hyperstimulation syndrome. Hum Reprod, 2011; 26 (suppl.1): 167.*
- ✓ **G. Barrenetxea**, A. López de Larruzea, T. Ganzabal, R. Jiménez, K. Carbonero, M. Mandiola. Blastocyst culture after repeated failure of cleavage-stage embryo transfers: a comparison of day 5 and day 6 transfers. Fertil Steril, 2005; 83 (1): 49-53.
- ✓ ***G. Barrenetxea**, JA Agirregoikoa, MR Jimenez, A López de Larruzea, T Ganzábal, K Carbonero. Ovarian response and pregnancy outcome in poor-responder women: a randomized controlled trial on the effect of luteinizing hormone supplementation on in vitro fertilization cycles.Fértil Steril 2008; 89 (3): 546-53.*
- ✓ ***G. Barrenetxea**, L Barinaga-Rementería, A López de Larruzea, JA Agirregoikoa, M. Mandiola, K Carbonero. Heterotopic pregnancy: two cases and a comparative review. Fertil Steril, 2007; 87 (2): 417.e9-417.e15.*

- ✓ ***G. Barrenetxea***,. *JA Agirregoikoa, R. Jiménez, I Ausín, T. Ganzábal, A López de Larruzea. . Intrauterine insemina.stion: is it worth attempting instead of IVF? Hum Reprod; 2008; 23 (suppl.1): 63.*
- ✓ ***G. Barrenetxea****. Iatrogenic prion diseases in humanas: an update. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2012;doi.org/10.1016/j.ejogrb.2012.08.014*
- ✓ *Jiménez MR, Ganzabal T, Ausin I, López de Larruzea A, Agirregoikoa JA, Barrenetxea G Analysis of clinical data in women with poycystic Ovary sindrome (PCOS) undergoing intrauterine insemination. A comparative study.Gynecol Endocrinol, 2008; 24 (Suppl.1).*
- ✓ *M. Barasoain,* ***G. Barrenetxea****, E. Ortiz-Lastra, J. González, I. Huerta, M. Télez, JM. Ramírez, A. Domínguez, P. Gurtubay, B. Criado, I. Arrieta. Single nucleotide polymorphism and FMR1 CGC repeat instability in two Basque valleys. Ann Hum Genet, 2012; 76 (2): 110-20. doi: 10.1111/j.1469-1809.2011.00696.x.*
- ✓ *M. Mandiola, K Carbonero, A Guembe, L Rodríguez, F Atutxa, Y Alvarez, F Coppola, A López de Larruzea, T Ganzábal, I Ausín,* ***G. Barrenetxea****,. JA Agirregoikoa, R. Jiménez. Pregnancy rates after more than 1000 cycles of intrauterine insemination with donor sperm. Hum. Reprod; 2008; 23 (suppl.1): 120.*

- Participación en contratos de investigación de especial relevancia con empresas y/o administraciones.
- Participación en congresos, ponencias, tales como el IV simposio Internacional. Avances en Medicina Perinatal, XX Congreso Español de Ginecología y Obstetricia (SEGO), XXI Reunión Nacional de Oncología Ginecológica y Patología Mamaria.
- DOS SEXENIOS DE INVESTIGACIÓN CONCEDIDOS
- Además, cabe destacar que es profesor titular de Ginecología y Obstetricia de la Universidad del País Vasco, donde ejerce su actividad docente en enseñanza teórica de segundo ciclo (Hospitales de Cruces y de Basurto).

Edurne Martínez:

Edurne Martínez Sanz es Licenciada en Bioquímica en el año 2006 por la Universidad de Navarra además de poseer un máster en Biotecnología en Reproducción humana por la Universidad de Valencia e IVI. Posteriormente se certificó como Embrióloga Clínica por el ESHRE en 2013. Desde entonces, ha alternado prácticas en el Hospital Marqués de Valdecilla y en la Universidad de Ginebra. A partir del año 2009, ha ejercido como Embrióloga del Laboratorio de Fecundación In

Vitro de diversas clínicas: IVI Madrid (2009), IVI Vigo (2010), Grupo Quirón Bilbao (2011-2014), Clínica Praxis Bilbao (2014-2015) y Reproducción Bilbao desde 2015 hasta la actualidad.

Destacar entre su producción científica el siguiente artículo:

- Martinez E, Domingo J, Pellicer A, García-Velasco J, Garrido N, Munoz E. Ovarian stimulation for fertility preservation reaches similar outcomes than normal IVF patients. an age-matched cases and controls study. Fertility and Sterility, Vol 94, Issue 4, Septiembre 2010.

María de las Heras Martínez

María de las Heras Martínez es Licenciada en Biología en el año 2007 por la Universidad Pompeu Fabra (Barcelona). Posteriormente, realizó dos másteres en cuatro años: Máster de Biología de la Reproducción y Técnicas de Reproducción Humana Asistida de la Universidad de Autónoma de Barcelona (UAB) en colaboración con el Instituto Universitario Dexeus (I.U.D.) y Máster Oficial en Investigación Biomédica de la Universidad del País Vasco (UPV). Todo ello, lo ha compatibilizado como embrióloga en el laboratorio de Andrología y Fecundación In Vitro del Servicio de Medicina de la Reproducción del Institut Universitari Dexeus en Barcelona (2008-2010) y en el laboratorio de Fecundación In Vitro del Servicio de Reproducción Asistida de la empresa Ginegorama (2010-actualidad). Destacar sus asociaciones profesionales y científicas a las que pertenece incluyendo la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), European Society of Human Reproduction and Embriology (ESHRE), Colegio Oficial de Biólogos de Euskadi (COBE) y miembro de la asociación para el estudio en Biología de la Reproducción (ASEBIR)

Destacar dentro de su producción científica los siguientes artículos como primera firmante:

- De las Heras M, Martinez E, Agirregoikoa JA, Barrenetxea G, De Pablo JL. Is a “Vitrify All” approach a valid paradigmto pursue to improve IVF Outcomes? The Journal of Clinical Embryology; Volume 17, Issue 3, May 2014
- De las Heras M, Arroyo G, Boada M, Coroleu B, Veiga A. División embrionaria temprana (EC) en transferencias únicas (sET) Revista Iberoamericana de Fertilidad; Vol.26, nº3, Mayo-Junio 2009

Oihane Gómez Picado

Oihane es Licenciada en Química por el Centro Científico-Técnico de la Universidad Pública de La Rioja en 2008 y Licenciada en Bioquímica por la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad del País Vaso UPV-EHU en 2010. Magister en Reproducción Humana por la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid y la Sociedad Española de Fertilidad en 2011. Posee el Certificado en Genética Médica organizado por La Universidad de Valencia (ADEIT) en 2014. Más tarde en 2014 también realizó el Máster en Investigación Biomédica en la Facultad de Medicina de la Universidad del País Vasco UPV-EHU.

Entre su experiencia laboral destacan sus tareas como alumna interna en la Unidad de Biofísica de la UPV en un proyecto de identificación y caracterización de proteínas y lípidos, prácticas en la Clínica URH García del Real (Madrid) en 2011, Clínica Tambre (Madrid) EN 2011-2012, puesto de becaria en la Unidad de Reproducción Humana del Hospital Universitario de Cruces en Barakaldo (Bizkaia) y del grupo de investigación Innovación en Reproducción Humana Asistida de Biocruces en 2014. Desde 2014 hasta 2017 ha trabajado como embrióloga de la Clínica FIV Madrid-Valladolid y como responsable del laboratorio de FIV. Oihane pasó a formar parte de la clínica Reproducción Bilbao en Enero de 2018.

En su participación en proyectos de investigación destaca:

- A randomized, Double-Bind, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Safety and Efficacy of Study Drug in Subjects with Moderate to Severe Endometriosis-Associated Pain. Protocolo M12-671, financiadopor Theorem Clinical Research, 2013-2015. +Como subinvestigadora y subcoordinadora.

- Estudio multicéntrico de doble ciego, de doble simulación, aleatorizado con dos grupos para compara la eficiacia, seguridad y tolerabilidad de 30 mg diarios de didrogestoerona oral frente a 600 mg diarios de cápsulas de progesterona mucronizadaintravaginal como apoyo en la fase lútea de la fertilización in vitro (LOTUS I). Código de Promotor M13-563; Nª EudraCT: 2012-002215-26. Promotor: Abbott Laboratories GmbH, 2014-2015. Como subinvestigadora.
- Obesidad y ácidos grasos ovocitarios. Estudio OYAGO. 2013-2016. Como subinvestigadora.

En su producción científica, destacar el siguiente artículo:

- Matorras R, Aparicio V, Corcostegui B, Prieto B, Mendoza R, Ramón O, Gomez-Picado O, Exposito A. Failure of intrauterine insemination as rescue treatment in low responders with adequate HCG timing with no oocytes retrieved.. Reprod Biomed Online; 29(5):634-9, Noviembre 2014

Alaine Abio Monasterio

Alaine es Diplomada Universitaria en Enfermería por la Universidad del País Vaso UPV-EHU en 1999. Posteriormente realizó un curso de técnico auxiliar de enfermería en el Instituto Emilio Campuzano que finalizó en el 2000. En el año 2008 realizó un curso de formación continuada en LOGOSS sobre "Nutrición y Bromatología", en 2011 volvió a realizar dos cursos más en LOGOSS de "Dermatología" y "Salud Laboral". En 2016 realizó un curso sobre "Intervención en reproducción asistida" en DELENA FORMACIÓN, y posteriormente en 2017-2018 realizó el Máster online en Enfermería en quirófano y cuidados intraoperatorios.

En cuanto a su experiencia podemos destacar su tarea como enfermera supervisora en la Clínica Henao entre 2012 y 2015 y su labor como enfermera responsable de seguimiento en la Clínica Eva Fertility en 2016. Alaine pasó a formar parte de la clínica Reproducción Bilbao en Enero de 2018.

Destacar dentro de su producción científicas el siguiente artículo como Autora:

- Abio Monasterio A. Toxina botulínica en estética ocular: actualización y abordaje enfermero. SEEOF, Volumen 23, Noviembre 2017.

Maitane Bilbao Zabala

Maitane Bilbao Zabala es Graduada en Enfermería en la Universidad Europea de Madrid en 2013. Posteriormente realizó un curso como Experto Universitario de Urgencias y Emergencias a través de la Escuela Internacional de ciencias de la Salud en 2014 y un curso de Taxonomía enfermera NANDA-NOC-NIC en 2015.

Entre su experiencia laboral podemos destacar sus tareas en el Laboratorio Busturia, Análisis clínicos, así como su actividad en la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Quirón Bilbao, ambas durante el 2014. Finalmente Clínica Reproducción Bilbao en la actualidad.

BIBLIOGRAFIA:

1. **INE:** https://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/categoria.htm?c=Estadistica_P&cid=1254735573002.
2. **Barrenetxea G**, Agirregoikoa JA, Jiménez MR, de Larruzea AL, Ganzabal T, Carbonero K. Ovarian response and pregnancy outcome in poor-responder women: a randomized controlled trial on the effect of luteinizing hormone supplementation on in vitro fertilization cycles. Fertil Steril. 2008; 89(3):546-53.
3. **Barrenetxea G**, García-Velasco JA, Aragón B, Osset J, Brosa M, López-Martínez N, Coroleu B. Comparative economic study of the use of corifollitropin alfa and daily rFSH for controlled ovarian stimulation in older patients: Cost-minimization analysis based on the PURSUE study. Reprod Biomed Soc Online, 2018; 21;5:46-59. doi: 10.1016/j.rbms.2018.01.001.
4. **Gleicher N**, Kushnir VA, Weghofer A, Barad DH. The "graying" of infertility services: an impending revolution nobody is ready for. Reprod Biol Endocrinol, 2014;12:63.
5. **Bukovsky A**. Novel methods of treating ovarian infertility in older and POF women, testicular infertility, and other human functional diseases. Reprod Biol Endocrinol, 2015; 13:10-31. DOI 10.1186/s12958-015-0001-8.
6. **Gheorghisan-Galateanu A**, Hinescu ME, Enciu AM. Ovarian adult stem cells: hope or pitfall? J Ov Res, 2014; 7: 71-80.
7. **Barasoain M**, Barrenetxea G, Huerta I, Télez M, Criado B, Arrieta I. Study of the Genetic Etiology of Primary Ovarian Insufficiency: FMR1 Gene (Rev). Genes 2016, 7, 123; doi:10.3390/genes7120123.
8. **Kawamura K**, Kawamura N, Hsueh AJW. Activation of dormant follicles: a new treatment for premature ovarian failure? Curr Opin Obstet Gynecol. 2016 June ; 28: 217–222. doi:10.1097/GCO.0000000000000268.
9. **McKinlay SM**, Brambilla DJ, Posner JG. The normal menopause transition. Maturitas 1992, 14, 103–115.
10. **Zhang H**, Luo Q, Lu X, Yin N, Zhou D, Zhang L, et al. Effects of hPMSCs on granulosa cell apoptosis and AMH expression and their role in the restoration of ovary function in premature ovarian failure mice. Stem Cell Res & Ther, 2018: 9: 20-32.
11. **Álvarez-García E**.; Labandeira, A. Estudio bioquímico de la menopausia y la perimenopausia. Ed. Cont. Lab. Clín. (SEQC) 2010, 13, 76–93.
12. **Yin N**, Zhao W, Luo Q, Yuan W, Luan X, Zhang H. Restoring Ovarian Function With Human Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells in Autoimmune-Induced Premature Ovarian Failure Mice Mediated by Treg Cells and Associated Cytokines. Reprod Sci, 2018; 25(7): 1073-1082. DOI: 10.1177/1933719117732156.
13. **Welt CK**. Primary ovarian insufficiency: A more accurate term for premature ovarian failure. Clin. Endocrinol. 2008; 68: 499–509.
14. **De Vos M**, Devroey P, Fauser BCJM. Primary ovarian insufficiency. Lancet 2010; 376: 911–921.
15. **Soave I,** Lo Monte G, Marci R. POI: Premature ovarian insufficiency/pregnancy or infertility? N. Am. J. Med. Sci, 2013; 5:71.
16. **Barasoain M**, Barrenetxea G, Huerta I, Télez M, Carrillo A, Pérez C, Criado b, Arrieta I. Study of FMR1 gene association with ovarian dysfunction in a sample from the Basque Country. Gene, 2013; 521: 145-9.
17. **Murray A**., Ennis, S., MacSwiney, F., Webb, J., Morton, N.E., 2000. Reproductive and menstrual history of females with fragile X expansions. Eur. J. Hum. Genet. 8 (4), 247–252.
18. **He Y**, Chen D, Yang L, Hou Q, Ma H, Xu X. The therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells in premature ovarian failure. Stem Cell Res Ther, 2018; 9:263

19. **Donnez J**, Dolmans MM. Fertility preservation in women. Nat Rev Endocrinol. 2013; 9:735–749.
20. **Hewlett M**, Mahalingaiah S. Update on primary ovarian insufficiency, Curr. Opin. Endocrinol Diabetes Obes 2015; 22: 483.
21. **Sheikhansar G**, Aghebati-Malek L, Nouri M, Jadidi-Niaragh F, Yousef M. Current approaches for the treatment of premature ovarian failure with stem cell therapy. Biomed Pharmacol, 2018; 102: 254-62.
22. **Hsueh AJ**, Kawamura K, Cheng Y, et al. Intraovarian control of early folliculogenesis. Endocr Rev. 2015; 36:1–24.
23. **Adhikari D**, Liu K. Molecular mechanisms underlying the activation of mammalian primordial follicles. Endocr Rev. 2009; 30:438–464.
24. **Kolios G**, Moodley Y. Introduction to stem cells and regenerative medicine. Respiration, 2013; 85: 3-10.
25. **Volarevic V**, Bojic S, Nurkovic J, Volarevic A, Ljujic B, Arsenijevic N, Lako M, Stojkovic M. Stem cells as new agents for the treatment of infertility: current and future perspectives and challenges. BioMed Res, 2014;.
26. **Augello A**, Kurth TB, De Bari C. Mesenchymal stem cells: a perspective from in vitro cultures to in vivo migration and niches. Eur. Cell Mater, 2010: 20 (121) e33.
27. **Dunlop CE**, Telfer EE, Anderson RA. Ovarian germline stem cells. Stem Cell Res Ther, 2014: 5: 98-105.
28. **Wang S**, Yu L, Sun M, Mu S, Wang C, Wang D, Yao Y. The therapeutic potential of umbilical cord mesenchymal stem cells in mice premature ovarian failure. BioMed Res, 2013; Int. 2013 (2013).
29. **Chen CP**. Placental villous mesenchymal cells trigger trophoblast invasion. Cell Adh Migr. 2014;8(2):94–7.
30. **Regaud C**. Etudes sur la structure des tubes seminiferes et sur la spermatogenese chez les mammiferes [Studies on the structure of seminiferous tubules and on spermatogenesis in mammals]. Part 1. Archives d'Anatomie microscopiques et de Morphologie experimentale, 1901, 4:101–156.
31. **Regaud C**. Etudes sur la structure des tubes seminiferes et sur la spermatogenese chez les mammiferes [Studies on the structure of seminiferous tubules and on spermatogenesis in mammals] . Part 2. Archives d'Anatomie microscopiques et de Morphologie experimentale, 1901, 4:231–280.
32. **Brinster RL**. Male germline stem cells: from mice to men. Science 2007; 316:404–405.
33. **Eliazer S**, Buszczak M. Finding a niche: studies from the Drosophila ovary. Stem Cell Res Ther, 2011: 2:45.
34. **Hanna CB**, Hennebold JD: Ovarian germline stem cells: an unlimited source of oocytes? Fertil Steril, 2014; 101: 20–30.
35. **Waldeyer W**. Eierstock und Ei [Ovary and egg]. Leipzig: Engelmann; 1870.
36. **White YA**, Woods DC, Takai Y, Ishihara O, Seki H, Tilly JL: Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. Nat Med 2012, 18:413–421.
37. **Anckaert E**, De Rycke M, Smitz J: Culture of oocytes and risk of imprinting defects. Hum Reprod Update, 2013; 19:52–66.
38. **Dawood AS**, Salem HA. Current clinical applications of platelet-rich plasma in various gynecological disorders: An appraisal of theory and practice. Clin Exp Reprod Med 2018; 45(2): 67-74. doi.org/10.5653/cerm.2018.45.2.67
39. **Adhikari D**, Gorre N, Risal S, et al. The safe use of a PTEN inhibitor for the activation of dormant mouse primordial follicles and generation of fertilizable eggs. PLoS One. 2012; 7:e39034.

40. **Kawamura K**, Cheng Y, Suzuki N, et al. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013; 110:17474–17479.
41. **Dhillon RS**, Schwarz EM, Maloney MD. Platelet-rich plasma therapy: future or trend? Arthritis Res Ther, 2012;14:219.
42. **Jain NK**, Gulati M. Platelet-rich plasma: a healing virtuoso. Blood Res, 2016; 51: 3-5.
43. **King W**, Toler K, Woodell-May J. Role of White Blood Cells in Blood- and Bone Marrow- Based Autologous Therapies. BioMed Res Int, 2018; Article ID 6510842. doi.org/10.1155/2018/6510842
44. **Everts PAM**, Mahoney CB, Hoffmann JJML, et al. Platelet-rich plasma preparation using three devices: implications for platelet activation and platelet growth factor release. Growth Factors, 2006; 24 (3): 165–171.
45. **Pantos K**, Nitsos N, Kokkali G, Vaxevanoglou T, Markomichali C, Pantou A, et al. Ovarian rejuvenation and folliculogenesis reactivation in peri-menopausal women after autologous platelet- rich plasma treatment. Proceedings of the 32nd Annual Meeting of ESHRE; 2016 July 3-6; Helsinki, Finland.
46. **Maynard DM**. Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry. J Thromb Haemost, 2007; 5 (9): 1945–55.
47. **Barrenetxea G**. Iatrogenic prion diseases in humans: an update. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2012; 165(2):165-9. doi: 10.1016/j.ejogrb.2012.08.014.
48. **Ferraretti AP**, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L; ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. Hum Reprod, 2011;26(7):1616-24. doi: 10.1093/humrep/der092.
49. **Alviggi C**, Andersen CY, Buehler K, Conforti A, De Placido G, Esteves SC, Fischer R, Galliano D, Polyzos NP, Sunkara SK, Ubaldi FM, Humaidan P. Poseidon Group (Patient-Oriented Strategies Encompassing IndividualizeD Oocyte Number). A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept. Fertil Steril, 2016;105(6):1452-3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.005.
50. **Bosch E**, Labarta E, Kolibianakis E, Rosen M, Meldrum D. Regimen of ovarian stimulation affects oocyte and therefore embryo quality. Fertil Steril. 2016; 105(3):560-570. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.01.022.
51. **Cobo A**, Garrido N, Crespo J, José R, Pellicer A. Accumulation of oocytes: a new strategy for managing low-responder patients. Reprod Biomed Online, 2012; 24(4):424-32. doi: 10.1016/j.rbmo.2011.12.012.

INFORMACIÓN SOBRE EL SUJETO Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título completo del estudio:
Estudio prospectivo de casos-control con intervención, mediante la administración de factores de crecimiento en plasma rico en plaquetas (PRP) para la activación de folículos primordiales en mujeres con baja reserva ovárica.

Título abreviado del estudio:
Activación de folículos primordiales en mujeres con baja reserva ovárica mediante factores de crecimiento.

Número de protocolo:
MAXIMOVO - EudraCT number 2020-000247-32

Compañía promotora del estudio
Reproducción Bilbao. Ginegorama S.L.
Morgan, 2B. 48014. BILBAO

Datos del investigador principal
Gorka Barrenetxea Ziarrusta MD, PhD
Director Médico de Reproducción Bilbao
Profesor titular de Ginecología y Obstetricia de la UPV/EHU
Correo electrónico: gbarrenetxea@reproduccionbilbao.es
Teléfono: 00 34 946 11 12 13

Introducción

A usted y su pareja (si aplicase) se le está solicitando la participación en un estudio clínico prospectivo. Antes de que usted y su pareja (si aplicase) decidan si desean participar, es importante entender que se está realizando esta investigación. Por favor, tómese el tiempo necesario para leer detenidamente la siguiente información con el fin de prepararse para las discusiones con su médico del estudio.

La decisión de participar en este estudio depende de usted y su pareja (si aplicase). Su participación es totalmente voluntaria. Su decisión no afectará la relación con su médico habitual, ni alterará su atención médica actual o futura en manera alguna.

Pregúntele a su médico habitual o a cualquier otra persona del estudio sobre cualquier aspecto del mismo que no esté claro para usted o su pareja (si aplicase). Tómese el tiempo que necesite para decidir si desea participar en este estudio.

¿Cuál es el propósito de este estudio prospectivo?

Durante un procedimiento de reproducción asistida (ciclo de fecundación in vitro) se programa una estimulación ovárica con posterior inducción ovulatoria y punción de los folículos ováricos. La punción folicular es, tal como se detalla en el correspondiente documento de consentimiento informado, un acto quirúrgico en el que se introduce una aguja en el ovario para la extracción del contenido de los folículos ováricos desarrollados (con el objeto de obtener ovocitos para su posterior fecundación).

En ocasiones, el número de ovocitos obtenidos es bajo y se propone la vitrificación y acumulación de los mismos hasta la obtención de un número adecuado.

El propósito del estudio es conocer si la activación de folículos primordiales quiescentes por acción de factores de crecimiento endógeno aumenta el número de ovocitos obtenidos en cada punción, reduciendo, por tanto, el número de punciones necesarias y aumentando la calidad ovocitaria en pacientes con baja respuesta ovárica. Tal activación se realizaría mediante la inyección intraovárica) en el momento de la punción folicular para la obtención de ovocitos) de plasma rico en plaquetas (PRP) obtenido a partir de la sangre de la propia paciente.

¿Por qué se me ha pedido que participe?

Se le ha pedido participar porque, dentro del contexto reproductivo y debido a la baja reserva funcional de sus ovarios, se ha programado la realización de ciclos sucesivos de acumulación de ovocitos.

¿Tengo que participar y puedo echarme atrás?

La participación de usted y su pareja (si aplicase) en este estudio es completamente voluntaria. Usted puede elegir si desea o no participar. Si decide no participar, no perderá ninguno de los beneficios a los que tendría derecho si lo hiciera.

Si usted o su pareja (si aplicase) deciden participar, recibirán esta hoja de información y se les pedirá que firmen un formulario de consentimiento. Ambos tienen derecho a retirarse (dejar de participar) en cualquier momento sin dar ninguna razón y sin incurrir en ninguna penalización o pérdida. Si alguno de ustedes desea retirarse del estudio, informe al doctor o al personal del estudio.

¿Supondrá participar en el estudio un aumento del número de visitas o controles?

La participación en el estudio no supone ninguna modificación en el protocolo de estimulación ni en la medicación a ser administrada.
La única modificación se producirá en el acto de la punción folicular. Durante la venoclisis (canalización de una vena periférica para la sedación) se le extraerán 20 ml de sangre para la preparación del PRP. Una vez puncionados los ovarios, se aprovechará el procedimiento para la administración del PRP en ovario.

¿Qué me ocurrirá si tomo parte en el estudio?
Antes de que se lleve a cabo su procedimiento de FIV, usted y su pareja (si aplicase) recibirán esta hoja de información y el formulario de consentimiento informado para leerlos en casa. Su médico del estudio responderá a todas las cuestiones que usted o su pareja planteen.
Su médico revisará todas las pruebas e información médica disponible previamente realizadas para confirmar su aptitud para participar en el estudio.

Antes de programar la punción (durante el primer control de la estimulación habitualmente) se les pedirá que lean y formen este documento de consentimiento informado, si usted desea participar en el estudio.

En el estudio habrá dos grupos de intervención: un grupo de tratamiento (en el que se aplicaría el PRP) y un grupo de control (en el que se realizaría la punción folicular de forma estandarizada). Dentro del grupo control habrá 3 subgrupos de intervención en los que la inyección intraovárica de PRP se realizará en 3 dosis y formulaciones diferentes.
Una vez que la paciente acepta participar en el estudio, se asignará a un grupo u otro de forma aleatoria.

Los procedimientos FIV requieren (en todas las parejas) el cumplimiento de los siguientes pasos:

- Se registran datos demográficos como la fecha de nacimiento.
- Se realiza una revisión completa del historial médico e historial de medicación.
- Se lleva a cabo un examen físico completo incluyendo peso y talla, así como constantes vitales.
- Se revisa la historia ginecológica, obstétrica y reproductiva.
- Se instaura un procedimiento de estimulación ovárica controlada con la ulterior inducción ovulatoria según protocolo habitual de la clínica.
- El día de la punción folicular se practica una extracción de sangre para la preparación del plasma rico en plaquetas (PRP) en condiciones establecidas.
- Se seguirá el protocolo habitual ulterior a la punción.

Contacto de seguimiento
Se ajustará la monitorización ulterior a los protocolos habituales en la clínica.

Gastos y pagos
Usted no tendrá que pagar las pruebas realizadas como parte de este estudio. Usted sólo tendrá que pagar, cuando así lo requiera el centro, los costes normales del procedimiento indicado.

Requisitos de tiempo
Usted no tendrá que realizar visitas adicionales a las que realizase si no participase en el estudio. Las muestras recogidas cumplirán la Ley de Investigación Biológica 14/2007.

¿Cuáles son los posibles riesgos y efectos secundarios?

Dado que la inyección de factores se realiza durante el procedimiento de extracción ovocitaria, no se prevén riesgos adicionales a los de una punción ovárica descritos en el consentimiento informado del procedimiento que usted ha firmado en su caso, salvo los derivados de la extracción de sangre tras la introducción de una aguja para la administración de la anestesia.
No habrá riesgos para los embriones o fetos relacionados con la participación en este estudio.

¿Cuáles son los posibles beneficios de participar en el estudio?

Si se cumplieren los objetivos marcados, usted podría beneficiarse de la obtención de más ovocitos en cada punción de acumulación.

¿Cómo se podría cesar la participación en el estudio?
Su participación en el estudio puede finalizar en cualquier momento si usted o su pareja (si aplicase) deciden retirar su consentimiento a participar o su médico del estudio decide que debe retirarse.
El cese de participación en el estudio no afectará de forma alguna en su tratamiento.

¿Recibirá algún tipo de compensación por la participación en el estudio?
Como sujeto voluntario, no se le pagará por participar en el estudio.
Si parte de la información resultante de su participación conduce a la creación de algún medicamento, prueba o tratamiento que pudiera generar beneficios económicos para el Promotor, usted no participará de ningún beneficio que el Promotor pudiera recibir de tal comercialización.
Usted no tendrá que pagar ninguna prueba o procedimiento médico que recibiera como parte del estudio.

Seguro Responsabilidad Civil
El estudio clínico está cubierto por una póliza de Seguro de Responsabilidad Civil cuyas cláusulas y condiciones están a su disposición.

Confidencialidad
Todos los participantes en el estudio tendrán la obligación de preservar su confidencialidad como participante en la investigación, y de cumplir las leyes aplicables sobre protección de datos. El tratamiento, la comunicación y la transferencia de los datos personales de todos los sujetos participantes en el estudio cumplen con las disposiciones de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre sobre la protección de datos personales. De acuerdo con lo establecido en la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, rectificación, oposición y cancelación de datos, en cuyo caso deberá comunicarse con el médico del estudio.

Los datos del estudio se recogerán de forma anónima; es decir su nombre se sustituirá por un código en los datos del estudio y sólo el médico y los colaboradores del estudio podrán correlacionar este código con su expediente. Su médico garantizará la confidencialidad de sus datos.

El estudio cumple lo establecido en el REGLAMENTO (UE) 2016/679 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 27 de abril de 2016 relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y a la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales que deroga la Ley Orgánica 15/1999, de 5 de diciembre, de protección de datos personales.

De conformidad con lo establecido en la normativa vigente en Protección de Datos de Carácter Personal, le informamos que sus datos serán incorporados al sistema de tratamiento titularidad de GINEGORAMA SL con CIF B95551776 y domicilio social sito en c/ MORGAN, 2B, 48014 BILBAO (BIZKAIA), con la finalidad de gestionar el estudio.
De acuerdo con los derechos que le confiere la normativa vigente en protección de datos podrá ejercer los derechos de acceso, rectificación, limitación de tratamiento, supresión, portabilidad y oposición al tratamiento de sus datos de carácter personal, dirigiendo su petición a la dirección postal indicada más arriba o al correo electrónico info@reproduccionbilbao.es En cumplimiento con la normativa vigente, GINEGORAMA SL informa que los datos serán conservados según el plazo legalmente establecido.

A su vez, le informamos que puede contactar con el Delegado de Protección de Datos de GINEGORAMA SL, dirigiéndose por escrito a la dirección de correo

info@reproduccionbilbao.es.

GINEGORAMA SL informa que procederá a tratar los datos de manera lícita, leal, transparente, adecuada, pertinente, limitada, exacta y actualizada. Es por ello que GINEGORAMA SL se compromete a adoptar todas las medidas razonables para que estos se supriman o rectifiquen sin dilación cuando sean inexactos.
Podrá dirigirse a la Autoridad de Control competente para presentar la reclamación que considere oportuna. En último lugar, GINEGORAMA SL informa que con la firma del presente documento otorga el consentimiento explícito para el tratamiento de los datos mencionados anteriormente.

¿Quién ha revisado el estudio?

El Comité Ético de Investigación Médica de Euskadi ha emitido un informe favorable para que este estudio se lleve a cabo.

Información de contacto
Si usted tiene alguna inquietud o duda respecto a su participación en este estudio, debe comunicarse con:
Dr. Gorka Barrenetxea Ziarrusta (Teléfono 946 11 12 13)
Dirección: Clínica Reproducción Bilbao. Calle Morgan, 2B: 48014. BILBAO.

Gracias por tomarse el tiempo para leer esta hoja informativa. Recibirá su propia copia que podrá llevarse a casa.

Si tiene alguna pregunta sin respuesta o ha recibido respuestas insatisfactorias a sus preguntas, no firme este formulario.

Formulario de consentimiento informado

Título del estudio
Estudio prospectivo de casos-control con intervención, mediante la administración de factores de crecimiento en plasma rico en plaquetas (PRP) para la activación de folículos primordiales en mujeres con baja reserva ovárica.

Yo,_____, con DNI_____y mi pareja (si aplicase),_____, con DNI _____

Hemos leído y comprendido la información anterior y se nos ha proporcionado una copia de esta hoja de Información del Sujeto, así como el formulario de Consentimiento Informado.

Mi pareja (si aplicase) y yo nos comprometemos a participar en este estudio realizado por Gorka Barrenetxea y promovido por Reproducción Bilbao. Hemos tenido tiempo para pensar en todas las implicaciones derivadas del estudio, se nos ha dado una información completa de la finalidad y naturaleza del estudio, y hemos podido hacer preguntas sobre todos los aspectos del mismo.

Mi pareja (si aplicase) y yo entendemos que nuestra participación es voluntaria. Si lo deseamos, podemos cesar nuestra participación en cualquier momento, sin dar explicaciones y sin que afecte a los cuidados médicos.

Nuestra identidad no se divulgará en ningún momento y la información recopilada se mantendrá confidencial. Los datos recogidos se incorporarán a una base de datos informatizada y anonimizada. Los datos pueden ser utilizados para estudios o publicaciones (sin revelar la identidad) debiendo ser tratados según la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de datos de carácter personal en relación con la finalidad prevista y la legislación aplicables en vigor

Nombre	Nombre (pareja)
Firma	Firma
Fecha	Feha

Nombre de la persona que obtiene el Consentimiento

Fecha

HAZITEK 2019
Proyectos de apoyo a la I+D empresarial

MEMORIA TÉCNICA DEL PROYECTO

GINEGORAMA, S.L

NIF: B-95551776

"DESARROLLO DE UNA NUEVA HERRAMIENTA PARA LA ACTIVACIÓN DE FOLICULOS PRIMORDIALES EN MUJERES CON BAJA RESPUESTA OVÁRICA"

MAXIMOVO

HAZITEK 2019
Proyectos de apoyo a la I+D empresarial

MEMORIA TÉCNICA DEL PROYECTO

Índice

1.DATOS BÁSICOS DEL PROYECTO 1

2.RESUMEN GENERAL DEL PROYECTO 2

3. ANALISIS DEL ESTADO DEL ARTE. 12

4. FASES Y TAREAS 25

5. ANÁLISIS DE POTENCIALES BENEFICIOS 36

6. RESULTADOS E IMPACTO DEL PROYECTO 51

7. GRUPO DE INVESTIGACIÓN 53

8. DESCRIPCIÓN DE LA GESTION DEL PROYECTO. 65

9. JUSTIFICACIÓN DE GASTOS 71

10. EFECTO INCENTIVADOR 90

HAZITEK 2019
Proyectos de apoyo a la I+D empresarial

1. DATOS BÁSICOS DEL PROYECTO

Título de Proyecto: DESARROLLO DE UNA NUEVA HERRAMIENTA PARA LA ACTIVACIÓN DE FOLICULOS PRIMORDIALES EN MUJERES CON BAJA RESPUESTA OVÁRICA _____

Acrónimo: MAXIMOVO _____

Área de RIS3[1]: BIOCIENCIAS _____

Cluster al que pertenece el proyecto: ACTIVIDADES SANITARIAS _____

[1] Ver página de instrucciones

Participantes en el proyecto. Recuerde algunos de los requisitos de las entidades beneficiarias:

- Estar radicadas en la Comunidad Autónoma del País Vasco o tener una instalación productiva en la Comunidad Autónoma del País Vasco.
- Desarrollar directamente desde sus instalaciones en la Comunidad Autónoma del País Vasco las actividades subvencionables.
- Será indispensable que las entidades beneficiarias tengan personalidad jurídica propia y suficiente capacidad de obrar y que no se encuentren incursos en ninguna prohibición o inhabilitación para la obtención de subvenciones públicas o para contratar con la Administración de la Comunidad Autónoma del País Vasco u otro ente público.
- Las Entidades Beneficiarias tendrán que estar al corriente de sus obligaciones tributarias y con la Seguridad Social.

Enumere a continuación los participantes en la propuesta:

1. **GINEGORAMA S.L. (NIF: B-95551776)**
2. **Subcontratación: Laboratorio Axpe, S. L (NIF: B-95291969)**

IMPORTANTE: Debe contestar de forma individualizada a CADA apartado de los siguientes cuadros donde se explican los contenidos a desarrollar

2. RESUMEN GENERAL DEL PROYECTO

2.1 Descripción y conceptualización breve del proyecto, su objeto y una definición de sus objetivos. Todo ello en coherencia con un planteamiento de medio plazo, buscando fundamentalmente posicionar al País Vasco en vanguardia en el ámbito estratégico que se trata.

2.2 Justificación del encaje del proyecto con el ámbito prioritario RIS3 de Euskadi que tienen las empresas participantes en él.

2.3 Encaje de los objetivos del proyecto con los principios básicos de HAZITEK, cuyas líneas y parámetros fundamentales se recogen en la norma que desarrolla el programa.

2.4 Aprovechamiento de resultados y/o integración con Proyectos de Investigación básica orientada a las Áreas de Actuación Estratégica realizados por la RVCTI (finalizados o en curso).

2.5 Concordancia con las necesidades y oportunidades identificadas por los sectores y las agrupaciones clusters del País Vasco.

2.6 Componente de innovación y reto tecnológico afrontados por el proyecto (aportación científico-técnica con respecto al estado del arte actual).

2.7 Integración del proyecto con el HORIZON 2020 (proyectos, redes y/o plataformas tecnológicas).

2.1→Descripción y conceptualización breve del proyecto, su objeto y una definición de sus objetivos. Todo ello en coherencia con un planteamiento de medio plazo, buscando fundamentalmente posicionar al País Vasco en vanguardia en el ámbito estratégico que se trata.

Ginegorama S.L. (en adelante Ginegorama) es una empresa con más de 10 años de experiencia en el área de la reproducción asistida que actualmente ofrece sus servicios en la **Clínica Reproducción Bilbao.** Actualmente, el mantenimiento de la fertilidad y el tratamiento de la infertilidad se han convertido en los procedimientos más avanzados en salud reproductiva. El primer paso para poder hacer un tratamiento de reproducción asistida como FIV o ICSI es la estimulación ovárica controlada en la cual se logra la maduración de varios folículos a la vez con el fin de aumentar el número de ovocitos obtenidos, lo que se consigue con tratamientos con gonadotropinas y agonistas o antagonistas de la GnRH.

A pesar de que en la mayoría de los casos el resultado de la estimulación es el esperado, hay ciertas patologías en las cuales el ovario puede responder de forma inadecuada frente a esta estimulación, ya sea con una respuesta del ovario excesiva denominada síndrome de hiperestimulación ovárica o bien con una baja respuesta. La baja respuesta ovárica es habitual en mujeres de mas de 35 años, no obstante, también hay casos de mujeres jóvenes con baja respuesta ovárica por fallo ovárico prematuro (FOP) o insuficiencia ovárica prematura.

Tradicionalmente, se ha considerado que las as mujeres nacen con toda la población de ovocitos de la que van a disponer durante su vida, con el tiempo esos ovocitos se van perdiendo hasta agotarse completamente. Sin embargo, no todas las mujeres de la misma edad tienen una reserva similar existiendo una gran variabilidad.

La baja reserva ovárica es una característica definida la nacer, generalmente a las 7 semanas de gestación donde la reserva ovárica predeterminada ronda entre los 7-6 millones de oocitos, pero en el caso de pacientes con baja respuesta ovárica este número ronda los 700,000; cuando se entra en la pubertad este número ya decrece hasta unos 400,000 folículos, haciendo la reserva ovárica extremadamente baja y con gran riesgo de agotarse por completo llegada la edad de los 30-40. Por ello, esta patología provoca que muchas mujeres se queden sin poder concebir antes de los 40.

La **búsqueda de un tratamiento efectivo para la baja respuesta ovárica, al ser todavía una enfermedad sin una causa clara, es dificultosa**. Por ello, las soluciones existentes se limitan al uso de terapias adyuvantes con las que mejorar la sensibilidad ovárica, estimulación en fase lútea, preparación de folículos antrales con andrógenos (DHEA, testosterona), ciclos de acumulación de ovocitos o ciclos de estimulación mínima o ciclos naturales en casos seleccionados. De todas estas estrategias, la más utilizada consiste en la acumulación de ovocitos tras sucesivas estimulaciones ováricas. ~~la más generalizado y la que se suele utilizar con casi todas las pacientes con baja reserva ovárica que desean quedarse embarazadas es la de realizar ciclos repetidos de estimulación ovárica controlada para ir acumulando ovocitos para tener un número suficiente como para proseguir con el ciclo de estimulación~~. Estos ovocitos se acumulan criopreservados hasta el momento en el que se decide continuar con el ciclo. Esta estrategia genera mucha ansiedad para las pacientes porque deben desplazarse continuamente a la clínica y llevar controles muy exhaustivo. Aunque en determinadas situaciones la acumulación de ovocitos puede ser efectiva, lo cierto es que la propuesta terapéutica más frecuentemente indicada es la de la utilización de ovocitos de donante anónima.
~~**En determinados casos, este tipo de soluciones son efectivas, no obstante, en la mayoría de casos las pacientes deben recurrir a programas de ovodonación para poder continuar el tratamiento de reproducción.**~~ **Por tanto, existe una gran limitación en el sector al no existir un tratamiento específico para este tipo de pacientes.**

En los últimos años se han llevado a cabo numerosas investigaciones acerca de **la utilización de plasma rico en plaquetas (PRP) obtenido de sangre de los propios pacientes. El PRP induce la liberación de factores de crecimiento plaquetarios, un conjunto de sustancias proteicas que, junto con hormonas y neurotransmisores desempeñan una importante función en la comunicación**

entre las células, lo que les otorga numerosas propiedades biológicas como la regeneración de tejidos. Por ello el PRP ya se está utilizando como terapia en diferentes campos de la biomedicina como la traumatología, dermatología, cirugía plástica y la odontología entre otros.

Debido al éxito de los PRP en diferentes campos de la biomedicina, se han empezado a realizar los primeros estudios de viabilidad para evaluar su efecto en el campo de la reproducción y más concretamente en la estimulación de folículos primordiales. Por un lado, se ha realizado una investigación en modelo animal (murino) en la que se han inyectado factores de crecimiento en los ovarios de los ratones y se ha conseguido la estimulación de folículos primordiales, siendo un gran hito en este campo de investigación. Por otro lado, se ha realizado el primer estudio en humanos con 8 mujeres con fallo ovárico prematuro a las cuales se le han inyectado factores de crecimiento. En este primer estudio se obtuvieron resultados muy prometedores, obteniendo finalmente embriones viables para su criopreservación. No obstante, este último estudio, que es el único que se ha publicado hasta la fecha en humanos, **no se realizó con un grupo control,** por lo que no se pudo determinar si esta estrategia consigue que se recuperen más ovocitos maduros durante la estimulación ovárica de las pacientes. Con ello, **a pesar de que hay indicios del éxito que podría tener el tratamiento con factores de crecimiento de mujeres con baja respuesta ovárica, todavía no se ha demostrado que pueda aumentar el número de ovocitos que se recuperan durante la estimulación ni que permita aumentar las tasas de éxito de los tratamientos**. Dar el **salto de un estudio en modelo animal a humanos** siempre conlleva un **gran reto tecnológico.** Del mismo modo, aunque se haya demostrado la utilidad de los factores de crecimiento en otros campos de la medicina, **el hecho de evaluar su potencial real en un nuevo campo como es el de la baja respuesta ovárica supone un importante reto tecnológico.**

En el presente proyecto **se parte de la hipótesis de que existen en los ovarios células primordiales (ovogonias) capaces de ser activadas al reiniciar la división mitótica tras el nacimiento, en la edad adulta contrariamente al dogma científico establecido hasta el momento, bajo determinados estímulos como pueden ser los factores de crecimiento endógenos**. Ginegorama se plantea el presente proyecto en el cual pretende evaluar el efecto beneficioso real que puede causar el uso de factores de crecimiento endógenos sobre una tipología concreta de pacientes, como son las que presentan baja respuesta ovárica. Para ello, llevará a cabo un estudio en el cual en diferentes subgrupos se inyectarán diferentes concentraciones y dosis de factores de crecimiento durante la punción del primer ciclo de estimulación. Tras el tratamiento con factores de crecimiento se continuará con dos ciclos de estimulación adicionales para evaluar si en los siguientes ciclos se consiguen recuperar más ovocitos maduros y cuánto tiempo debe transcurrir para que el efecto de los factores de crecimiento se refleje en

una mejora tanto de la cantidad como la calidad de los ovocitos recuperados en la punción. Asimismo, con los ovocitos que se acumulen de los tres ciclos de estimulación se procederá a realizar un seguimiento lineal de cada ovocito y embrión resultante aplicando la estricta política de screening genético de cada embrión resultante y transferencia de embrión único. De esta forma, se analizarán diferentes hitos reproductivos (madurez oocitaria, fecundación, desarrollo de blastocisto, aeuploidía, implantación, evolutividad) de forma individualizada.

~~continuar con el ciclo de reproducción para evaluar las tasas de éxito de los ciclos~~. Todo esto se evaluará frente a un grupo control al que no se le aplicarán factores de crecimiento, lo que supone una novedad crucial respecto al trabajo anterior. Asimismo, al tener la trazabilidad del origen de los ovocitos (número de punción de la que provienen) y dado que en Reproducción Bilbao se caracterizan por realizar siempre transferencias de un único embrión, se dispondrá de toda la información para conocer qué ovocitos han dado los mejores resultados reproductivos. Esto permitirá conocer en qué punción se consiguen ovocitos más viables (que den lugar a éxito de embarazo), así como qué dosis y concentración de factores de crecimiento permiten obtener los mejores resultados. Con ello, durante todo el tratamiento se irán recopilando todos los datos obtenidos de los subgrupos experimentales y del grupo control, **a partir de los cuales se desarrollará la nueva herramienta terapéutica**, definiendo las pautas sobre cómo, cuándo y a qué dosis se deben aplicar los factores de crecimiento para maximizar su eficacia.

En ese sentido, y de acuerdo con la hipótesis de trabajo señalada con anterioridad, el **objetivo principal** del presente proyecto consiste en el desarrollo de una novedosa herramienta terapéutica con la que aumentar **el número de ovocitos disponibles y su calidad** en pacientes con baja respuesta ovárica **tras un procedimiento de estimulación ovárica controlada mediante la activación de folículos primordiales quiescentes por acción de factores de crecimiento endógenos. Esto permitirá recuperar más ovocitos y de mayor calidad, así como reducir el número de estimulaciones en este tipo de pacientes.**

A partir de este objetivo principal, se establecen los siguientes **objetivos específicos**:

1. Incrementar el conocimiento sobre los mecanismos de acción de factores de crecimiento sobre la reserva ovárica inicial de la paciente y la activación de folículos primordiales quiescentes.
2. Determinar el efecto que ejercen la dosis y concentración de los factores de crecimiento sobre el pool de reserva ovárica funcional.
3. Evaluar el efecto de los factores de crecimiento sobre la calidad ovocitaria y posteriormente sobre el embrión en sus diferentes estadios de desarrollo.

4. Evaluar el aumento en el número de ovocitos disponibles en las pacientes tratadas con factores de crecimiento tras un nuevo procedimiento de estimulación ovárica controlada.
5. Desarrollar una herramienta terapéutica destinada a pacientes con baja respuesta ovárica con la que reducir el número de ciclos de estimulación ovárica controlada durante los TRA.
6. Mejorar la calidad de los ovocitos y las tasas de éxito de los TRA en pacientes con baja respuesta ovárica.

Objetivo de Mercado:

- Desarrollar una nueva herramienta pionera en el sector destinada a aumentar el número de ovocitos disponibles tras un procedimiento de estimulación ovárica controlada destinado a todas las pacientes que acudan a la clínica con baja respuesta ovárica.
- Ofrecer un nuevo servicio a pacientes con baja respuesta ovárica siendo pioneros en ofrecer un servicio que actualmente no existe en el sector de la reproducción.

Objetivo médico-social

Desarrollar una nueva herramienta que contribuirá a ofrecer y aumentar las expectativas reales de embarazo en pacientes con baja respuesta ovárica las cuales tras la estimulación ovárica controlada obtienen un reducido número de ovocitos con los que seguir el tratamiento. Se pretende intentar reducir así el número de estimulaciones necesarias en la paciente y por tanto los gastos y molestias asociadas a este tratamiento. Del mismo modo, se pretende reducir la actualmente alta demanda de ovocitos de donante en el campo de la reproducción asistida española.

Objetivo empresarial

Colocar a Ginegorama como referente en la investigación clínica en el sector de la medicina reproductiva. Ginegorama será el primer centro de reproducción asistida en ofrecer la nueva herramienta terapéutica, lo que será un gran reclamo para la captación de nuevos pacientes. Con ello, Ginegorama considera el presente proyecto estratégico para poder diferenciarse de sus competidores y aumentar considerablemente su volumen de negocio.

2.2 Justificación del encaje del proyecto con el ámbito prioritario RIS3 de Euskadi que tienen las empresas participantes en él.

El proyecto de investigación que aquí se plantea se encuentra enmarcado dentro del ámbito prioritario de las Biociencias, el cual constituye una de las tres prioridades de especialización inteligente incluidas dentro de la RIS3 de Euskadi. Más concretamente, se alinea con el núcleo principal de actividad de las Biociencias en el País Vasco, la salud humana, ya que, pretende desarrollar una nueva herramienta pionera en fertilidad femenina, destinada a mujeres con baja reserva ovárica, basada en aumentar el número de ovocitos disponibles tras un procedimiento de estimulación ovárica controlada mediante la activación de folículos primordiales quiescentes por acción de factores de crecimiento endógenos. **De este modo se pretende obtener una novedosa herramienta terapéutica pionera en el ámbito de la reproducción asistida.**

A su vez, en el presente proyecto se emplea una de las tecnologías facilitadoras (KET) definidas por la estrategia RIS3 de Euskadi, concretamente la Biotecnología, ya que para llegar a desarrollar como objetivo final la nueva herramienta terapéutica de activación de folículos primordiales mediante la acción de factores de crecimiento endógenos aplicada a las industrias de la salud, se utilizarán diferentes tecnologías biotecnológicas en todas las actividades.

Para el correcto desarrollo de esta actividad será necesario el uso de plasma rico en plaquetas (PRP) que es un material biológico autólogo obtenido de la misma sangre del paciente mediante una punción venosa. Este plasma contiene un gran número de sustancias llamadas “factores de crecimiento” que promueven la migración y división celular. Estos factores tienen el potencial de estimular la respuesta reparativa de los tejidos dañados, y por ello su uso en esta técnica.

Dado que Ginegorama es consciente del potencial que tiene la biotecnología, contará con profesionales en este tipo de técnicas con capacidad de encontrar soluciones terapéuticas a problemas en el ámbito de la medicina reproductiva, como es el caso del aumento en el número de ovocitos disponibles en pacientes con baja respuesta ovárica.

Con todo ello, se **impulsará el sector de la reproducción asistida en Euskadi**.

2.3 Encaje de los objetivos del proyecto con los principios básicos de HAZITEK, cuyas líneas y parámetros fundamentales se recogen en la norma que desarrolla el programa.

El objetivo último del programa HAZITEK es el fortalecimiento de la industria vasca a través de la I+D empresarial, contribuyendo de manera decisiva a la competitividad global del tejido productivo vasco y generando resultados con potencial de impacto económico significativo, a través de un apoyo focalizado en los ámbitos de especialización estratégicos para el País Vasco, y en las fases de la I+D más próximas al mercado. Todo ello apoyado en unas dinámicas de trabajo y colaboración eficaces y eficientes que permiten obtener resultados tangibles en forma de productos, procesos y servicios y cuya explotación comercial permita crear nuevos recursos capaces de sostener el esfuerzo y realizar nuevas apuestas.

Dentro del programa HAZITEK se integran dos líneas de apoyo diferenciadas. **El presente proyecto encaja en la línea de apoyo a proyectos de I+D de carácter competitivo** que tiene por objeto otorgar ayudas para promover proyectos dirigidos tanto al Desarrollo de Nuevos Productos como al Lanzamiento de Nuevas Empresas de Base Científica y Tecnológica.

Se entiende como **proyectos de I+D de carácter competitivo dirigidos al desarrollo de nuevos productos** todos aquellos proyectos de I+D que consistan en el desarrollo de productos originales y superiores a los ya existentes a fin de dar mejor satisfacción a las demandas del mercado y de la sociedad.

Concretamente, el presente proyecto tiene por objetivo el desarrollo de una novedosa herramienta terapéutica con la que aumentar el número de ovocitos disponibles en pacientes con baja respuesta ovárica tras un procedimiento de estimulación ovárica controlada. Actualmente, la estrategia que generalmente se sigue en este tipo de pacientes es la realización de varios ciclos seguidos de estimulación ovárica hasta conseguir un número de ovocitos adecuados para poder seguir el tratamiento, lo que no siempre se consigue y además conlleva un mayor gasto, desplazamientos a la clínica y molestias para la paciente. Por tanto, la nueva herramienta que se espera obtener en el presente proyecto **será original y superior a lo ya existente en el sector de la reproducción asistida y permitirá ofrecer una novedosa solución para pacientes con baja respuesta ovárica, enmarcándose por tanto en los principios básicos de HAZITEK. Es decir, el servicio que se ofrecerá con la nueva herramienta que se va a desarrollar en el presente proyecto responde a una necesidad de mercado, es original porque no hay nada similar que se esté ofreciendo actualmente en reproducción y es superior a lo existente ya que ayudará a minimizar los ciclos repetidos de estimulación.**

2.4 Aprovechamiento de resultados y/o integración con Proyectos de Investigación básica orientada a las Áreas de Actuación Estratégica realizados por la RVCTI (finalizados o en curso).

El proyecto está orientado hacia la Medicina Personalizada. En este sentido, Ginegorama persigue el desarrollo de una nueva herramienta terapéutica para el tratamiento de mujeres con baja respuesta ovárica endógenos para su implantación en la práctica clínica habitual de este tipo de pacientes durante la obtención de ovocitos. De esta forma, los casos de pacientes diagnosticadas con baja respuesta ovárica se podrán mediante esta novedosa herramienta basada en la activación de folículos primordiales mediante la acción de factores de crecimiento endógenos.

2.5 Concordancia con las necesidades y oportunidades identificadas por los sectores y las agrupaciones clusters del País Vasco

En el RIS3 de Euskadi se refleja la existencia de sectores empresariales generadores de empleo, valor añadido y riqueza, donde un buen desarrollo y orientación de las KET (TECNOLOGÍAS FACILITADORAS) pueden aportar soluciones avanzadas y competitividad.

El presente proyecto se enmarca en uno de los sectores empresariales estratégicos, el **sector salud o actividades sanitarias**. El sector sanitario está especializado desde el punto de vista del sistema de prestación sanitaria y puede suponer un poderoso tractor de múltiples desarrollos, relacionados con la biomedicina, la salud o el equipamiento. **Desde un punto de vista empresarial, el clúster de biociencias es un sector emergente y en desarrollo, en el marco de la apuesta BioBasque de diversificación promovida desde el Gobierno Vasco.**

Además, cabe mencionar que la culminación exitosa del presente proyecto cuya aplicación se centra en los tratamientos de reproducción asistida tendría un importante impacto en el sistema sanitario del País Vasco, ya que podría beneficiarse de los conocimientos generados y de la nueva herramienta desarrollada en el proyecto.

2.6 Componente de innovación y reto tecnológico afrontados por el proyecto (aportación científico-técnica con respecto al estado del arte actual).

La innovación del presente proyecto es **investigar la viabilidad del uso de factores de crecimiento para aumentar el número de ovocitos disponibles y su calidad en mujeres con baja respuesta ovárica.** Los conocimientos derivados del proyecto supondrán una importante aportación científico-técnica con respecto al estado del arte actual, ya que, hasta el momento, a pesar de que en otros campos

de la medicina se ha demostrado el efecto beneficioso de los factores de crecimiento, en el caso de los tratamientos de reproducción, ningún estudio ha podido concluir si su uso para pacientes con baja respuesta ovárico es beneficioso**.** De este modo se pretende aumentar el número de ovocitos disponibles de la paciente tras los ciclos de estimulación ovárica controlada.

El reto consiste en establecer y conocer el efecto que puede causar el uso de diferentes concentraciones y dosis de factores de crecimiento endógenos introducidos en cada uno de los ovarios de la paciente con baja respuesta con el fin de determinar si con este tratamiento se aumenta el número de ovocitos disponibles tras un ciclo de estimulación ovárica controlada, efecto que no se ha verificado hasta la fecha. En base al estudio de los resultados obtenidos con el tratamiento se establecerá un nuevo protocolo de actuación que será ofrecido a las pacientes como una **nueva herramienta terapéutica que supondrá un gran avance frente a los actuales tratamientos para pacientes con baja respuesta ovárica.**

2.7 Integración del proyecto con el HORIZON 2020 (proyectos, redes y/o plataformas tecnológicas).

El proyecto se encuadra dentro de uno de los Retos sociales fundamentales del H2020, como es el de Salud, y concretamente dentro de las prioridades establecidas dentro del marco temporal 2014-2020. Los resultados del proyecto ayudarán a alcanzar los objetivos europeos establecidos tanto en el tratamiento y gestión de las enfermedades ya que con la nueva herramienta que se pretende desarrollar se espera aumentar el número de ovocitos obtenidos tras la estimulación ovárica controlada en pacientes con baja respuesta ovárica, lo que permitirá un tratamiento más personalizado y específico en este tipo de pacientes.

Los resultados de investigación que se obtengan en este proyecto permitirán a la empresa desarrollar actividades de gran impacto dentro de propuestas específicas del H2020 en su reto Social Salud que amplíen el alcance de la investigación y de su aplicación en pacientes.

El proyecto se encuadra dentro de uno de los Retos sociales fundamentales del H2020, como es el de Salud, y concretamente dentro de las prioridades establecidas en el nuevo programa de trabajo que priorizará la estrategia de I+D+IT del 2018 al 2020 en el área de Salud, Cambio demográfico y Bienestar. El desarrollo de esta nueva herramienta terapéutica con plasma rico en plaquetas procedente de la paciente para el tratamiento de la baja respuesta ovárica ayudará a alcanzar las prioridades Europeas futuras, concretamente la establecida en la Prioridad 1 del Scoping paper de "*Better health care,*

economic growth and sustainable health system", y en su objetivo "*Sustainable and evidence-based health and care systems*".

Dentro de esta prioridad, se enfoca este proyecto, ya que una correcta monitorización de todos los aspectos claves intervinientes en las diferentes fases de los procesos de reproducción asistida, se alinea con el objetivo prioritario 1 para un mejor cuidado de la salud al contribuir al desarrollo de nuevos modelos para intervenciones y sistemas sanitarios efectivos, accesibles y sostenibles (importantes en el contexto del desarrollo de la medicina personalizada, y la promoción de la salud).

El hecho de poder proporcionar mejores tratamientos para el desarrollo de sistemas de salud más sostenibles, coordinado y que den como resultado un mayor acceso a una atención de calidad para todos y una mejor promoción de la salud se identifica con la filosofía del proyecto que se presenta.

3. ANALISIS DEL ESTADO DEL ARTE.

3.1 Descripción detallada del Estado del Arte:

- Estado del Arte en la materia que trata el proyecto (Estado del Arte del conocimiento y grado de aplicación de la tecnología).

3.2. Descripción detallada de la propuesta de nuevo conocimiento:

- Las propuestas de generación de nuevo conocimiento (qué se propone como nuevo conocimiento y sus desarrollos tecnológicos propios asociados) y las propuestas de nuevos desarrollos tecnológicos (qué se propone como desarrollos tecnológicos fruto de la adquisición de know-how/tecnologías exteriores ya existentes), que el proyecto va a desarrollar a partir de dicho Estado del Arte.

3.3. Descripción detallada de la oportunidad del proyecto:

- La oportunidad (por qué y para qué se hace), desde la perspectiva científico-tecnológica, de la inversión en generación de nuevo conocimiento/desarrollos en las áreas definidas en la Propuesta.

3.1 Descripción detallada del Estado del Arte:

- **Estado del Arte en la materia que trata el proyecto (Estado del Arte del conocimiento y grado de aplicación de la tecnología).**

Los procedimientos de medicina reproductiva se aplican con frecuencia creciente en mujeres y parejas no afectas de una esterilidad absoluta. La edad media del primer embarazo en España se sitúa en los 33 años y a los 35 años de edad un 70% de mujeres no han tenido hijos (1). Como consecuencia de ello el porcentaje de mujeres que deben recurrir a procedimientos de reproducción asistida es creciente. De hecho, España es, tras Japón y Estados Unidos (2), el tercer país en número de ciclos de reproducción asistida registrados en el mundo. Ello conlleva un gasto económico tanto en términos individuales como sociales que supone un porcentaje no menor del PIB en países desarrollados (3). Nos encaminamos, pues, a un creciente e imparable incremento en procedimientos debidos a la tendencia social al retraso en la maternidad (4, 5).

El ovario humano es responsable tanto de la liberación de ovocitos maduros para la fecundación como de la producción y liberación de diferentes hormonas, fundamentalmente esteroideas, y factores de crecimiento y citoquinas que están involucradas en el proceso de folículogénesis y oogénesis (6). La capacidad reproductiva de una mujer depende de dos factores: del número de folículos (y por ende ovocitos) a lo largo de su vida reproductiva y de la calidad de los mismos. El número de folículos está genéticamente predeterminado antes del nacimiento tras el proceso de fecundación y se conoce como reserva ovárica. En condiciones normales un feto femenino cuenta con 4-6 millones de folículos durante su vida fetal (20 semanas de embarazo materno), nace con aproximadamente un millón, y comienza las

menstruaciones (menarquia) con 300.000. Sólo unos cientos de estos folículos completarán todo su desarrollo hasta el estadio de folículo ovulatorio en condiciones normales mientras que el resto se volverán atrésicos (7). Cuando el número de folículos residuales decrece por debajo de un dintel (situado próximo a los 1000 folículos) la activación y desarrollo folicular se interrumpe conduciendo a un proceso de anovulación y amenorrea (8). Por tanto, el fallo ovárico es una consecuencia de una disminución de la capacidad de reserva ovárica. Hablamos de menopausia, proceso de fallo ovárico primario en el que cesan las menstruaciones como consecuencia del agotamiento de la reserva folicular ovárica, proceso que ocurre a una edad media de 51 años (con un rango de 48-54 años). Hablamos de menopausia temprana cuando ocurre entre los 40 y 44 años de edad y de menopausia precoz cuando el agotamiento folicular tiene lugar por debajo de los 40 años. La menopausia etaria es la que tiene lugar a partir de los 55 años de edad (7,9,10).

El diagnóstico de la menopausia es fundamentalmente clínico (amenorrea secundaria tras fallo ovárico primario). La determinación de niveles elevados de gonadotropinas (FSH superior a 40 UI/l), bajos de estradiol (E2 por debajo de 30 pg/ml) confirma el fallo ovárico. Actualmente, la determinación de la hormona antimulleriana (AMH) es considerado como el mejor marcador de depleción folicular (11).

El fallo ovárico prematuro (FOP) es definido como el cese de la función ovárica normal por depleción folicular, caracterizado por amenorrea hipergonadotropa en una mujer por debajo de los 40 años de edad (12). El término fue inicialmente propuesto por Welt (13) quien diferenció al FOP oculto (niveles normales de gonadotropinas, reglas regulares y fertilidad reducida), el FOP bioquímico (niveles elevados de gonadotropinas, reglas regulares y fertilidad reducida) y el FOP manifiesto (niveles elevados de gonadotropinas, reglas irregulares o ausentes y fertilidad reducida). Aunque el término de FOP sugiere un fallo ovárico irreversible, lo cierto es que entre un 5 y un 10% de estas mujeres pueden concebir naturalmente por lo que se ha propuesto el término insuficiencia ovárica prematura (IOP) (14,15).

La etiología del FOP es desconocida en la mayor parte de casos. En ciertas ocasiones, causas genéticas, autoinmunes e iatrogénicas son las responsables del cuadro. La base genética de ciertos cuadros de FOP está sustentada por estudios realizados en familias afectas en varias generaciones (7,16). Algunas enfermedades autoinmunes conducen también a una depleción folicular causante de un FOP. Finalmente, ciertos tratamientos (fundamentalmente antineoplásicos) provocan un agotamiento de la reserva folicular (12, 17, 18).

Prevención y tratamiento del FOP

Tanto la prevención como el tratamiento de un FOP son extremadamente dificultosos. A pesar de la existencia de un número (reducido) de folículos, lo cierto es que su desarrollo tanto espontaneo como estimulado son muy limitados (10).

Hasta ahora, la única opción en los casos de FOP es la preservación de corteza ovárica u ovocitos (tras un proceso de estimulación) previos al tratamiento quimioterápico que pudiere ocasionar una depleción folicular o la realización de un tratamiento de fecundación in vitro con ovocitos de donante (19). En cualquier caso, la posibilidad de embarazo en pacientes con FOP es limitada. Aunque se han propuesto diferentes agentes inductores de la ovulación las tasas de éxito han sido muy pobres (8).

Diferentes soluciones alternativas han sido propuestas incluyendo la terapia mediante células madres (stem cells) en lo que podríamos denominar terapia regenerativa (18, 20, 21).

El desarrollo folicular en los ovarios se produce a diferentes niveles. En un primer nivel, folículos primarios y folículos primordiales pequeños se desarrollan de forma ininterrumpida y sin necesidad de estímulo gonadotropo hasta el estadio de folículos primordiales grandes. Este proceso tiene lugar ya desde la vida fetal y explica la gran depleción que ocurre incluso antes de la menarquia. A partir de este nivel y bajo la influencia del estímulo gonadotropo los folículos primordiales pueden desarrollarse hasta el estadio de folículo preovulatorio o pueden volverse atrésicos. Diferentes factores incluyendo el VEGF (factor de crecimiento vascular endotelial), BMP7, factor de crecimiento de fibroblastos, factor inhibidor de leucemia, factor de crecimiento de queratonocitos han sido implicados en la activación de los folículos primordiales quiescentes (22) aunque se desconoce qué tipo de señales intra e intercelulares son los responsables de que sólo ciertos folículos culminen su desarrollo (23).

Células madre

Las denominadas “stem cells” (células madre) son células indiferenciadas que han sido identificadas en diferentes estadios del desarrollo humano, incluyendo fase embrionaria, fetal y adulta. Las células madres son células no diferenciadas capaces de dividirse y renovarse de forma indefinida (24).

De hecho, se han utilizado células madre de origen embriológico (ESCs), mesenquimal (MSCs) de tejidos extraembrionarios, espermatogonias (SSCs) y de origen ovárico (OSCs) en diferentes terapias para la infertilidad (25).

Las células madre mesenquimales (MSCs) han sido aisladas de la médula ósea (18), placenta y cordón umbilical (10, 26) e incluso ovario (27). Se trata de células pluripotentes y poco inmunógenas con las consiguientes ventajas que ello conlleva (28).

Inicialmente, y debido a su pluripotencialidad y baja inmunogenicidad, las cálulas madre procedentes de médula ósea (BMSCs) fueron utilizadas en casos de FOP inducido por cisplatino en ratas. Estudios ulteriores demostraron una reactivación de la función folicular en modelo murino de FOP causado por quimioterapia. Otros autores sugieren una inhibición de la apoptosis de células de la granulosa provocada por un agente quimioterápico. Tras estos estudios en modelos animales, se utilizaron terapias con BMSCs mesenquimales autólogas en casos de FOP idiopático con una recuperación de la menstruación en dos casos (20% y un embarazo (10%) (18).

La utilización de células madre mesenquimales procedentes de placenta (hPMSCs) debería dar resultados similares debido a su fácil aislamiento y baja inmunogenicidad pero os resultados preliminares no fueron tan satisfactorios (29).

Las células madre de línea germinal (GSCs) serían aquellas capaces de producir gametos y constituyen en este sentido una línea de investigación prometedora. El concepto surgió a raíz de unos trabajos sobre espermatogénesis de Regaud et al. (30,31). Los autores postulan que una población de células madres capaces de auto-renovarse han de estar presentes en el testículo cara a la producción ininterrumpida de espermatozoides. Actualmente sabemos que las espermatogonias, capaces de dividirse mitóticamente y diferenciarse ulteriormente hacia espermátidas, constituyen las GSCs testiculares (32).

Sin embargo, cuando nos referimos a los ovarios los datos no son tan claros. Se han identificado células madre germinales femeninas (fGSCs) capaces de mantener la oogénesis a lo largo de toda la vida reproductiva en especies no mamíferas como el ovario de Drosophila (33) pero la presencia de tales células madre en ovarios de mamíferos es causa de un profundo debate (34). Lo cierto es que, tradicionalmente, existe un principio-dogma por el que se afirma que el número de ovocitos (folículos) en mamíferos es finito y está establecido antes del nacimiento. Esto es, una mujer tiene una dotación de folículos predeterminada que irá agotando a lo largo de su vida, pero, en ningún caso, existe una neo-oogénesis. Tal hipótesis fue inicialmente sugerida en el siglo XIX por el embriólogo Waldeyer (35). Sin embargo, estudios recientes parecen poner en duda tal hipótesis y sugieren la posibilidad de una neo-oogénesis en la mujer adulta (21,27). Ello conlleva la posibilidad de la existencia de células madre germinales en ovarios adultos, aunque existe ciertamente una controversia en este campo (34, 36).

Si se confirmara la existencia de células madre germinales (GSCs) en ovarios adultos y se encontrara la manera de activarlas, se activaría una posibilidad terapéutica para el FOP, tanto desde un punto de vista hormonal como reproductivo, ciertamente novedosa (34). De hecho, el tratamiento del FOP en ratones ya ha sido reportado. Debe existir una comunicación bidireccional entre ovocito y las células somáticas que lo rodean y, en cualquier caso, deben analizarse los niveles de impronta genómica que acontecerían en los ovocitos resultantes de una activación durante la vida adulta (37).

En esta línea de trabajo, investigadores de la Universidad de Harvard inyectaron factores de crecimiento en ovarios murinos y comprobaron el desarrollo de ovocitos maduros a partir de las células madre embrionarias. De esta forma, se demostró la posibilidad de utilizar un activador (factor de crecimiento) para reiniciar la división y diferenciación de tales células madre ováricas (GSCs) (36, 38).

En esta línea de trabajo, estudios en investigación básica mediante activadores con PI3K consiguieron estimular folículos primordiales murinos y humanos mediante la activación de la vía PI3K-AKT-FOXO3 (39). Además, la fragmentación física de la corteza ovárica (tal como se realiza por ejemplo para la preservación de la misma previa a un tratamiento quimioterápico o radioterápico) ha sido capaz de inducir un crecimiento folicular secundario tanto en ratones como en humanos (8,40).

Plasma rico en plaquetas

La utilización de plasma autólogo rico en plaquetas (PRP) constituye una terapia relativamente novedosa ya utilizada en diferentes campos de la biomedicina como la traumatología, dermatología, cirugía plástica y la odontología entre otros. El PRP ha demostrado una capacidad de aceleración en diferentes procesos de curación y recuperación de tejidos (41,42). La eficacia de este producto se basa en su riqueza en factores de crecimiento y proteínas implicados en los procesos de regeneración tisular (42). Desafortunadamente y aunque este tipo de terapias se ha desarrollado durante los últimos 15 años, existe una falta de ensayos randomizados y controlados que avalen con un nivel máximo de evidencia su eficacia (43). En ausencia de tal nivel de evidencia, el debate se ha centrado en las diferentes concentraciones de células, plaquetas, factores de crecimiento y proteínas adecuados en cada caso (44).

PRP en el FOP

La terapia mediante PRP en mujeres con FOP, denominada por algunos como “rejuvenecimiento ovárico” ya ha sido reportada (45) inicialmente en la reunión anual de la ESHRE de 2016 (Helsinki). Los autores inyectaron PRP en 8 mujeres con FOP refiriendo un “rejuvenecimiento” tras 13 meses del tratamiento

consiguiendo embriones para su criopreservación. Sin embargo, tal estudio, **no se realizó con un grupo control por lo que no es descartable que el FOP no fuera total** (38).

Mecanismo de acción del PRP

El mecanismo de acción del PRP no está totalmente definido. Las plaquetas son ricas en proteínas bioactivas con un papel activo en la hemostasia y el reclutamiento de leucocitos (46). La inflamación es una parte fundamental del proceso de reparación tisular. En una primera fase, las plaquetas acceden a la zona del daño tisular liberando su contenido interno incluidos diferentes factores de crecimiento. La alta concentración de factores de crecimiento en el PRP aceleraría el proceso de reparación del daño tisular. Las plaquetas proporcionan proteínas para la hemostasia primaria y secundaria incluyendo fibrinógeno y el factor Willebrand. Las plaquetas activadas las plaquetas secretan una variedad de citoquinas incluyendo CXCL4 y CXCL7 que atraerán los leucocitos a la herida. Los factores de crecimiento liberados por las plaquetas promueven la regeneración tisular siguiendo las siguientes etapas: resolución de la necrosis tisular, quimiotaxis, regeneración, proliferación y migración celular, síntesis de la matriz extracelular, remodelamiento, angiogénesis y re-epitelización. (38,43).

Contraindicaciones y riesgos

El tratamiento mediante PRP se considera seguro en pacientes adecuadamente seleccionadas. Una analítica previa debe evaluar hematológicamente a la paciente y descartar trastornos (congénitos o adquiridos) de la coagulación y de la función plaquetaria. Asimismo, pacientes con tratamientos anticoagulantes o fibrinolíticos no deben ser incluidas en el protocolo. Cualquier proceso infeccioso supone una contraindicación para el procedimiento (42).

Es por ello que se plantea el presente proyecto de investigación y desarrollo que pretende establecer una solución para pacientes con baja respuesta ovárica, buscando superar una limitación al conocimiento existente y ofreciendo mayores garantías de éxito en los procesos de reproducción asistida. Con ello**, el presente proyecto presenta novedades respecto al estado del arte y culminará con el desarrollo de una nueva herramienta terapéutica con la que aumentar** el número de ovocitos disponibles **en pacientes con baja respuesta ovárica** tras un procedimiento de estimulación ovárica controlada mediante la activación de folículos primordiales quiescentes por acción de factores de crecimiento endógenos. Lo que permitirá recuperar más ovocitos y de mayor calidad reducir el número de estimulaciones en este tipo de pacientes.

BIBLIOGRAFIA:

1. **INE:** https://www.ine.es/dyngs/INEbase/es/categoria.htm?c=Estadistica_P&cid=1254735573002.
2. **Barrenetxea G**, Agirregoikoa JA, Jiménez MR, de Larruzea AL, Ganzabal T, Carbonero K. Ovarian response and pregnancy outcome in poor-responder women: a randomized controlled trial on the effect of luteinizing hormone supplementation on in vitro fertilization cycles. Fertil Steril. 2008; 89(3):546-53.
3. **Barrenetxea G**, García-Velasco JA, Aragón B, Osset J, Brosa M, López-Martínez N, Coroleu B. Comparative economic study of the use of corifollitropin alfa and daily rFSH for controlled ovarian stimulation in older patients: Cost-minimization analysis based on the PURSUE study. Reprod Biomed Soc Online, 2018; 21;5:46-59. doi: 10.1016/j.rbms.2018.01.001.
4. **Gleicher N**, Kushnir VA, Weghofer A, Barad DH. The "graying" of infertility services: an impending revolution nobody is ready for. Reprod Biol Endocrinol, 2014;12:63.
5. **Bukovsky A**. Novel methods of treating ovarian infertility in older and POF women, testicular infertility, and other human functional diseases. Reprod Biol Endocrinol, 2015; 13:10-31. DOI 10.1186/s12958-015-0001-8.
6. **Gheorghisan-Galateanu A**, Hinescu ME, Enciu AM. Ovarian adult stem cells: hope or pitfall? J Ov Res, 2014; 7: 71-80.
7. **Barasoain M**, Barrenetxea G, Huerta I, Télez M, Criado B, Arrieta I. Study of the Genetic Etiology of Primary Ovarian Insufficiency: FMR1 Gene (Rev). Genes 2016, 7, 123; doi:10.3390/genes7120123.
8. **Kawamura K**, Kawamura N, Hsueh AJW. Activation of dormant follicles: a new treatment for premature ovarian failure? Curr Opin Obstet Gynecol. 2016 June ; 28: 217–222. doi:10.1097/GCO.0000000000000268.
9. **McKinlay SM**, Brambilla DJ, Posner JG. The normal menopause transition. Maturitas 1992, 14, 103–115.
10. **Zhang H**, Luo Q, Lu X, Yin N, Zhou D, Zhang L, et al. Effects of hPMSCs on granulosa cell apoptosis and AMH expression and their role in the restoration of ovary function in premature ovarian failure mice. Stem Cell Res & Ther, 2018: 9: 20-32.
11. **Álvarez-García E**.; Labandeira, A. Estudio bioquímico de la menopausia y la perimenopausia. Ed. Cont. Lab. Clín. (SEQC) 2010, 13, 76–93.
12. **Yin N**, Zhao W, Luo Q, Yuan W, Luan X, Zhang H. Restoring Ovarian Function With Human Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells in Autoimmune-Induced Premature Ovarian Failure Mice Mediated by Treg Cells and Associated Cytokines. Reprod Sci, 2018; 25(7): 1073-1082. DOI: 10.1177/1933719117732156.
13. **Welt CK**. Primary ovarian insufficiency: A more accurate term for premature ovarian failure. Clin. Endocrinol. 2008; 68: 499–509.
14. **De Vos M**, Devroey P, Fauser BCJM. Primary ovarian insufficiency. Lancet 2010; 376: 911–921.
15. **Soave I,** Lo Monte G, Marci R. POI: Premature ovarian insufficiency/pregnancy or infertility? N. Am. J. Med. Sci, 2013; 5:71.
16. **Barasoain M**, Barrenetxea G, Huerta I, Télez M, Carrillo A, Pérez C, Criado b, Arrieta I. Study of FMR1 gene association with ovarian dysfunction in a sample from the Basque Country. Gene, 2013; 521: 145-9.
17. **Murray A**., Ennis, S., MacSwiney, F., Webb, J., Morton, N.E., 2000. Reproductive and menstrual history of females with fragile X expansions. Eur. J. Hum. Genet. 8 (4), 247–252.
18. **He Y**, Chen D, Yang L, Hou Q, Ma H, Xu X. The therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells in premature ovarian failure. Stem Cell Res Ther, 2018; 9:263
19. **Donnez J**, Dolmans MM. Fertility preservation in women. Nat Rev Endocrinol. 2013; 9:735–749.
20. **Hewlett M**, Mahalingaiah S. Update on primary ovarian insufficiency, Curr. Opin. Endocrinol Diabetes Obes 2015; 22: 483.
21. **Sheikhansar G**, Aghebati-Malek L, Nouri M, Jadidi-Niaragh F, Yousef M. Current approaches for the treatment of premature ovarian failure with stem cell therapy. Biomed Pharmacol, 2018; 102: 254-62.
22. **Hsueh AJ**, Kawamura K, Cheng Y, et al. Intraovarian control of early folliculogenesis. Endocr Rev. 2015; 36:1–24.
23. **Adhikari D**, Liu K. Molecular mechanisms underlying the activation of mammalian primordial follicles. Endocr Rev. 2009; 30:438–464.
24. **Kolios G**, Moodley Y. Introduction to stem cells and regenerative medicine. Respiration, 2013; 85: 3-10.
25. **Volarevic V**, Bojic S, Nurkovic J, Volarevic A, Ljujic B, Arsenijevic N, Lako M, Stojkovic M. Stem cells

as new agents for the treatment of infertility: current and future perspectives and challenges. BioMed Res, 2014;.

26. **Augello A**, Kurth TB, De Bari C. Mesenchymal stem cells: a perspective from in vitro cultures to in vivo migration and niches. Eur. Cell Mater, 2010: 20 (121) e33.
27. **Dunlop CE**, Telfer EE, Anderson RA. Ovarian germline stem cells. Stem Cell Res Ther, 2014: 5: 98-105.
28. **Wang S**, Yu L, Sun M, Mu S, Wang C, Wang D, Yao Y. The therapeutic potential of umbilical cord mesenchymal stem cells in mice premature ovarian failure. BioMed Res, 2013; Int. 2013 (2013).
29. **Chen CP**. Placental villous mesenchymal cells trigger trophoblast invasion. Cell Adh Migr. 2014;8(2):94–7.
30. **Regaud C**. Etudes sur la structure des tubes seminiferes et sur la spermatogenese chez les mammiferes [Studies on the structure of seminiferous tubules and on spermatogenesis in mammals]. Part 1. Archives d'Anatomie microscopiques et de Morphologie experimentale, 1901, 4:101–156.
31. **Regaud C**. Etudes sur la structure des tubes seminiferes et sur la spermatogenese chez les mammiferes [Studies on the structure of seminiferous tubules and on spermatogenesis in mammals] . Part 2. Archives d'Anatomie microscopiques et de Morphologie experimentale, 1901, 4:231–280.
32. **Brinster RL**. Male germline stem cells: from mice to men. Science 2007; 316:404–405.
33. **Eliazer S**, Buszczak M. Finding a niche: studies from the Drosophila ovary. Stem Cell Res Ther, 2011: 2:45.
34. **Hanna CB**, Hennebold JD: Ovarian germline stem cells: an unlimited source of oocytes? Fertil Steril, 2014; 101: 20–30.
35. **Waldeyer W**. Eierstock und Ei [Ovary and egg]. Leipzig: Engelmann; 1870.
36. **White YA**, Woods DC, Takai Y, Ishihara O, Seki H, Tilly JL: Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. Nat Med 2012, 18:413–421.
37. **Anckaert E**, De Rycke M, Smitz J: Culture of oocytes and risk of imprinting defects. Hum Reprod Update, 2013; 19:52–66.
38. **Dawood AS**, Salem HA. Current clinical applications of platelet-rich plasma in various gynecological disorders: An appraisal of theory and practice. Clin Exp Reprod Med 2018; 45(2): 67-74. doi.org/10.5653/cerm.2018.45.2.67
39. **Adhikari D**, Gorre N, Risal S, et al. The safe use of a PTEN inhibitor for the activation of dormant mouse primordial follicles and generation of fertilizable eggs. PLoS One. 2012; 7:e39034.
40. **Kawamura K**, Cheng Y, Suzuki N, et al. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013; 110:17474–17479.
41. **Dhillon RS**, Schwarz EM, Maloney MD. Platelet-rich plasma therapy: future or trend? Arthritis Res Ther, 2012;14:219.
42. **Jain NK**, Gulati M. Platelet-rich plasma: a healing virtuoso. Blood Res, 2016; 51: 3-5.
43. **King W**, Toler K, Woodell-May J. Role of White Blood Cells in Blood- and Bone Marrow-Based Autologous Therapies. BioMed Res Int, 2018; Article ID 6510842. doi.org/10.1155/2018/6510842
44. **Everts PAM**, Mahoney CB, Hoffmann JJML, et al. Platelet-rich plasma preparation using three devices: implications for platelet activation and platelet growth factor release. Growth Factors, 2006; 24 (3): 165–171.
45. **Pantos K**, Nitsos N, Kokkali G, Vaxevanoglou T, Markomichali C, Pantou A, et al. Ovarian rejuvenation and folliculogenesis reacti- vation in peri-menopausal women after autologous platelet-rich plasma treatment. Proceedings of the 32nd Annual Meeting of ESHRE; 2016 July 3-6; Helsinki, Finland.
46. **Maynard DM**. Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry. J Thromb Haemost, 2007; 5 (9): 1945–55.
47. **Barrenetxea G**. Iatrogenic prion diseases in humans: an update. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2012; 165(2):165-9. doi: 10.1016/j.ejogrb.2012.08.014.
48. **Ferraretti AP**, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L; ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. Hum Reprod, 2011;26(7):1616-24. doi: 10.1093/humrep/der092.
49. **Alviggi C**, Andersen CY, Buehler K, Conforti A, De Placido G, Esteves SC, Fischer R, Galliano D, Polyzos NP, Sunkara SK, Ubaldi FM, Humaidan P. Poseidon Group (Patient-Oriented Strategies Encompassing IndividualizeD Oocyte Number). A new more detailed stratification of low responders to ovarian stimulation: from a poor ovarian response to a low prognosis concept. Fertil Steril, 2016;105(6):1452-3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.005.
50. **Bosch E**, Labarta E, Kolibianakis E, Rosen M, Meldrum D. Regimen of ovarian stimulation affects

oocyte and therefore embryo quality. Fertil Steril. 2016; 105(3):560-570. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.01.022.

51. **Cobo A**, Garrido N, Crespo J, José R, Pellicer A. Accumulation of oocytes: a new strategy for managing low-responder patients. Reprod Biomed Online, 2012; 24(4):424-32. doi: 10.1016/j.rbmo.2011.12.012.

3.2. Descripción detallada de la propuesta de nuevo conocimiento:

- **Las propuestas de generación de nuevo conocimiento (qué se propone como nuevo conocimiento y sus desarrollos tecnológicos propios asociados) y las propuestas de nuevos desarrollos tecnológicos (qué se propone como desarrollos tecnológicos fruto de la adquisición de know-how/tecnologías exteriores ya existentes), que el proyecto va a desarrollar a partir de dicho Estado del Arte.**

En base al estado de arte actual las propuestas de nuevos conocimientos son:

- Incremento en el conocimiento existente sobre el efecto real que tienen los factores de crecimiento sobre la estimulación de folículos primordiales. Estudios previos en ratón y en un limitado número de mujeres (tan solo en 8 mujeres) han evidenciado el posible efecto beneficioso que podrían tener, pero en ninguna investigación se ha podido determinar si realmente tienen ese efecto para esta novedosa aplicación.
- Determinar la dosis y concentración a la cual se deben inyectar los factores de crecimiento endógenos, aspecto que nunca se ha evaluado hasta el momento para la aplicación en baja respuesta ovárica.
- Establecer el efecto beneficioso que tienen estos factores de crecimiento sobre diferentes variables tanto a nivel de ovocito como de embrión, en estas variables se incluye el estudio sobre si afecta al primer o segundo ciclo de estimulación tras el tratamiento con PRP, el efecto sobre ovocitos y embriones vitrificados y frescos, la ploidía de embriones etc.
- Determinar si existen diferencias significativas entre el número de ovocitos recuperados en el grupo de estudio y grupo control y entre la calidad de los ovocitos y embriones entre grupo de estudio y grupo control.
- Desarrollar una nueva herramienta terapéutica basada en los resultados obtenidos en los diferentes subgrupos y condiciones con la que aumentar el número de ovocitos obtenidos tras la estimulación en pacientes con baja respuesta ovárica.

Cabe mencionar que se espera que los conocimientos derivados del proyecto tengan un gran impacto en el sector, pues actualmente no existe una herramienta terapéutica similar para pacientes con baja

respuesta ovárica lo que supondrá aumentar las tasas de éxito de este tipo de pacientes evitando que recurran a la utilización de ovocitos de donante.

Las propuestas de desarrollos tecnológicos son:

- Establecimiento del nuevo protocolo para el tratamiento de pacientes con baja respuesta ovárica en base a los resultados obtenidos en el proyecto.
- Desarrollo de la nueva herramienta terapéutica para aumentar el número de ovocitos disponibles en pacientes con baja respuesta ovárica, pudiendo ofrecerla como un nuevo servicio en la clínica Reproducción Bilbao de Ginegorama.

3.3. Descripción detallada de la oportunidad del proyecto:

- **La oportunidad (por qué y para qué se hace), desde la perspectiva científico-tecnológica, de la inversión en generación de nuevo conocimiento/desarrollos en las áreas definidas en la Propuesta.**

Actualmente, no existe en el mercado ningún tratamiento con el que aumentar la calidad y cantidad de los ovocitos disponibles tras un procedimiento de estimulación ovárica destinado a pacientes con baja respuesta ovárica. Esto supone un grave problema para este tipo de pacientes ya que las únicas formas de tratar esta patología se basan en:

- Uso de terapias adyuvantes con las que mejorar la sensibilidad ovárica
- Estimulación en fase lútea
- Preparación de folículos antrales con andrógenos (DHEA, testosterona)
- Ciclos de acumulación de ovocitos asociado a Diagnóstico Genético Preimplantacional
- Ciclos de estimulación mínima o ciclos naturales en casos seleccionados

La solución más ampliamente extendida es la de realizar diferentes ciclos de estimulación para acumular ovocitos. A pesar de que con este tipo de soluciones se consigue en determinados casos el éxito del tratamiento de reproducción, hay un gran porcentaje de pacientes en las cuales estas soluciones no son suficientes y su única opción es recurrir a programas de ovodonación. Por tanto, existe una clara necesidad en el mercado de soluciones para contrarrestar este tipo de patología.

Debido a estas limitaciones y a la inexistencia de tratamientos específicos con los que actuar sobre la activación de los folículos primordiales quiescentes, Ginegorama se plantea el presente proyecto de

investigación. El objetivo consiste en el desarrollo de una novedosa herramienta terapéutica con la que aumentar el número de ovocitos disponibles en pacientes con baja respuesta ovárica tras un procedimiento de estimulación ovárica controlada mediante la activación de folículos primordiales quiescentes por acción de factores de crecimiento endógenos.

Esta estrategia, además, viene soportada por el creciente uso en otras áreas de la biomedicina de los factores de crecimiento, los cuales tal y como se ha comentado, cuentan con numerosas propiedades. Además, los resultados conseguidos en la estimulación de folículos primordiales en modelo murino y en un reducido número de pacientes, también apoyan la hipótesis planteada y hacen que pensar que el riesgo tecnológico que se afronta en el presente proyecto es controlado. Hasta la fecha ningún grupo de investigación ha conseguido desarrollar un procedimiento de aplicación en baja respuesta que realmente permita mejorar los resultados, no existen estudios con suficiente tamaño muestral ni con un grupo control que sean concluyentes.

Además de la **necesidad** del proyecto y la **oportunidad** científica y comercial que supone, también es importante **destacar el impacto positivo que tendrá sobre la carga psicológica de las pacientes.** Es decir, con los tratamientos existentes actualmente es común que tras sucesivos ciclos de estimulación (con las molestias físicas, de desplazamiento y gasto económico sobre la paciente) **no se consiga un número adecuado de ovocitos viables a partir del cual proseguir el tratamiento de reproducción**. En estos casos **la única opción existente para continuar con el tratamiento de reproducción son los programas de ovodonación,** los cuales acarrean una gran carga psicológica para la paciente al tener que renunciar a tener hijos relacionados genéticamente. Con ello, si el proyecto culmina con éxito y se consigue desarrollar la nueva herramienta terapéutica para pacientes con baja respuesta ovárica, **se evitaría el estrés de las pacientes con baja respuesta ovárica y los costes de los tratamientos continuados sin éxito.**

En resumen, **el producto resultante "MAXIMOVO" supone incorporar una nueva herramienta en la práctica clínica diaria,** permitiendo **incrementar la competitividad de Ginegorama** frente a sus competidores dentro del sector y posicionarse como pioneros en la implementación de una herramienta terapéutica pionera en el ámbito de la reproducción. Por tanto, para Ginegorama se trata de una **nueva oferta tecnológica** que mejoraría sustancialmente el porcentaje de éxito de las técnicas de reproducción asistida satisfaciendo así las necesidades de pacientes con baja respuesta ovárica.

El resultado del proyecto conseguirá ofrecer mejores tratamientos dentro del campo de la reproducción asistida. A continuación, se incluye el diagrama de trabajo que resume la metodología a

seguir durante el presente proyecto de I+D para alcanzar el objetivo planteado, incluyendo seguidamente una explicación del mismo:

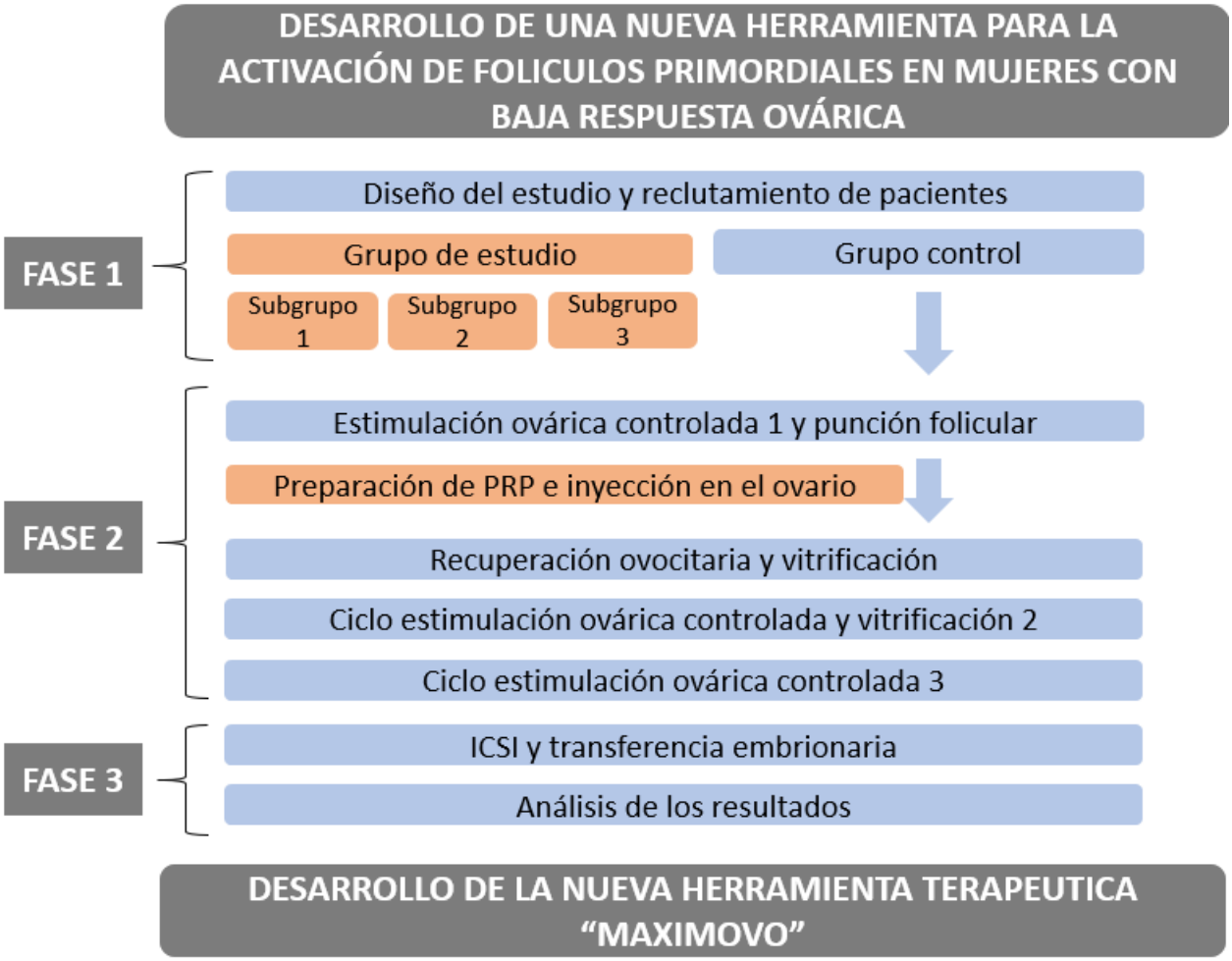


Figura 1. *Diagrama de trabajo.*

En la primera fase del proyecto se llevará a cabo el diseño del estudio, en el cual se definirán las variables de estudio y criterios de inclusión en base a los cuales se llevará a cabo el reclutamiento de pacientes. Las pacientes se dividirán aleatoriamente en dos grupos; un grupo control y un grupo de estudio formado por diferentes subgrupos; en los que se inyectarán diferentes dosis y concentraciones de factores de crecimiento para determinar cuál es la mejor alternativa y desarrollar la nueva herramienta terapéutica.

En la fase 2 se proseguirá con los ciclos de estimulación ovárica controlada, se realizarán tres ciclos de estimulación sucesivos. Durante la punción folicular del primer ciclo en el caso de las pacientes del grupo

de estudio se inyectarán en cada óvulo factores de crecimiento obtenidos de la propia paciente tras lo cual se proseguirá con el resto de ciclos. Los ovocitos obtenidos en los dos primeros ciclos serán evaluados y vitrificados y se utilizarán conjuntamente una vez obtenidos los ovocitos frescos del último ciclo de estimulación.

Por último, en la fase 3 al conjunto de ovocitos obtenidos maduros, tanto frescos como vitrificados se les realizará la ICSI tras la cual los embriones serán evaluados con el Embryoscope y finalmente el que mejores características presente será transferido al útero materno. Una vez finalizada la transferencia embrionaria se realizará el seguimiento de la paciente para evaluar si se quede embaraza y si se produce la implantación. Cabe mencionar que como Ginegorama siempre transfiere un único embrión, se tendrá perfectamente trazado el origen y la evolución del embrión hasta conocer si implanta con éxito. Finalmente, se evaluarán todos los datos recogidos a lo largo del proyecto a partir de los cuales se desarrollará la nueva herramienta terapéutica.

En resumen, cabe destacar que **la ejecución del presente proyecto no sólo consiste en el avance y la obtención de nuevos conocimientos científico-técnicos, sino que además permitirá desarrollar e implantar esta novedosa herramienta terapéutica en la práctica clínica**, alcanzando así mejores resultados en cuanto a los procesos de reproducción asistida.

4. FASES Y TAREAS

4.1. Identificación y descripción de las principales actividades técnicas (tareas y subtareas asociadas) a llevar a cabo en el proyecto.

4.2. Cronograma de las actividades técnicas previstas (Gantt, PERT). Identificación de las entidades participantes en cada una de las actividades (tareas/subtareas). Metodología de ejecución de las tareas y subtareas a desarrollar en las diferentes actividades técnicas previstas indicando su interrelación, camino crítico y holgura de las mismas.

4.3. Identificación y grado de ejecución de los diferentes objetivos técnicos a alcanzar durante los años de ejecución del proyecto. Relación y descripción de entregables anuales a lo largo del proyecto.

4.1. Identificación y descripción de las principales actividades técnicas (tareas y subtareas asociadas) a llevar a cabo en el proyecto.

El objetivo principal del proyecto consiste en el desarrollo de una novedosa herramienta terapéutica con la que aumentar el número de ovocitos disponibles en pacientes con baja respuesta ovárica tras un procedimiento de estimulación ovárica controlada mediante la activación de folículos primordiales quiescentes por acción de factores de crecimiento endógenos, reduciendo así el número de estimulaciones necesarias en este tipo de pacientes. Esta nueva herramienta se basará en un novedoso protocolo que se establecerá a partir de los resultados obtenidos a lo largo de este proyecto.

Para alcanzar el objetivo del proyecto se ha planteado un proyecto estructurado en 3 fases. Una primera fase para el diseño del estudio y selección de pacientes, una segunda fase para llevar a cabo la estimulación ovárica de las pacientes y el correspondiente tratamiento con diferentes concentraciones y dosis de factores de crecimiento endógenos sobre las pacientes incluidas en el grupo de estudio y, por último, en la fase 3 la fecundación de los ovocitos obtenidos y el seguimiento del ciclo, lo que permitirá evaluar las diferentes variables que se determinen y el desarrollo de la nueva herramienta.

4.2. Cronograma de las actividades técnicas previstas (Gantt, PERT). Identificación de las entidades participantes en cada una de las actividades (tareas/subtareas). Metodología de ejecución de las tareas y subtareas a desarrollar en las diferentes actividades técnicas previstas indicando su interrelación, camino crítico y holgura de las mismas.

A continuación, se presenta el cronograma de las actividades técnicas previstas, de la metodología de ejecución de las tareas a desarrollar en las diferentes actividades técnicas previstas, indicando su interrelación:

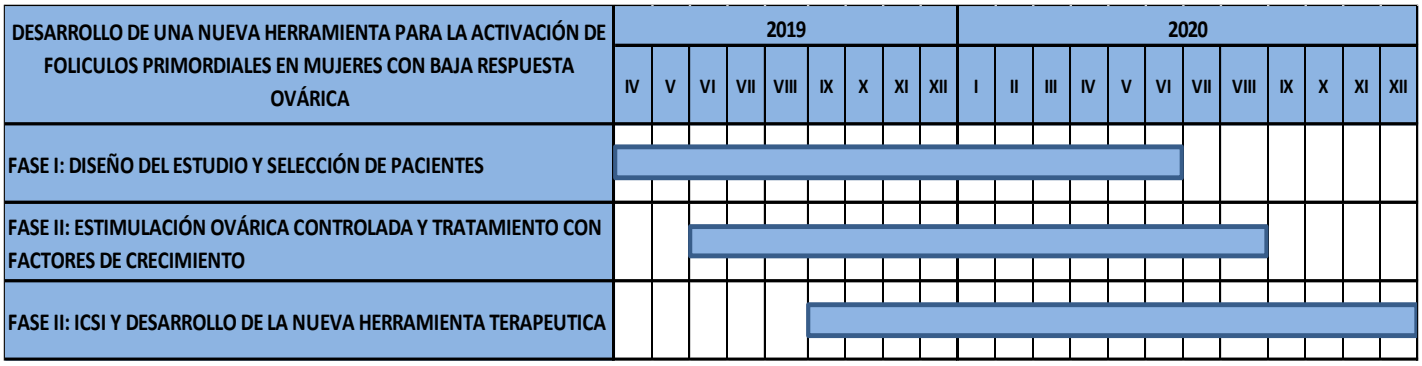


Figura 2. *Cronograma del proyecto.*

<u>FASE 1: Diseño del estudio y reclutamiento de pacientes</u>

La duración de esta fase será aproximadamente de 15 meses, <u>se iniciará a principios de abril de 2019 y tiene previsto terminar en Junio de 2020.</u> En esta fase, se fijarán las bases para la correcta realización del estudio, las variables a controlar que determinen la correcta evolución del proyecto o la necesidad de aplicar medidas preventivas o correctoras.

Inicialmente se realizará una revisión bibliográfica en profundidad para identificar novedades existentes en la literatura que puedan producir incorporación de nuevos parámetros a incluir en el estudio, así como identificar posibles modificaciones que se deban aplicar a los criterios de selección de pacientes. Tras esta revisión en profundidad, se procederá a mantener reuniones entre el equipo investigador para definir todos los parámetros y variables a considerar en el proyecto, de forma que queden perfectamente definidos todos los procedimientos a seguir. Cabe mencionar que se subcontratará a Laboratorios Axpe S.L. como asesores científicos para aprovechar su experiencia en la preparación de factores de crecimiento para otras áreas de la biomedicina. Laboratorios Axpe participará en el diseño del estudio, para plantear correctamente la investigación.

En el diseño del estudio se incluirá la definición de cada uno de los ensayos que se llevará a cabo para poder evaluar las siguientes variables de estudio:

- Evaluación cuantitativa comparativa entre ciclos sucesivos de estimulación.
- Evaluación cuantitativa comparativa entre ciclos sin y con inyección previa de PRP.
- Evaluación cualitativa comparativa entre las diferentes concentración y dosis de PRP de los tratamientos.

- Evaluación (cualitativa) de la tasa de fecundación, desarrollo de blastocistos y ploidía en cada uno de los subgrupos.
- Evaluación (cualitativa) comparativa de tasas de fecundación en función de ovocitos vitrificados vs. Frescos.
- Evaluación (cualitativa) comparativa de tasas de fecundación en función de inyección previa de PRP.
- Evaluación (cualitativa) de desarrollo blastocitario en función de ovocitos vitrificados vs frescos
- Evaluación (cualitativa) comparativa de desarrollo blastocitario en función de inyección previa de PRP.
- Evaluación (cualitativa) de ploidía embrionaria en función de ovocitos vitrificados vs frescos.
- Evaluación (cualitativa) de ploidía embrionaria en función de inyección previa de PRP.

Una vez definido el diseño del estudio se empezará a trabajar en la **selección de pacientes** que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión de la investigación. Estos serán los siguientes:

Criterios de inclusión:

- Mujeres de más de 18 años y menores de 42 que cumplan con los criterios de baja reserva ovárica funcional
- Mujeres sometidas a estimulación ovárica con la finalidad de acumular ovocitos de cara a un procedimiento de reproducción asistida (ciclo ICSI con screening genético preimplantacional, PGT-S).
- Ausencia de patología hematológica o infecciosa
- Ausencia de contraindicaciones médico-quirúrgicas para una punción folicular de un ciclo FIV.
- Ausencia de antecedentes de patología infecciosa intra-abdominal
- Ausencia de endometriosis
- Estar de acuerdo con el cumplimiento de los objetivos del estudio

Criterios de exclusión:

- Antecedentes de patología infecciosa intraabdominal.
- Contraindicación absoluta o relativa para una punción folicular.
- Diagnóstico de endometriosis.

Por tanto, cuando se identifique una paciente con estas características se pasará a informarles sobre el estudio para su posible inclusión. De las posibles pacientes de estudio se analizará su historial médico y para confirmar si finalmente puede incluirse en el proyecto o no. Miembros del cuerpo médico de la clínica se reunirán con las pacientes para informarles sobre la naturaleza del estudio y se solicitará su conformidad de cara a participar en el mismo.

Se espera alcanzar un tamaño muestral de 60 pacientes, muy superior al de estudios previos (con sólo 8 casos), las cuales se dividirán en dos grupos:

- **Grupo de estudio**: formado por unas 30 pacientes las cuales serán tratadas con factores de crecimiento. A su vez este grupo se dividirá en los siguientes subgrupos:
    - **Subgrupo 1**: en el que se inyectará una dosis de 5 ml a una concentración de 5 en cada ovario.
    - **Subgrupo 2**: en el que se inyectará una dosis de 5 a una concentración de 2 en cada ovario.
    - **Subgrupo 3**: en el que se inyectará una dosis de 2 a una concentración de 5 en cada ovario.

HEMOS PLANTEADO ESTOS SUBGRUPOS PERO PUEDES MODIFICARLO SEGÚN CONSIDERES

- **Grupo control**: formado por unas 30 pacientes a las cuales no se les tratará con factores de crecimiento.

La distribución de las pacientes en cada uno de los grupos de estudio se llevará a cabo de forma aleatoria.

En la realización de esta fase será necesaria la participación de médicos, biólogas y enfermeras. Por una parte, Médicos y biólogos participarán en el establecimiento del proyecto adecuando las características de inclusión de pacientes en el estudio. Esta actividad estará liderada por el Dr. Gorka Barrenetxea, la Dra M José Martinez y la bióloga Edurne Martínez, los cuales participarán en las reuniones tanto internas para el establecimiento de los criterios clínicos, como en las reuniones con Laboratorio Axpe para el establecimiento de las características de la subcontratación para la correcta preparación de los factores de crecimiento .

Para la selección de las participantes y para la revisión de las historias médicas y confirmación de los criterios de inclusión y exclusión será fundamental la participación del Dr. Gorka Barrenetxea y la Dra M José Martinez los cuales contarán con la ayuda de las enfermeras Maitane Bilbao Zabala y Alaine Abio Monasterio.

Fase 2. Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento

La duración de esta fase será aproximadamente de 17 meses, se iniciará a principios de Junio de 2019 y tiene previsto terminar en Agosto de 2020. En esta fase, se llevará a cabo la estimulación ovárica y el tratamiento con factores de crecimiento de las pacientes incluidas en el estudio, además del estudio morfológico, la clasificación y de los ovocitos obtenidos.

A las pacientes finalmente introducidas en el estudio se les llevará a cabo la **estimulación ovárica controlada con suplementación hormonal** (EOC) bajo control ecográfico siguiendo el procedimiento considerado para cada una de las pacientes de manera individualizada. Atendiendo a los procedimientos clínicos se buscará obtener una respuesta suprafisiológica, aumentando el número de ovocitos aspirados para fertilizar, evitando picos espontáneos y prematuros de LH y con una maduración folicular dentro de la ventana temporal necesaria para su correcta maduración mediante la utilización de gonadotropinas recombinantes (FSHr) con utilización de antagonistas de la GnRH como medicación coadyuvante.

El protocolo habitual de EOC tiene una duración de entre 8-14 días, según la evolución y respuesta de la paciente al mismo. La administración de las hormonas para producir la estimulación de los ovarios se inicia en el segundo o tercer día de la menstruación. Además, se planifica la realización de controles ecográficos y hormonales con los que determinar el momento más adecuado para programar la punción folicular.

La punción folicular para la obtención de ovocitos tendrá lugar en el quirófano a las 35-37 horas tras la administración de Gonadotropina coriónica humana (hCG). Durante esta primera punción folicular, a las pacientes incorporadas en el grupo de estudio se les realizará una extracción de sangre a partir de la cual obtener y preparar el PRP autólogo que se le administrará durante la punción folicular en cada uno de los ovarios.

Cabe mencionar que se subcontratará a Laboratorios Axpe para que supervise y asesore en el proceso de preparación del PRP, para asegurar la correcta evolución del proyecto. El protocolo a seguir para la obtención del PRP autólogo de la paciente será el siguiente:

- Obtención de una muestra de sangre de la paciente (10 ml) de una vía periférica en un tubo con anticoagulante.
- Procesamiento de la muestra a 21-24 º C para evitar la activación plaquetaria durante la centrifugación.
- Centrifugación de la sangre a 1.200 rpm durante 12 minutos
- Identificación de 3 niveles: uno superior con plaquetas y leucocitos; uno intermedio (buffy coat) rico en leucocitos y uno inferior con hematíes.
- Transferencia de los niveles 1 y 2 a un tubo estéril.
- Nueva centrifugación del plasma a 3.300 rpm durante 7 minutos.
- Se descartan los dos tercios superiores los cuales son pobres en plaquetas
- Homogenización de los pellets a partir del tercio inferior para generar el PRP

Una vez obtenido el PRP se procederá a realizar la punción folicular para la recuperación de ovocitaria. La punción folicular es una intervención guiada por ultrasonografía transvaginal que se lleva a cabo en el quirófano y consiste en la recuperación de los ovocitos mediante aspiración de los folículos ováricos por vía vaginal. La paciente recibe la indicación de acudir en ayunas y la punción se lleva a cabo bajo sedación. La aspiración se realiza en el momento previo a la ovulación, aproximadamente 36 horas tras la administración de la hCG (gonadotropina coriónica humana), que desencadena la maduración final ovocitaria.

En este proceso se puncionan los folículos, aplicando el vacío, una vez la aguja de punción se encuentre dentro de los folículos. Los tubos de aspiración de líquido folicular mantenidos a una temperatura de 37ºC, contendrán el líquido folicular que será llevado al laboratorio donde se mantendrá en condiciones adecuadas para proceder a la recuperación de ovocitos

Durante esta misma intervención, en el caso de las pacientes incluidas en el grupo de estudio, se llevará a cabo la inyección del PRP en cada uno de los ovarios. A cada paciente de estudio se le inyectará en cada ovario una concentración y volumen determinado en base al subgrupo de estudio al que pertenezca:

- Subgrupo 1
- Subgrupo 2
- Subgrupo 3

Una vez obtenidos los ovocitos se procederá a evaluar el estado de madurez ovocitaria de cada uno de ellos. El estado de madurez se clasificará en vesícula germinal, metafase I, metafase II, degenerado o de otro tipo. Se considerarán ovocitos maduros aquellos ovocitos que se encuentren en estado de Metafase II (MII). También se realizará el estudio morfológico, teniendo en cuenta parámetros como: Agrupación de organelas/granulosidad localizada en el centro del ovocito, agregación de retículo endoplasmático liso (AREL), vacuolas, Inclusiones citoplasmáticas, exudados en el espacio perivitelino, etc.

Tras la primera EOC, se proseguirá con al menos dos ciclos sucesivos de estimulación siguiendo los mismos pasos descritos tanto para la EOC, punción como evaluación de ovocitos. En los siguientes ciclos de estimulación no se aplicará PRP. En base a la respuesta ovárica de cada paciente se valorará la realización de ciclos adicionales.

Los ovocitos obtenidos durante el primer y segundo ciclo de estimulación serán vitrificados hasta obtener los ovocitos del último ciclo con el fin de mantener sus características intactas hasta proseguir con su posterior fecundación mediante ICSI en la siguiente fase. Lo que permitirá, además, evaluar posteriormente si se producen diferencias entre los resultados en la tasa de fecundación de ovocitos vitrificados frente a ovocitos frescos.

Todos los ovocitos obtenidos a lo largo de esta fase serán correctamente etiquetados y registrados para controlar la trazabilidad de todo el proceso, teniendo en cuanta en que ciclo de estimulación se han obtenidos con el fin de evaluar si se producen diferencia entre los diferentes ciclos tras el tratamiento.

En la realización de esta fase será necesaria la participación de médicos, biólogos y enfermeras. Para la realización de las estimulaciones ováricas controladas, punción folicular e inyección de factores de crecimiento participarán los médicos Gorka Barrenetxea y Mª José Martinez-Cañavate, los cuales contarán con la asistencia en estas intervenciones de las enfermeras Maitane Bilbao Zabala y Alaine Abio Monasterio. Además, para la preparación del PRP, evaluación del estado de maduración de los ovocitos y vitrificación participarán las biólogas y bioquímicas Edurne Martinez Sanz, María De Las Heras Martinez y Oihane Gómez Picado.

Durante esta fase del estudio será necesario el uso de diferente material fungible que incluye material genérico para revisiones y manipulación de muestras obtenidas de las pacientes como guantes, mascarillas, funda para la sonda del ecógrafo, gel ecográfico, espéculo, etc.. En el control hormonal serán necesarias jeringas para la obtención de muestras sanguíneas y para la preparación de PRP serán necesarios materiales como tubos y jeringas.

Además, será necesario el uso de equipamiento inventariable que incluirá el uso de ecógrafo, cabina fría y estación de trabajo para la estimulación y vitrificación de los ovocitos.

Finalmente, según se ha explicado anteriormente, también se incurrirá en gastos con Laboratorios Axpe como asesor científico en el proyecto.

Fase 3. ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica

La duración de esta fase será aproximadamente de 19 meses, se iniciará a principios de Septiembre de 2019 y tiene previsto terminar en Diciembre de 2020. En esta fase se llevará a cabo la fecundación de los ovocitos tanto vitrificados como frescos mediante ICSI y el seguimiento y transferencia de los embriones tras la cual se estudiarán los diferentes resultados obtenidos a lo largo del proyecto para el desarrollo del protocolo final en el que se basará la nueva herramienta terapéutica.

Para ello se procederá a la a recoger las muestras de semen y se evaluará su calidad espermática. La obtención de la muestra seminal se realizará por masturbación y se recogerá en un frasco estéril. Se realizarán análisis macroscópicos (pH, volumen, licuefacción, color y aspecto) y microscópicos (concentración espermática, movilidad, morfología y presencia de otros elementos celulares) indicados según los criterios dictados por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2010). Tras ello, se capacitará la muestra mediante gradientes de densidad o *swim-up*.

Por otro lado, se decumularán los ovocitos, el proceso de decumulación consiste en incubar los ovocitos rodeados de las células de la granulosa en una solución tamponada con HEPES con cierta cantidad de enzimas hialuronidasas. A continuación, los ovocitos son aspirados de manera constante utilizando durante el proceso pipetas de diámetro cada vez más pequeño (de 300 a 150 micras), hasta que, finalmente, se lavan y se incuban de nuevo en un medio simple o en uno secuencial adaptado al desarrollo del embrión durante sus primeros estadios (hasta el día 3 después de la fecundación).

Tras realizar la capacitación del esperma, se realiza una ICSI. Una vez decumulados todos los ovocitos, se inyectarán aquellos que se encuentran en metafase II, utilizando un microscopio invertido, y se procede a la inyección de un espermatozoide por cada ovocito con una micropipeta de inyección.

Una vez capturado el espermatozoide, la micropipeta de Holding sujeta por succión al ovocito. Una vez que el ovocito está bien sujeto, se procede a microinyectar el espermatozoide.

Con la micropipeta inyectora se atraviesa la zona pelúcida del ovocito y entra en contacto con el citoplasma, hasta alcanzar el "centro" de la célula. Una vez se tiene el espermatozoide en la pipeta de inyección listo para su microinyección en el ovocito inmovilizado, correctamente enfocado y colocado:

- Con la pipeta de inyección se presiona suave y gradualmente sobre la zona pelúcida. Una vez traspasada la zona pelúcida, se continúa presionando la membrana del ovocito procurando que se perfile perfectamente un cono alrededor de la pipeta, moviéndola de arriba abajo hasta conseguirlo. La introducción de la pipeta de inyección dentro del ovocito está determinada por las características de la Zona Pelúcida, de la membrana plasmática y del citoplasma del ovocito. El tipo de ruptura de la membrana plasmática del ovocito depende de las características de éste y condicionaba su desarrollo posterior.
- Una vez rota la membrana se procede a aspirar ooplasma para cerciorarse de que la membrana está rota y ponerlo en contacto con el espermatozoide.
- Se deposita suavemente el espermatozoide
- Se anota el lugar donde se deposita el espermatozoide

A continuación, se procede a colocar los ovocitos ya fecundados en incubadores para comenzar el seguimiento del embrión.

La evolución de los embriones se evaluará en un sistema Embryoscope, un sistema de control de la evolución de los ovocitos hasta su transferencia controlado por cámaras que permite el registro de todos los acontecimientos hasta llegar a la transferencia, permitiendo realizar un análisis muy detallado del desarrollo morfocinético.

Los ovocitos fecundados/embriones se cultivan en placa específicamente diseñadas para el EmbryoScope, en gotas de medio de cultivo específico. Se evaluará la fecundación a las 24 horas de la realización de ICSI. Se consideran fecundados todos aquellos ovocitos en los cuales se observe la presencia de dos pronúcleos y dos corpúsculos polares tras las 17 y 20 horas después del procedimiento.

Previamente a la transferencia, a los embriones que se consideren viables se les realizará una biopsia de trofoectodermo lo cual consiste en aislar un grupo de células del embrión para realizar un análisis genético que permitirá evaluar su ploidía mediante un estudio PGS (cribado genético preimplantacional) en el que se analiza que los embriones tengan una carga genética correcta. Los embriones serán

vitrificados hasta obtener los resultados del estudio PGS, momento en el que se decidirá qué embrión se transfiere.

En el momento de la transferencia embrionaria, el embrión seleccionado se cargará en una cánula para ser transferido en el útero materno. La técnica consiste en introducir el embrión seleccionado (un único embrión por paciente) en el útero materno a través de un catéter intrauterino flexible muy fino. Este procedimiento se realiza bajo control ecográfico para garantizar que el embrión se deposite en el lugar adecuado de la cavidad uterina.

A lo largo de todos estos ensayos se irán registrando todos los datos obtenidos, los cuales se utilizarán para determinar las variables a estudiar establecidas en el diseño del estudio. De este modo se realizará el análisis comparativo de las pacientes pertenecientes al grupo de estudio y las pacientes control.

Una vez finalizado el seguimiento se llevará a cabo el análisis de cada una de las variables estudiadas de forma que en base a los resultados obtenidos **se establecerá el protocolo sobre el cual se basará la nueva herramienta terapéutica definiéndose las concentración y volumen de factores de crecimiento a introducir en cada uno de los ovarios de las pacientes con baja respuesta ovárica.** Cabe mencionar que se contará con el asesoramiento de la entidad subcontratada, Laboratorios Axpe, para establecer la herramienta terapéutica.

En la realización de esta fase será necesaria la participación de médicos, biólogas y enfermeras. De la decumulación de los ovocitos, la preparación y capacitación del semen, los procedimientos ICSI, las biopsias embrionarias y la evaluación del desarrollo embrionario se encargarán las biólogas del equipo. Participarán las biólogas y bioquímicas Edurne Martinez Sanz, Maria De Las Heras Martinez y Oihane Gómez Picado.

Para la realización de la preparación endometrial y las transferencias embrionarias participarán los médicos Gorka Barrenetxea y Mª José Martinez-Cañavate, los cuales contarán con la asistencia en estas intervenciones de las enfermeras Maitane Bilbao Zabala y Alaine Abio Monasterio. El equipo médico también se encargará de realizar el seguimiento a las pacientes para evaluar las tasas de gestación, implantación y recién nacido vivo.

Durante esta fase del estudio será necesario el uso de diferente material fungible que incluye material genérico para revisiones y manipulación de muestras obtenidas de las pacientes como guantes, mascarillas, funda para la sonda del ecógrafo, gel ecográfico, espéculo, etc. Será necesario nitrógeno

líquido para la vitrificación de ovocitos hasta el momento de su fecundación, así como para la vitrificación de embriones hasta obtener los resultados del estudio PGS. En el caso de los ovocitos serán necesarios medios específicos para su manejo así como pipetas de denudación. Para la fecundación de los mismos serán necesarias placas como soporte y pipetas de microinyección y holding para la microinyección. Para el cultivo de embriones serán necesarias placas de cultivo y medios específicos para cada etapa del desarrollo embrionario. Para el mantenimiento de las instalaciones de trabajo en el laboratorio, así como en parte del instrumental será necesario el uso de desinfectantes específicos.

Además, será necesario el uso de equipamiento inventariable que incluirá el uso de, estación de trabajo, microscopio invertido e incubadora para el manejo, preparación y microinyección de ovocitos. También será necesario utilizar el embryoscope para el seguimiento de la evolución de embriones y un ecógrafo para la transferencia de los embriones.

4.3. Identificación y grado de ejecución de los diferentes objetivos técnicos a alcanzar durante los años de ejecución del proyecto. Relación y descripción de entregables anuales a lo largo del proyecto.

A lo largo del proyecto los resultados que se vayan obteniendo se recogerán en una serie de entregables que se detallan a continuación:

- E1 (Informe de diseño del estudio): informe detallado con el diseño del estudio en el que se indicarán todos los protocolos a seguir.
- E2 (Informe de resultados parcial): Informe de resultados donde se incluirán todos los resultados de los reclutamientos, resultados de los ciclos de estimulación, análisis de los ovocitos, resultados de fecundación, resultados del análisis de embriones y tasas de fecundación hasta Diciembre de 2019.
- E3 (Informe de resultados final): Informe de resultados donde se incluirán todos los resultados de los reclutamientos, resultados de los ciclos de estimulación, análisis de los ovocitos, resultados de fecundación, resultados del análisis de embriones y tasas de fecundación hasta Diciembre de 2020.
- E4 (Informe final de evaluación de la nueva herramienta). Informe de resultados en el que se justificará el alcance y éxito del tratamiento tras la evaluación de los resultados obtenidos en cada una de las variables establecidas a lo largo del proyecto para ambos grupos de estudio. También se definirá el protocolo a aplicar para ofrecer la nueva herramienta terapéutica. Hasta Diciembre de 2020.

5. ANÁLISIS DE POTENCIALES BENEFICIOS

5.1. Resultados Esperados

- Nuevos productos/servicios o mejora de los actuales, explicando sus aportaciones en términos de funcionalidad y calidad.
- Nuevos procesos más eficientes y flexibles y su efecto en términos de incremento en la productividad.
- Efecto en la sostenibilidad de los productos/procesos generados: reducción del uso de recursos (materiales, energía y agua) y reducción del impacto ambiental (residuos, emisiones y vertidos).
- Identificación de potenciales patentes a generar en el proyecto y su interés comercial y estratégico a medio plazo.

5.2. Expectativas y justificación del potencial de mercado.

- Ventajas que comportarían los resultados del proyecto para los usuarios en comparación con la oferta existente.
- Análisis del posicionamiento de mercado que se va a conseguir en términos de productos/procesos generados y la mejora de la productividad, así como la mejora competitividad que ese posicionamiento favorece.
- Análisis de la competencia existente.
- Estrategia de comercialización por parte de los miembros del consorcio. Acceso a nuevos mercados y clientes.

5.3. Descripción de futuros impactos económicos y de explotación en los miembros del consorcio.

- Creación de nuevas empresas, incremento en la facturación, empleo estable, etc.
- Contribución a la internacionalización de los participantes. En particular debe desarrollarse como mínimo:
    - Planteamiento de internacionalización a nivel empresarial de los participantes (p.e. aumento de la presencia internacional para la fabricación y comercialización de los nuevos productos, incremento de las exportaciones, etc.).
    - Planteamiento de internacionalización de la actividad tecnológica de los participantes (p.e. participación en proyectos en el ámbito tecnológico europeo, etc.).

5.4. Efecto tractor y potencial de diversificación del tejido económico del País Vasco y de creación de empleo

5.1 Resultados Esperados

Nuevos productos y servicios derivados del proyecto:

Como consecuencia de la finalización exitosa del proyecto se obtendrá una nueva herramienta terapéutica y un servicio asociado a la misma que se ofrecerá en la clínica Reproducción Bilbao de Ginegorama a pacientes con baja respuesta ovárica. Concretamente, se obtendrá:

- Nueva herramienta terapéutica basada en la activación de folículos primordiales quiescentes gracias al uso de un novedoso protocolo de inyección de factores de crecimiento autólogos.
- Implantación en la práctica clínica de un servicio pionero para pacientes con baja respuesta ovárica que acudan a la clínica para un tratamiento de reproducción asistida.

Actualmente, el protocolo que se les aplica a las mujeres con baja respuesta ovárica se limita a la realización de ciclos sucesivos de estimulación folicular, inducción ovulatoria y recuperación ovocitaria. En muchos casos se llegar a repetir hasta 3 o 4 estimulaciones para conseguir entre 12 y 16 ovocitos, lo cual no siempre se consigue. Por tanto, teniendo en cuanta que no existe un tratamiento terapéutico especifico y efectivo para este tipo de pacientes, se espera que la nueva herramienta terapéutica que se pretende ofrecer como resultado del presente proyecto mejore de forma sustancial las técnicas actuales y que incorpore importantes novedades respecto al servicio que se ofrece actualmente en las clínicas del sector para pacientes con baja respuesta ovárica.

Contribución de la realización del proyecto al desarrollo sostenible y sobre el medio ambiente

Ginegorama fomenta los principios de respeto al Medio ambiente y el desarrollo sostenible. La práctica clínica en los servicios reproductivos, así como la investigación, exigen unos estándares de calidad en todos sus procesos incluyendo la gestión de residuos. Una correcta planificación de todos los pasos a realizar permite una reducción en la generación de residuos que se transmite a toda la cadena de sostenibilidad hacia el medio ambiente, minimizando la generación de residuos, emisiones y vertidos.

De manera complementaria, esta correcta planificación de las experimentaciones supone un beneficio en el uso óptimo de recursos como agua y energía, como bien común, controlando el uso de los mismos para un correcto aprovechamiento de los mismos.

5.2 Expectativas y justificación del potencial de mercado.

Ventajas que comportarían los resultados del proyecto para los usuarios en comparación con la oferta existente:

El desarrollo de esta nueva herramienta terapéutica repercutirá en la empresa con las siguientes ventajas que se describen a continuación:

Ventajas de tratamiento:

- La nueva herramienta permitirá ofrecer por primera vez a mujeres con baja respuesta ovárica un tratamiento para aumentar el número de ovocitos disponibles en cada estimulación mediante la activación de folículos primordiales quiescentes permitiéndoles la continuación del ciclo TRA de forma exitosa.
- El éxito de MAXIMOVO supondrá una revolución en pacientes con baja respuesta ovárica ya que hasta la fecha no existe nada similar en el sector y muchas pacientes o bien tienen que abandonar el ciclo de reproducción por falta de ovocitos viables o bien se ven obligadas a recurrir a programas de ovodonación.

Ventajas económicas:

- **Aumentar el volumen de negocio** gracias a la incorporación de la nueva herramienta terapéutica, la cual al ser pionera en el sector **se espera que sea un reclamo para nuevas pacientes, sobre todo pacientes con baja respuesta ovárica, y que aumente el número de pacientes que acudan a Ginegorama.**
- **Aumento de las inversiones de I+D** y posibilidad de lanzar nuevas líneas de investigación a partir del conocimiento obtenido en este proyecto acerca de los factores de crecimiento.

Ventajas estratégicas:

- **Situar a Ginegorama a la vanguardia del sector en lo referente a I+D en el campo de la reproducción asistida**, mejorando la competitividad de la empresa, permitiendo adelantarse a sus competidores con un tratamiento pionero para pacientes con baja respuesta ovárica.

Mercado objetivo y mejora en el posicionamiento de la empresa gracias al proyecto:

La capacidad fértil humana es limitada. En especial en casos como los que quiere abarcar el proyecto donde la reserva ovárica es muy baja, reduciendo por lo tanto el tiempo fértil de la mujer en 10 o 15 años en algunos casos. La reproducción asistida (entendida como el conjunto de procedimientos basados en la tecnología de la fecundación in vitro) compensa sólo parcialmente tal limitación. Entre 219 mil y 246 mil bebés nacen cada año en el mundo mediante el empleo de las técnicas de reproducción asistida. Así lo indica un estudio internacional publicado por la revista científica europea Journal Human Reproduction.

La infertilidad es una enfermedad que la Organización Mundial de la Salud (OMS) define como *"enfermedad del sistema reproductivo que se caracteriza por la no consecución de un embarazo clínico tras 12 meses o más de relaciones sexuales habituales sin anticoncepción*" **Más de 70 millones de parejas a nivel mundial tienen problemas de fertilidad, confirmando que es un sector con un gran potencial de demanda que puede dar cabida a una gran cantidad de servicios y que genera una gran capacidad de negocio.** Estando esta condición en aumento constante debido principalmente a la edad cada vez más avanzada de las mujeres y a los hábitos de vida de la pareja.

Uno de los principales motivos del aumento de los problemas de fertilidad es el retraso de la maternidad. La edad media de las pacientes se sitúa en torno a los 38 años, siendo las pacientes de Inseminación Artificial las más jóvenes (35 años) y las de ovodonación las mayores (41 años). En la siguiente figura se puede observar la evolución de la edad promedio de la maternidad a lo largo de los últimos años, donde se evidencia el incremento que se ha producido.

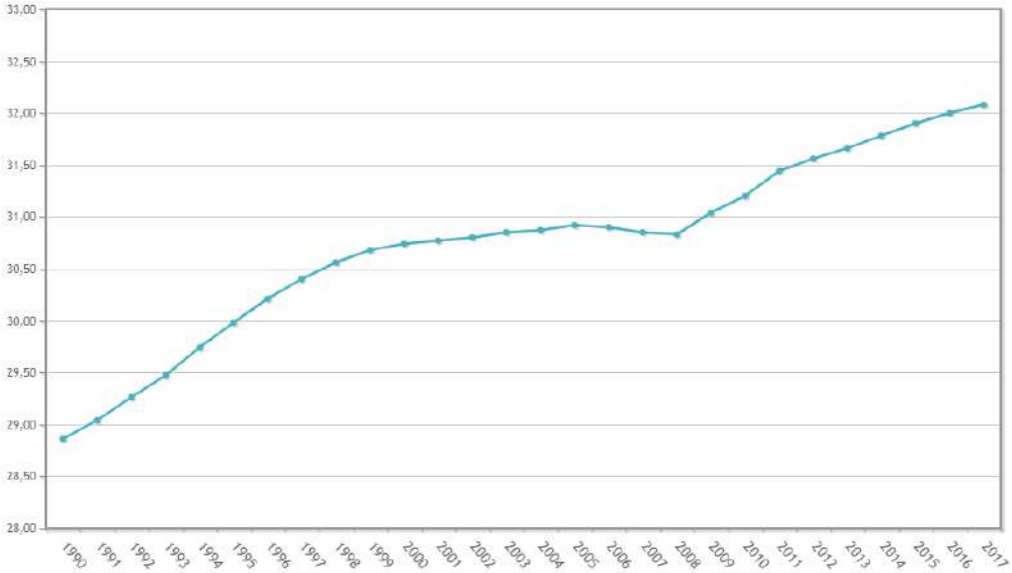


Figura 3. *Edad promedio de maternidad en España en el periodo de 1990-2017 (Fuente: INE)*

A las puertas del siglo XXI, la demografía española se situó en 1,3 hijos por mujer, tasa que ha ido en descenso. En 1981, España se situaba a 2,04 hijos por fémina. Hoy en día, para que la población siguiera estable se necesitaría tener 2,1 hijos. Muy recientemente, se ha expresado a través de los medios de comunicación, la tendencia a aumentar la tasa de hijos en España, pero todavía es baja comparada con el resto de Europa. En realidad, España es de los últimos de la lista. En la siguiente Figura se muestra la comparativa entre las tasas de fertilidad mundiales y las de España.

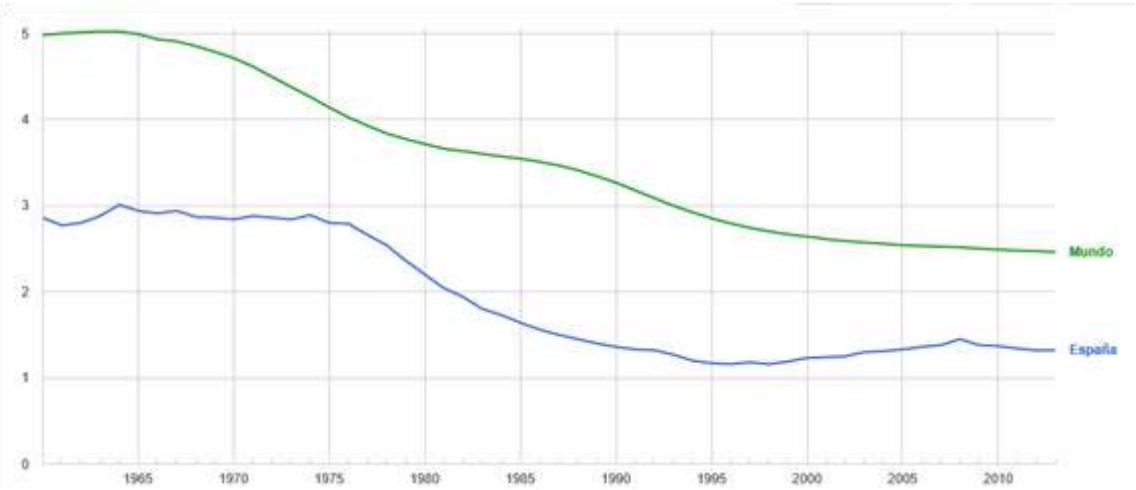


Figura 4. *Tasas globales de fertilidad (Fuente: Datos de Banco Mundial)*

Este cambio demográfico que se está produciendo supone un problema, ya que a partir de los 35 años no solo la respuesta ovárica es más escasa, sino que también se aprecia una disminución considerable y progresiva de la calidad de los ovocitos. La relación existente entre la edad y la respuesta ovárica hace que cada vez haya un mayor número de pacientes con baja respuesta ovárica a la estimulación y por tanto un mal pronóstico en los tratamientos de reproducción. **Tal y como se ha comentado, el principal factor de riesgo para el tratamiento de mujeres con baja respuesta ovárica es el tiempo por lo que la previsión es que el número de casos con este problema siga aumentando.**

Por ello se espera que debido al cambio demográfico que está sufriendo el país, el número de pacientes con baja reserva ovárica aumente y **cada vez sean más las pacientes interesadas en la novedosa herramienta terapéutica MAXIMOVO que se plantea en el presente proyecto.**

En este sentido se hacen alarmantes las previsiones de crecimiento poblacional proyectadas en el medio plazo y que presentan una fuerte afectación al País Vasco, el cual se establece a la cola en crecimiento, experimentando un crecimiento negativo diferencial según se aprecia en la siguiente gráfica:

Figura 5. *Crecimiento absoluto proyectado por comunidades autónomas en el marco temporal 2014-2029 (Fuente Instituto Nacional de Estadística)*

Con ello, se prevé que en los próximos años se siga manteniendo la tendencia de descenso de las tasas de natalidad y un incremento epidemiológico en las cifras de infertilidad y de la demanda asistencial. Por ello, habrá un previsible aumento del número de clínicas de reproducción humana asistida (RHA) sobre todo privadas, incrementándose así el peso del sector privado. La siguiente figura muestra las tendencias e indicadores de la demanda asistencial (escenario 2020).

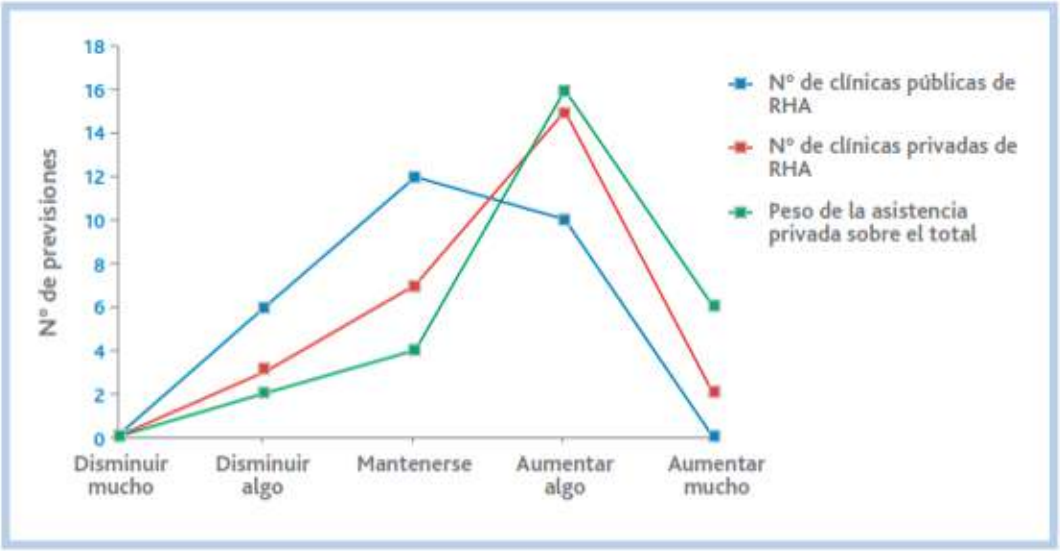


Figura 6. *Tendencia del número de centros de Centro de Reproducción Asistida públicos y privados.*

Por tanto, ante el aumento de la demanda de los servicios de reproducción asistida y ante el aumento de empresas competidoras que se prevé que se produzca en los próximos años**, es clave diferenciarse de la competencia y situarse como líder en el sector.** Ginegorama considera el presente proyecto como estratégico para la empresa, permitiéndole alcanzar esa meta de liderazgo y posicionamiento como referente en calidad asistencial. La finalización exitosa del proyecto le permitirá adelantarse a sus competidores directos, lo que se prevé que le permita mejorar su tasa de éxito en los tratamientos de fertilidad que ofrece a pacientes con baja respuesta ovárica. De esta forma, Ginegorama sería pionera en ofrecer esta herramienta terapéutica con la que mejorar la claridad y cantidad de los ovocitos obtenidos tras los ciclos sucesivos de estimulación.

Consecuencias previstas del proyecto sobre la empresa.

Ginegorama viene realizando desde su constitución un importante esfuerzo por potenciar sus actividades de Investigación y Desarrollo Tecnológico a través de sus investigadores y el resto de personal vinculado a los proyectos desarrollados, lo que le ha permitido disponer de una tecnología avanzada en su sector y ofrecer servicios innovadores a sus clientes.

Para Ginegorama, el éxito de la investigación supone un estímulo positivo de cara a continuar con propuestas que puedan suponer mejoras que sean susceptibles de poder incorporarse en la práctica clínica diaria y ser pionera en la implementación de esta herramienta para pacientes con baja respuesta ovárica.

En este sentido, el apoyo de la administración a Ginegorama, permitiría a la Compañía poder llevar a cabo estos planes de inversión en I+D, con objeto de adaptarse a las crecientes demandas del mercado de la reproducción y diferenciarse de sus competidores gracias a la innovación y la oferta de servicios pioneros. Dado el carácter netamente investigador de la sociedad actual, las consecuencias inmediatas derivadas de la finalización técnica exitosa del presento proyecto de I+D, darán lugar a una consolidación de la empresa y la adquisición de equipos e inmovilizado de cara a poder realizar internamente las evaluaciones a pacientes.

El éxito del presente proyecto permitirá generar unas elevadas expectativas de demanda, debido a que casi un 20% de la población española en edad reproductiva tiene problemas de infertilidad. Además, según los expertos, los problemas de reproducción van en aumento. En consecuencia, no sólo aumentaría el prestigio de Ginegorama, como centro de investigación en reproducción humana, sino que

además habría un rendimiento económico derivado de la aplicación de los nuevos tratamientos propuestos, ya que se ofertarían una nueva herramienta terapéutica que no se daría en otras clínicas del sector, aumentando la demanda por parte de los potenciales pacientes.

Destacar que Ginegorama apuesta de manera muy intensa por el papel de las mujeres en todas las áreas de la empresa, con una presencia superior al 80% dentro del conjunto de trabajadores de la empresa, destacando embriólogas con elevada experiencia en el sector como son María de las Heras Martínez y Edurne Martínez y Oihane, con funciones de relevancia en las aportaciones a la investigación clínica, especialistas en ginecología y obstetricia como Andrea Da Silva, Eva M rodríguez del Valle o M José Martínez-Cañavete o Amaia Garcia Leuke, directora financiera y administración. Con ello se quiere resaltar, el papel importantísimo de las mujeres, no sólo porque ocupen cargos directivos importantes, sino porque, además, están al frente de muchas de estas investigaciones reconocidas.

Ginegorama se beneficiará ampliamente del desarrollo de este proyecto ya que además de generar un importante *know-how*, incluirá una nueva herramienta en su catálogo de servicios y mejorará su posicionamiento dentro del área de las clínicas de reproducción asistida, distinguiéndose de otras por su esfuerzo y dedicación a la realización de proyectos de I+D además de la realización de la práctica clínica, siendo una que actuará sumando esfuerzos a favor del conocimiento y su rendimiento económico asociado.

Ámbitos de Impacto del proyecto

El desarrollo de esta nueva herramienta terapéutica supondrá un **impacto** que alcanza diversos ámbitos, entre los cuales cabe destacar los siguientes:

Impacto clínico: De los resultados que se obtengan de este proyecto podrán establecer protocolos más personalizados para mujeres con baja respuesta ovárica mejorando de esta manera el número de ciclos necesarios para llevar a cabo su correcta estimulación ovárica. De esta manera se pretende obtener una nueva herramienta terapéutica para regenerar la funcionalidad de los ovarios en su producción de óvulos, siendo eso, una gran novedad y avance en el sector.

Impacto económico/social: De los resultados del proyecto podrá establecerse un protocolo concreto basando en el uso de factores de crecimiento para el tratamiento de pacientes con baja respuesta ovárica. Esto implica aumentar la tasa de éxito de estas pacientes las cuales en la mayoría de casos deben recurrir a programas de ovodonación. El reducir y mejorar los ciclos de estimulación ovárica evitará

el desperdicio de material y recursos. En cuanto, a nivel ético y económico, este proyecto repercutirá en la conservación de un menor volumen de embriones criopreservados, con el impacto económico que supone tanto en recursos como en tiempo, hecho que genera un coste elevado para los pacientes y un problema cada vez mayor de espacio para las clínicas.

Impacto tecnológico: Hasta el momento no se utiliza en reproducción ninguna herramienta terapéutica para pacientes con baja respuesta ovárica basada en el uso de factores de crecimiento, lo cual supondrá para este grupo de investigación una evaluación de la potencialidad de abordar el estudio a partir de publicaciones anteriores, hecho que le confiere un carácter innovador y único a este nuevo tratamiento. La ejecución del proyecto estará íntimamente ligada a la formación de especialistas cualificados científica y tecnológicamente, que desarrollarán su labor en el área de la Reproducción.

Impacto bibliométrico: Con los resultados del estudio se ampliará el conocimiento referente al efecto de los factores de crecimiento en aspectos concretos de la reproducción relacionada con las tasas de éxito y fracaso de los tratamientos de fecundación en pacientes con baja respuesta ovárica. Está previsto que los resultados se publiquen en forma de artículos en revistas con alto índice de impacto en el área específica del estudio.

En la siguiente figura se resume en que consiste la innovación y las dimensiones que alcanza el impacto del proyecto:

Figura 1. Innovación y dimensiones del impacto del proyecto.

En conclusión, **la finalización con éxito del proyecto tendrá un gran impacto para la empresa** tanto a través de un **incremento en su facturación** gracias a la atracción de un mayor número de pacientes, como a través del **posicionamiento estratégico** ya que la nueva herramienta terapéutica supondrá un gran avance científico que le permitirá a Ginegorama diferenciarse de sus competidores y aumentar la calidad de sus servicios.

Sistemas de distribución y ventas. Estrategias de Marketing

La distribución e implementación del nuevo servicio derivado del presente proyecto a nivel nacional e internacional asociado a un nuevo servicio para mujeres con baja respuesta ovárica permitirá aumentar la capacidad reproductiva de este tipo de pacientes gracias a la utilización de factores de crecimiento autólogos, mejorando de manera substancial la probabilidad del éxito reproductivo.

Entre las acciones de marketing, derivados del establecimiento de la nueva herramienta terapéutica, se destacan las siguientes:

- Material promocional: Diseño y realización de catálogos, ampliación de la web corporativa, Merchandising.
- Participación en congresos nacionales e internacionales donde acuden los especialistas del sector de la reproducción asistida.
- Publicidad la web de la empresa.

Es de interés el promocionar los nuevos productos y procesos de las empresas de la mejor manera posible y el hecho de recibir una subvención del programa de ayudas HAZITEK para la I+D, también ayudaría a aumentar el buen nombre de Ginegorama y la importancia innovadora del proyecto. Por este motivo, en caso de recibir apoyo por parte del Gobierno Vasco, en su programa de ayudas HAZITEK, darían a conocer este apoyo unido a la divulgación de los resultados del presente proyecto. La cofinanciación de proyectos es un dato de interés, en cuanto que es un buen indicador de cara a los clientes actuales como a los potenciales, de que Ginegorama es una empresa implicada en I+D+i.

5.3 Descripción de futuros impactos económicos y de explotación en los miembros del consorcio.

Previsión de explotación

Según se ha comentado anteriormente, el desarrollo del presente proyecto **va a culminar en el desarrollo de una nueva herramienta terapéutica que ofrecerá Ginegorama a través de un nuevo servicio para mujeres con baja respuesta ovárica.**

Existe un amplio mercado objetivo que podrá aprovechar este nuevo servicio, ya que la baja respuesta ovárica va alineada con el retraso de la maternidad, lo cual, tal y como se ha indicado en el punto anterior, ocurre cada vez más.

Por tanto, al tratarse de un servicio pionero en un problema que va en aumento se espera que un gran porcentaje de las pacientes susceptibles de beneficiarse de esta nueva herramienta terapéutica acudan a la clínica de Ginergorama (Reproducción Bilbao), para las cuales supondrá en muchos casos un ahorro en sus tratamientos de reproducción asistida, así como mayores tasas de éxito, menor duración de los mismos y una menor carga psicológica. De este modo, se conseguirá también una disminución en el número de pacientes que se derivarán a ovodonación, lo que demuestra que con el desarrollo de esta herramienta se obtendría una gran demanda.

Por otra parte, para el cálculo de los ingresos previstos por el desarrollo del proyecto, se exponen a continuación, teniendo en cuenta, el nº de pacientes que se espera tener en Ginegorama con estas características y que requerirán este servicio:

En primer lugar, se ha analizado el número de pacientes a las que se les podría ofrecer la nueva herramienta. Se ha tomado como valor de referencia el número de pacientes que llegaron a Ginegorama en 2018 y que cumplían con las características para ofrecerles la nueva herramienta. Se considera que la nueva herramienta tendrá una aceptación o índice de penetración (IP) del 100%.

	PACIENTES POTENCIALES 2018	ACEPTACIÓN (ÍNDICE DE PENETRACIÓN - IP)	CLIENTES ANUALES NUEVA HERRAMIENTA
PACIENTES BAJA RESPUESTA OVÁRICA	200	100%	200

Tabla 1. *Número de pacientes potenciales para ofrecer la nueva herramienta y porcentaje de aceptación*

En el siguiente cuadro se puede distinguir el nº de pacientes anuales que acudirían a la clínica que podrían verse beneficiadas de este servicio, para el cual se estima un crecimiento anual de un 5% en los próximos años y del total de pacientes en base a que un 23% aproximado de las pacientes de FIC/ICSI de la clínica son paciente de baja respuesta ovárica se ha estimado la siguiente evolución

	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
PACIENTES FIV/ICSI	900	945	992	1042	1094	1149	1206
PACIENETS CON BAJA RESPUESTA OVARICA	207	217	228	240	252	264	277

Tabla 2. *Evolución de pacientes de FIV/ICSI en la clínica y número de pacientes con baja reserva ovárica.*

Derivado del número de pacientes que cada año podrían acudir directamente a Ginegorama para tratarse con la nueva herramienta, se obtendrían unos ingresos directamente procedentes de la realización del servicio que previsiblemente se ofrecerá a un precio estimado de 350€ por tratamiento, se obtendrían unos ingresos anuales directos y unos beneficios anuales que se indican en la siguiente tabla.

¿OS PARECE CORRECTO ESTE PLANTEAMIENTO?

GINEGORAMA	2021	2022	2023	2024
Impacto del proyecto	83.869,93 €	88.063,43 €	92.466,60 €	97.089,93 €

Tabla 3. *Beneficios derivados de ofrecer los nuevos servicios con la herramienta terapéutica "MAXIMOVO"*

Plan de industrialización e inversiones

Una vez finalizado el proyecto y demostrado el potencial de los factores de crecimiento para mujeres con baja reserva ovárica, Ginegorama podría empezar a ofrecer el nuevo servicio a pacientes. Ginegorama cuenta con cabinas de flujo laminar y centrifugas donde preparar las muestras de factores de crecimiento, por lo que no necesitaría realizar ninguna inversión específica para empezar a comercializar el nuevo servicio terapéutico.

Adicionalmente, en función del grado de aceptación del nuevo servicio por parte de los pacientes y del incremento de ciclos de la clínica, se planteará a largo plazo la necesidad de ampliar los laboratorios y los quirófanos para dar respuesta a la demanda esperada y creciente desde dentro, es decir, el objetivo por parte de Ginegorama consistiría en realizar una serie de inversiones en sus instalaciones para obtener una mejora en sus servicios y poder ofrecer el nuevo sistema diagnostico a los pacientes potenciales que acudan a la clínica, incorporando los equipos necesarios para poder ofrecer este tratamiento mencionado anteriormente.

Plan expansión de los productos

Ginegorama tiene previsto comercializar los nuevos productos o servicios desarrollados en su clínica Reproducción Bilbao, para diferenciarse del resto de sus competidores. De este modo espera ganar cuota de mercado y que cada vez acudan más pacientes a sus instalaciones

5.4 Descripción de futuros impactos económicos y de explotación en los miembros del consorcio.

En previsión de los buenos resultados derivados de este proyecto, Ginegorama, si se llegara a implantar el nuevo servicio diagnóstico en la clínica, requerirá de la incorporación de dos personas, por una parte un médico y por otra parte un licenciado en biología. El licenciado en medicina dará respuesta al incremento de la demanda de tratamientos y el licenciado en biología se encargará de realizar todas las preparaciones de PRP y prestar apoyo para el resto de procedimientos de laboratorio que se llevan a cabo en los ciclos de reproducción.

Si se logra implementar el nuevo servicio diagnóstico con éxito, el impacto en la cifra neta de negocios para Ginegorama será de un 4% en 2023 con respecto a la cifra neta de 2018 (último año fiscal cerrado); correspondiendo a un incremento durante las 3 anualidades siguientes a la finalización del proyecto, de 264.399,96 € por la realización del proyecto

GINEGORAMA	2018	2019	2020	2021	2022	2023
Evolución Cifra de Negocio	2.350.000,00 €	2.600.000,00 €	2.800.000,00 €	3.000.000,00 €	3.200.000,00 €	3.400.000,00 €
Impacto del proyecto	0,00 €	0,00 €	0,00 €	83.869,93 €	88.063,43 €	92.466,60 €
TOTAL	2.350.000,00 €	2.600.000,00 €	2.800.000,00 €	3.083.869,93 €	3.288.063,43 €	3.492.466,60 €

Tabla 4. *Evolución cifra de negocio tras la finalización del proyecto "MAXIMOVO"*

Esto viene determinado por el cálculo de la previsión de explotación del nuevo servicio que se va a desarrollar en el proyecto.

Para finalizar habría que añadir que el proyecto ayudaría a la evolución de la empresa puesto que incrementaría los ingresos procedentes de servicios complementarios. Además, incrementaría el prestigio de la clínica consolidándola en la cabeza en la reproducción asistida.

5.5 Efecto tractor y potencial de diversificación del tejido económico del País Vasco y de creación de empleo

Centrándonos en el ámbito del presente proyecto, las biociencias, se ha logrado desarrollar un sector reconocible, con empresas con alto potencial y de carácter internacional. El desarrollo actual de las biociencias en el País Vasco se deriva de una apuesta estratégica sostenida que ha conducido, por un lado, a disponer de capacidades científico-tecnológicas de alto nivel y de un nuevo sector empresarial, y, por otro lado, ha facilitado también la diversificación de empresas industriales. Tendencias ambas, que es necesario reforzar.

En el País Vasco, las biociencias se concentran en el segmento de salud humana. La aplicación de las biociencias a la salud refuerza el desarrollo del sector sanitario, basado en la existencia de una poderosa y eficiente red pública con capacidad investigadora e innovadora y tractora de nuevos desarrollos.

Se hace necesario para cualquier país avanzado el desarrollo de sectores estratégicos intensivos en conocimiento, como elemento clave de competitividad futura, lo que repercutirá en la mejora de la calidad de vida de los ciudadanos vascos.

Es por ello que el proyecto tendrá un efecto tractor sobre el desarrollo del sector de las biociencias en el ámbito del desarrollo de nuevas herramientas de diagnosis, contribuyendo a la diversificación del tejido industrial del País Vasco de la siguiente manera:

Los objetivos estratégicos, basados en la investigación y desarrollo, de GINEGORAMA, que van a impulsar a la empresa como referente en el sector de la reproducción humana asistida son los siguientes:

- Alcanzar los objetivos y metas de investigación fijados en los diferentes proyectos de I+D llevados a cabo, para lo cual dispone de distintos equipos constituidos por especialistas, de

reconocido prestigio tanto nacional como internacional, que investigan y desarrollan nuevas técnicas y estudios para mejorar los avances sobre la infertilidad en Reproducción Humana, así como de todos los requisitos tecnológicos y científicos que se requieren.

- Mejorar sustancialmente los protocolos ya existentes, con el objetivo de aumentar las tasas de éxito de embarazo y solucionar la problemática social de parejas que tienen problemas para concebir por baja respuesta ovárica.
- Liderar nuevas herramientas en el Sector de la Medicina Reproductiva.
- Ofrecer la mejor calidad asistencial y excelente trato humano a los numerosos pacientes que requieren los servicios que se proporcionan.

Si el proyecto fuera finalmente “a buen puerto”, las posibilidades de la empresa al respecto serían inimaginables, ya que, se podría establecer el procedimiento de aplicación clínica de esta novedosa herramienta que hasta la actualidad no se aplicaba en la práctica clínica habitual en el sector de la reproducción asistida.

6. RESULTADOS E IMPACTO DEL PROYECTO

En este apartado se debe ofrecer una visión sintética de las expectativas depositadas en el proyecto, que posteriormente se irán concretando a medida que avance el proyecto (en la justificación técnica de cada ejercicio se solicitará el ajuste/confirmación de esta síntesis). Las expectativas del proyecto se sitúan a dos grandes niveles dependiendo de su alcance y del plazo temporal en las que pueden ser medidas. En este sentido se distingue entre:

- **Resultados del proyecto:** Son aspectos atribuibles directamente a la ejecución del proyecto y su consecución puede medirse a la finalización del mismo, por tanto constituyen elementos fundamentales para valorar el grado de éxito del proyecto en su desarrollo y finalización.
- **Impacto resultados del proyecto:** Refleja los efectos de la explotación de los resultados directos del proyecto, tanto a nivel las propias empresas participantes como, por tracción, en el conjunto de la economía vasca. Estos impactos no se producen en el momento de cierre del proyecto por lo que se trata de ofrecer estimaciones de la situación prevista a 2/3 años de la finalización del mismo.

RESULTADOS DEL PROYECTO

Indique en cada cuadro el valor esperado del indicador a la finalización del proyecto y una descripción de acuerdo con las directrices que se explican.

	IND R1: Nuevos productos o productos existentes mejorados sustancialmente como resultado del proyecto
No aplica.	

	IND R2: Procesos nuevos o mejorados sustancialmente como resultado del proyecto
El desarrollo del presente proyecto va a culminar con la implementación en la practica clínica de un novedoso servicio terapéutica para pacientes con baja respuesta ovárica que acuden a la clínica para un tratamiento de reproducción asistida.	

	IND R3: Nº de nuevas empresas creadas en relación a los resultados del proyecto
No aplica.	

	IND R4: Nº esperado de patentes derivadas de las actividades del proyecto
Breve descripción	

	IND R5: Nº esperado de marcas, dibujos, modelos industriales o derechos de autor
No aplica.	

IMPACTO RESULTADOS DEL PROYECTO

Indique en cada cuadro el valor esperado del indicador a 2/3 años de la finalización del proyecto y una descripción de acuerdo con las directrices que se explican.

IND I1: Impacto en el empleo en las empresas participantes como consecuencia del proyecto

Indicar el número de empleos creados y mantenidos en valor absoluto **para cada empresa como consecuencia del proyecto** junto con una breve justificación.		
Valor	Empresa	Justificación
2	Ginegorama S.L.	Si se llegarán a implantar el nuevo servicio terapéutico en la clínica, requerirá de la incorporación de un licenciado en medicina debido al incremento de la demanda de tratamientos y un licenciado en biología para poder llevar a cabo todas las preparaciones de PRP y prestar apoyo para el resto de procedimientos de laboratorio que se llevan a cabo en los ciclos de reproducción.

IND I2 Impacto en la cifra de negocio de las empresas participantes como consecuencia del proyecto

Indicar la facturación anual en millones de € **para cada empresa participante como consecuencia del proyecto** junto con una breve justificación.		
Valor	Empresa	Justificación
264.399,96 €	Ginegorama S.L.	Si se logra implementar el nuevo servicio diagnóstico con éxito, el impacto en la cifra neta de negocios para Ginegorama será de un 4% en 2023 con respecto a la cifra neta de 2018 (último año fiscal cerrado); correspondiendo a un incremento durante las 3 anualidades siguientes a la finalización del proyecto, de 264.399,96 € por la realización del proyecto

IND I3 Impacto esperado en las exportaciones

Indicar el valor de % exportación prevista y % exportación actual **para cada empresa participante** y una breve justificación			
Valor previsto	Valor actual	Empresa	Justificación
0	0	Ginegorama S.L.	No aplica.

7. GRUPO DE INVESTIGACIÓN

7.1. Descripción general de los diferentes beneficiarios o subcontratados, justificando su complementariedad para la ejecución de las diversas actividades técnicas contempladas en el proyecto.

7.2. Presentación de cada uno de los beneficiarios, contemplando:

- Breve historial de la entidad y del grupo empresarial al que pertenezca (si procede).
- Actividades industriales y productos / servicios comercializados.
- Estrategia de la empresa en relación a su participación en el proyecto HAZITEK
- Medios materiales e instalaciones de I+D significativas como soporte a su participación en el proyecto.
- Relación de proyectos significativos de I+D llevados a cabo relacionados y que den soporte a las actividades o tareas a realizar en el proyecto. Patentes o modelos de utilidad a nombre de la empresa.

7.3. Prestigio del investigador principal y líder de la propuesta, así como la solvencia del resto del equipo asignado.

7.4. Para cada empresa, relacionar los principales responsables técnicos participantes en el proyecto HAZITEK, adjuntando un breve curriculum vitae de los mismos incluyendo: nombre, cargo, edad, titulación, formación adicional significativa y experiencia laboral más significativa (empresa y cargo).

7.1 Descripción general de los diferentes beneficiarios o subcontratados, justificando su complementariedad para la ejecución de las diversas actividades técnicas contempladas en el proyecto.

En la realización del presente proyecto dentro del área de la reproducción asistida y atendiendo a las características del mismo intervendrá, por una parte, Ginegorama S.L., con más de10 años de experiencia en el tratamiento de los procesos de fertilización, y se complementará el equipo investigador mediante la subcontratación de Laboratorio Axpe como empresa asesora en la preparación de PRP, empresa con 100 años de experiencia en el sector.

7.2 Presentación de cada uno de los beneficiarios, contemplando:

Ginegorama es un equipo especializado en medicina reproductiva ubicado en Bilbao. Sus inicios como una pequeña empresa se forjaron ***con el objetivo de ofrecer servicios de reproducción asistida y ginecología avanzados, enfocados a ofrecer la mayor tasa de éxito a pacientes con problemas de fertilidad y un servicio profesional de nivel a clínicas que ofrecieran tratamientos de reproducción asistida a sus pacientes.*** En sus primeros años el principal cliente de Ginegorama fue la clínica Quirón Bilbao, donde ofrecía sus servicios a las pacientes que acudían al servicio de reproducción asistida de Quirón. En 2014 Ginegorama dejó de trabajar para la clínica Quirón y pasó a ubicarse en la clínica Praxis

Bilbao (desde 2014 hasta 2015). Tras este cambio, Ginegorama decidió dejar de prestar servicios a otras clínicas y empezar a posicionarse como referente para ofrecer servicios directamente a las pacientes, naciendo la clínica **Reproducción Bilbao en 2016.** La clínica Reproducción Bilbao ha reabierto sus puertas en 2018 en una nueva ubicación, en la calle Calle Morgan Kalea número 2. **En esta nueva ubicación han conseguido posicionarse como la clínica de Reproducción Asistida más grande ubicada en la ciudad de Bilbao.**

Ginegorama estrena unas instalaciones modernas y equipadas con la última tecnología. Los materiales elegidos para la arquitectura interior, son materiales utilizados para la construcción de áreas críticas, siendo todos materiales no porosos, no emisores de partículas y con un acabado estanco debido a los sellados de todas las juntas de unión interna. A continuación se muestran fotografías de las nuevas instalaciones:

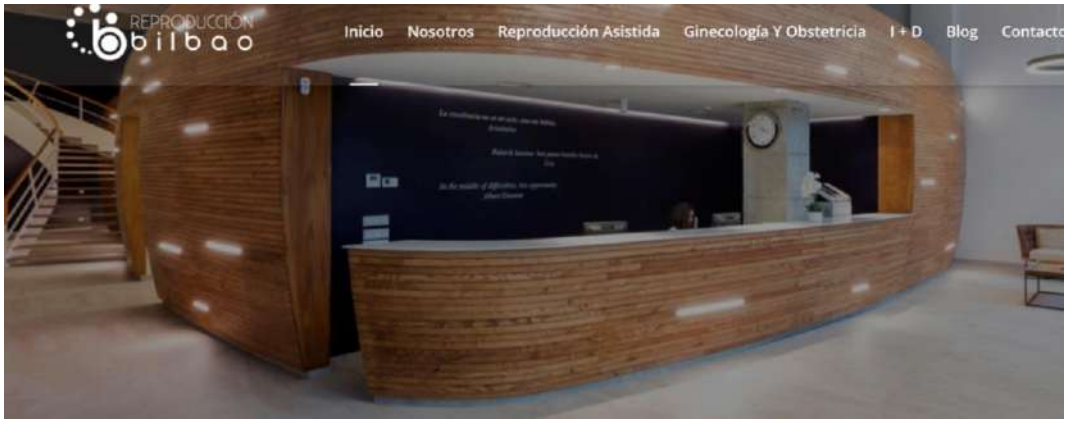


Figura 7. *Recepción Reproducción Bilbao*

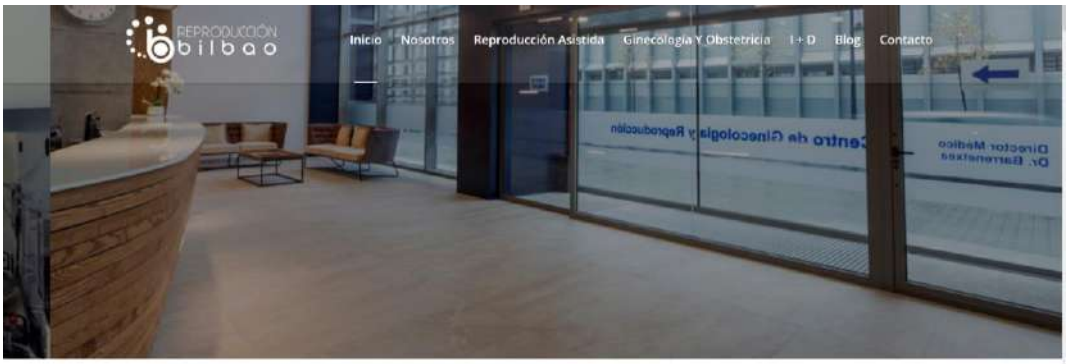


Figura 8. *Hall Reproducción Bilbao*

Las instalaciones del laboratorio de Reproducción Bilbao han sido diseñadas como Salas Limpias, siguiendo criterios GMP, y aplicando soluciones exigidas para procesos asépticos críticos. Tanto el diseño y distribución de todas las estancias como las instalaciones se han diseñado con este criterio.

De este modo la calidad de aire interior es óptima. Se mantiene controlado el número de partículas en suspensión en el interior del laboratorio, a través de un complejo sistema de filtros de aire. La instalación cuenta con sistema de eliminación de componentes orgánicos volátiles y posibles restos de hidrocarburos derivados de la polución exterior. Esto hace que la calidad del aire interior en la zona de trabajo del laboratorio sea de alta pureza. Todo el laboratorio y el quirófano asociado dispone de un sistema de control de presiones de aire, de tal modo que se evita la entrada de posibles contaminantes a las zonas de trabajo, derivados del tránsito de personas y materiales al laboratorio.

Figura 9. *Laboratorio Reproducción Bilbao*

Al frente de Ginegorama siempre ha estado el Doctor Gorka Barrenetxea. Gorka ha ejercido la Dirección del Servicio de Ginecología, Obstetricia y Reproducción Asistida, además de ejercer como Profesor Titular de Ginecología y Obstetricia de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea.

El crecimiento en experiencia y tratamientos aplicables favoreció el crecimiento de la empresa que se ha dotado a través del tiempo tanto de formación y como de tecnología confiriéndoles un trato distintivo tanto en los tratamientos aplicados como en la incorporación de tecnología, dado que la reproducción asistida ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años, sobrepasando el diagnóstico y tratamiento de la esterilidad.

La complejidad de las nuevas técnicas reproductivas y sus implicaciones éticas han exigido por parte de la empresa una formación específica y una mejora continua a través de la investigación e implementación de las nuevas tecnologías.

La aplicación de las mejores tecnologías disponibles y la formación especializada de sus profesionales permitieron el nacimiento de 5.700 niños provenientes de tratamientos de infertilidad, sólo en su etapa

Quirón Bilbao. Y su crecimiento profesional como empresa continúa con pasos firmes hacia un afianzamiento en el País Vasco.

Los proyectos realizados por la empresa en anualidades anteriores, algunos de los mismos presentados en anteriores convocatorias de GAITEK y HAZITEK, son los siguientes:

- "Efecto de la suplementación dietética con ácido docosahexaenoico (DHA) sobre la composición en ácidos grasos de la membrana espermática y su relación con la calidad seminal"
- "Implicación de las diferentes subpoblaciones de las células Natural Killers (NK) en el aborto de repetición y en estadíos precoces del desarrollo gestacional". (GAITEK 2012-2013).
- "Fragmentación del DNA espermático pre-microinyección en tratamientos ICSI". (GAITEK 2012-2013).
- "Influencia de la expresión de genes apoptóticos en el desarrollo de la competencia ovocitaria". (GAITEK 2013-2014).
- "Correlación entre el fallo ovárico prematuro (POF) y el gen FMR1: Determinación del tamaño y estructura de la repetición CGG y análisis de factores en CIS"
- "Evaluación de la receptividad endometrial por medio de estudio in vitro de biomarcadores tisulares en pacientes tratadas con fecundación in vitro."
- "Estudio comparativo de eficacia de la α-corifollitropina (Elonva®) en relación con la FSH recombinante diaria en ciclos de fecundación in vitro."
- Epiginema, nuevas herramientas diagnósticas en ginecología mediante microarrays de metilación" (GAITEK 2014-2015)
- "Desarrollo de una nueva herramienta de diagnóstico in vitro para predecir la calidad y competencia ovocitaria" (HAZITEK 2017-2018)

Con el objetivo de seguir con este importante crecimiento, Ginegorama va a continuar embarcándose en proyectos de I+D, para tratar de ofrecer el mejor servicio asistencial en su clínica. Por otra parte, Ginegorama tiene en cuenta que son muy importantes las investigaciones que se centran en grupos sociales concretos, que debido a sus circunstancias, necesitan de protocolos y técnicas especiales diferentes a las utilizadas de forma rutinaria, y como consecuencia, necesitan de una investigación y puesta a punto de las técnicas a utilizar.

Cabe destacar que en la actualidad, los desarrollos en cualquier área de la Medicina y, sobre todo, en Medicina Reproductiva, requieren de una investigación básica en la que sustentar su crecimiento y

evolución así como de una proyección social para la información de las personas que puedan ser beneficiarios de estos tratamientos.

Estas investigaciones sirven como punto de partida para mejorar sustancialmente los protocolos ya existentes, con el objetivo de aumentar las tasas de éxito de embarazo. Estas investigaciones se han trasladado en un aumento en el número de pacientes que acuden a la clínica.

Además de ofrecer servicios de reproducción asistida, Ginegorama también ofrece servicios de investigación tanto para entidades públicas como privadas, y se muestra abierta a la cooperación de proyectos en este sector, tal y como se refleja en sus escrituras de constitución.

Los profesionales de Ginegorama también ofrecen docencia sobre los últimos avances para los especialistas en Medicina Reproductiva, mediante conferencias, congresos, cursos y másteres. Estos eventos dan la oportunidad de divulgar los conocimientos de investigación y las nuevas técnicas que se desarrollan en la empresa.

7.3 Prestigio del investigador principal y líder de la propuesta, así como la solvencia del resto del equipo asignado.

Gorka Barrenetxea

El Dr. Gorka Barrenetxea es el Director médico de Ginegorama y máximo investigador de la misma con gran número de publicaciones en revistas científicas. Es licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Navarra en 1985 y Doctor por la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea y por Gynecology & Obstetrics Departement, Hospital Universitario de Cruces de Bilbao. Realizó el MIR en Ginecología y Obstetricia del Hospital de Curces de Bilbao y seguidamente ejerció de especialista y Responsable de la Unidad de Patología Mamaria en este mismo hospital. En el año 2000 pasa a ser Responsable de la Unidad de Reproducción Asistida y del Servicio de Ginecología de Quirón Bilbao hasta el 2014. Posteriormente pasó a ocupar el puesto de Jefe de Servicio de Obstetricia, Ginecología y Reproducción Asistida de la Clínica Praxis de Bilbao desde 2014 hasta 2015. Actualmente ocupa el puesto de Director de la nueva clínica Reproducción Bilbao (primera clínica propia de Ginegorama, desde 2016 hasta la actualidad). Asimismo, lleva desde el año 1993 compatibilizando su actividad asistencial con su actividad docente ejerciendo de profesor tanto como Colaborador o Asociado como Titular interino en la Universidad del País Vasco, en el Servicio Vasco de Salud, etc. Además, es miembro del Comité Ejecutivo de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) y ha participado en diferentes proyectos de

investigación financiados por la beca de intercambio con países de la CEE y COST, destacando los siguientes:

- Efecto del DHA sobre características morfológicas y análisis bioquímico de la composición de la membrana plasmática de los espermatozoides.
- Evaluación de la receptividad endometrial por medio de estudio in vitro de biomarcadores tisulares en pacientes tratadas con fecundación in vitro. Estudio de cohortes prospectivo de evaluación de prueba diagnóstica.
- Estudio exploratorio no experimental para identificar y validar biomarcadores en el fluido folicular, en células del cúmulus o de la granulosa o en medios de cultivo embrionario para la predicción del resultado de la implantación y embarazo del ciclo de la Tecnología de Reproducción Asistida.

- Realización de multitud de publicaciones nacionales e internacionales. Algunos ejemplos de publicaciones recientes:
  - ✓ ***Barrenetxea G**, García-Velasco JA, Aragón B, Osset J, Brosa M, López-Martínez N, Coroleu B. Comparative economic study of the use of corifollitropin alfa and daily rFSH for controlled ovarian stimulation in older patients: Cost-minimization analysis based on the PURSUE study. Reprod Biomed Soc Online. 2018 Feb 21;5:46-59. doi: 10.1016/j.rbms.2018.01.001. eCollection 2018 Apr.*
  - ✓ *Barasoain M, **Barrenetxea** G, Huerta I, Télez M, Criado B, Arrieta I. Study of the Genetic Etiology of Primary Ovarian Insufficiency: FMR1 Gene. Genes (Basel). 2016 Dec 13;7(12). pii: E123. Review.*
  - ✓ *Huerta I, Barasoain M, Télez M, Longa M, Muga J, **Barrenetxea G**, Ortiz-Lastra E, González J, Criado B, Arrieta I. Genotoxic evaluation of five Angiotenin II receptor blockers: in vivo and in vitro micronucleus assay. Mutat. Res., 2014, 767: 1-7*
  - ✓ *Barasoain M, **Barrenetxea G**, Ortiz-Lastra E, González J, Huerta I, Télez M, Ramírez JM, Domínguez A, Gurtubay P, Criado B, Arrieta I. Single nucleotide polymorphism and FMR1 CGG repeat instability in two Basque valleys. Ann Hum Genet, 2012; 76: 110-20. Doi: 10.1111/j.1469-1809.2011.00696.x Epub 2012*
  - ✓ *Barasoain M, **Barrenetxea G**, Huerta I, Télez M, Carrillo A, Pérez C, Criado B, Arrieta I. Study of FMR1 gene association with ovarian dysfunction in a sample from the Basque Country. Gene. 2013 May 25;521(1):145-9. doi: 0.1016/j.gene.2013.03.032. Epub 2013 Mar 26.*

- ✓ *Barrenetxea G. Iatrogenic diseases in humans: an update. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2012 Dec;165(2):165-9. doi: 10.1016/j.ejogrb.2012.08.014. Epub 2012 Aug 28*
- ✓ *Abanto E, **Barrenetxea G**., Agirregoikoa JA, Anarte C, De Pablo JL, Burgos J.a Oocyte donors: why not avoid the ovarian hyperstimulation syndrome? Hum Reprod, 2011; 26 (suppl.1): 234.*
- ✓ *Abanto E, Agirregoikoa JA, Anarte C, De Pablo JL, Delas Heras M. **Barrenetxea G**. Oocyte donors: is it worth a second attempt if we do not achieve pregnancy in the first ovarian stimulation? Fertil Steril, 2011; 96 (3): s264.*
- ✓ *Agirregoikoa JA, Ausin I, Jiménez R, Ganzabal T, López de Larruzea A,* **Barrenetxea G**. *Which is the best day for embryo transfer? Fertil Steril, 2008; 90: s437.*
- ✓ *De las Heras M, De Pablo JL, Navarro B, Agirregoikoa JA, **Barrenetxea G**. Vitrification and ovarian hyperstimulation syndrome. Hum Reprod, 2011; 26 (suppl.1): 167.*
- ✓ **G. Barrenetxea**, A. López de Larruzea, T. Ganzabal, R. Jiménez, K. Carbonero, M. Mandiola. Blastocyst culture after repeated failure of cleavage-stage embryo transfers: a comparison of day 5 and day 6 transfers. Fertil Steril, 2005; 83 (1): 49-53.
- ✓ ***G. Barrenetxea**, JA Agirregoikoa, MR Jimenez, A López de Larruzea, T Ganzábal, K Carbonero. Ovarian response and pregnancy outcome in poor-responder women: a randomized controlled trial on the effect of luteinizing hormone supplementation on in vitro fertilization cycles.Fértil Steril 2008; 89 (3): 546-53.*
- ✓ ***G. Barrenetxea**, L Barinaga-Rementería, A López de Larruzea, JA Agirregoikoa, M. Mandiola, K Carbonero. Heterotopic pregnancy: two cases and a comparative review. Fertil Steril, 2007; 87 (2): 417.e9-417.e15.*
- ✓ ***G. Barrenetxea**,. JA Agirregoikoa, R. Jiménez, I Ausín, T. Ganzábal, A López de Larruzea. . Intrauterine insemina.stion: is it worth attempting instead of IVF? Hum Reprod; 2008; 23 (suppl.1): 63.*
- ✓ ***G. Barrenetxea**. Iatrogenic prion diseases in humanas: an update. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2012;doi.org/10.1016/j.ejogrb.2012.08.014*
- ✓ *Jiménez MR, Ganzabal T, Ausin I, López de Larruzea A, Agirregoikoa JA, Barrenetxea G Analysis of clinical data in women with poycystic Ovary sindrome (PCOS) undergoing intrauterine insemination. A comparative study.Gynecol Endocrinol, 2008; 24 (Suppl.1).*
- ✓ *M. Barasoain, **G. Barrenetxea**, E. Ortiz-Lastra, J. González, I. Huerta, M. Télez, JM. Ramírez, A. Domínguez, P. Gurtubay, B. Criado, I. Arrieta. Single nucleotide polymorphism and FMR1 CGC repeat instability in two Basque valleys. Ann Hum Genet, 2012; 76 (2): 110-20. doi: 10.1111/j.1469-1809.2011.00696.x.*

- ✓ *M. Mandiola, K Carbonero, A Guembe, L Rodríguez, F Atutxa, Y Alvarez, F Coppola, A López de Larruzea, T Ganzábal, I Ausín, **G. Barrenetxea**,. JA Agirregoikoa, R. Jiménez. Pregnancy rates after more than 1000 cycles of intrauterine insemination with donor sperm. Hum. Reprod; 2008; 23 (suppl.1): 120.*

- Participación en contratos de investigación de especial relevancia con empresas y/o administraciones.
- Participación en congresos, ponencias, tales como el IV simposio Internacional. Avances en Medicina Perinatal, XX Congreso Español de Ginecología y Obstetricia (SEGO), XXI Reunión Nacional de Oncología Ginecológica y Patología Mamaria.
- DOS SEXENIOS DE INVESTIGACIÓN CONCEDIDOS
- Además, cabe destacar que es profesor titular de Ginecología y Obstetricia de la Universidad del País Vasco, donde ejerce su actividad docente en enseñanza teórica de segundo ciclo (Hospitales de Cruces y de Basurto).

7.4 Para cada empresa, relacionar los principales responsables técnicos participantes en el proyecto HAZITEK, adjuntando un breve curriculum vitae de los mismos incluyendo: nombre, cargo, edad, titulación, formación adicional significativa y experiencia laboral más significativa (empresa y cargo).

Los miembros del equipo que presenta este proyecto son de probada calidad científica, con gran experiencia en todos los campos de estudio en los que se basa esta investigación. Se considera adecuado y suficiente para la ejecución del proyecto, debido a su profundo conocimiento de las técnicas que se van a llevar a cabo.

A continuación, se incluye un breve resumen del curriculum vitae de los principales responsables técnicos del proyecto (se adjuntan los cv completos como documentación anexa).

Edurne Martínez:

Edurne Martínez Sanz es Licenciada en Bioquímica en el año 2006 por la Universidad de Navarra además de poseer un máster en Biotecnología en Reproducción humana por la Universidad de Valencia e IVI. Posteriormente se certificó como Embrióloga Clínica por el ESHRE en 2013. Desde entonces, ha alternado prácticas en el Hospital Marqués de Valdecilla y en la Universidad de Ginebra. A partir del año 2009, ha ejercido como Embrióloga del Laboratorio de Fecundación In Vitro de diversas clínicas: IVI

Madrid (2009), IVI Vigo (2010), Grupo Quirón Bilbao (2011-2014), Clínica Praxis Bilbao (2014-2015) y Reproducción Bilbao desde 2015 hasta la actualidad.

Destacar entre su producción científica el siguiente artículo:

- Martinez E, Domingo J, Pellicer A, García-Velasco J, Garrido N, Munoz E. Ovarian stimulation for fertility preservation reaches similar outcomes than normal IVF patients. an age-matched cases and controls study. Fertility and Sterility, Vol 94, Issue 4, Septiembre 2010.

María de las Heras Martínez

María de las Heras Martínez es Licenciada en Biología en el año 2007 por la Universidad Pompeu Fabra (Barcelona). Posteriormente, realizó dos másteres en cuatro años: Máster de Biología de la Reproducción y Técnicas de Reproducción Humana Asistida de la Universidad de Autónoma de Barcelona (UAB) en colaboración con el Instituto Universitario Dexeus (I.U.D.) y Máster Oficial en Investigación Biomédica de la Universidad del País Vasco (UPV). Todo ello, lo ha compatibilizado como embrióloga en el laboratorio de Andrología y Fecundación In Vitro del Servicio de Medicina de la Reproducción del Institut Universitari Dexeus en Barcelona (2008-2010) y en el laboratorio de Fecundación In Vitro del Servicio de Reproducción Asistida de la empresa Ginegorama (2010-actualidad). Destacar sus asociaciones profesionales y científicas a las que pertenece incluyendo la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), European Society of Human Reproduction and Embriology (ESHRE), Colegio Oficial de Biólogos de Euskadi (COBE) y miembro de la asociación para el estudio en Biología de la Reproducción (ASEBIR)

Destacar dentro de su producción científica los siguientes artículos como primera firmante:

- De las Heras M, Martinez E, Agirregoikoa JA, Barrenetxea G, De Pablo JL. Is a “Vitrify All” approach a valid paradigmto pursue to improve IVF Outcomes? The Journal of Clinical Embryology; Volume 17, Issue 3, May 2014
- De las Heras M, Arroyo G, Boada M, Coroleu B, Veiga A. División embrionaria temprana (EC) en transferencias únicas (sET) Revista Iberoamericana de Fertilidad; Vol.26, nº3, Mayo-Junio 2009

Mª José Martinez-Cañavate

María José Martinez-Cañavate Montero es Licenciada en medicina por la UAM en 1999 y especialista en Ginecología y Obstetricia con formación en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) en

Santander además de poseer el Master en Reproducción Humana IVI-Universidad Rey Juan Carlos de Madrid en 2006.

Entre su experiencia laboral se puede destacar su trabajo como especialista de reproducción asistida en la Unidad de Reproducción Asistida del Equipo IVI. Ha trabajado en la clínica de reproducción IVI Bilbao en el periodo de 2006 a 2018. En 2018 se ha incorporado al equipo de Reproducción Bilbao.

Maitane Bilbao Zabala

Maitane Bilbao Zabala es Graduada en Enfermería en la Universidad Europea de Madrid en 2013. Posteriormente realizó un curso como Experto Universitario de Urgencias y Emergencias a través de la Escuela Internacional de ciencias de la Salud en 2014 y un curso de Taxonomía enfermera NANDA-NOC-NIC en 2015.

Entre su experiencia laboral podemos destacar sus tareas en el Laboratorio Busturia, Análisis clínicos, así como su actividad en la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Quirón Bilbao, ambas durante el 2014. Finalmente Clínica Praxis Bilbao en la actualidad.

Alaine Abio Monasterio

Alaine es Diplomada Universitaria en Enfermería por la Universidad del País Vaso UPV-EHU en 1999. Posteriormente realizó un curso de técnico auxiliar de enfermería en el Instituto Emilio Campuzano que finalizó en el 2000. En el año 2008 realizó un curso de formación continuada en LOGOSS sobre “Nutrición y Bromatología”, en 2011 volvió a realizar dos cursos más en LOGOSS de “Dermatología” y “Salud Laboral”. En 2016 realizó un curso sobre “Intervención en reproducción asistida” en DELENA FORMACIÓN, y posteriormente en 2017-2018 realizó el Máster online en Enfermería en quirófano y cuidados intraoperatorios.

En cuanto a su experiencia podemos destacar su tarea como enfermera supervisora en la Clínica Henao entre 2012 y 2015 y su labor como enfermera responsable de seguimiento en la Clínica Eva Fertility en 2016. Alaine pasó a formar parte de la clínica Reproducción Bilbao en Enero de 2018.

Destacar dentro de su producción científicas el siguiente artículo como Autora:

- Abio Monasterio A. Toxina botulínica en estética ocular: actualización y abordaje enfermero. SEEOF, Volumen 23, Noviembre 2017.

Oihane Gómez Picado

Oihane es Licenciada en Química por el Centro Científico-Técnico de la Universidad Pública de La Rioja en 2008 y Licenciada en Bioquímica por la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad del País Vaso UPV-EHU en 2010. Magister en Reproducción Humana por la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid y la Sociedad Española de Fertilidad en 2011. Posee el Certificado en Genética Médica organizado por La Universidad de Valencia (ADEIT) en 2014. Más tarde en 2014 también realizó el Máster en Investigación Biomédica en la Facultad de Medicina de la Universidad del País Vasco UPV-EHU.

Entre su experiencia laboral destacan sus tareas como alumna interna en la Unidad de Biofísica de la UPV en un proyecto de identificación y caracterización de proteínas y lípidos, prácticas en la Clínica URH García del Real (Madrid) en 2011, Clínica Tambre (Madrid) EN 2011-2012, puesto de becaria en la Unidad de Reproducción Humana del Hospital Universitario de Cruces en Barakaldo (Bizkaia) y del grupo de investigación Innovación en Reproducción Humana Asistida de Biocruces en 2014. Desde 2014 hasta 2017 ha trabajado como embrióloga de la Clínica FIV Madrid-Valladolid y como responsable del laboratorio de FIV. Oihane pasó a formar parte de la clínica Reproducción Bilbao en Enero de 2018.

En su participación en proyectos de investigación destaca:

- A randomized, Double-Bind, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Safety and Efficacy of Study Drug in Subjects with Moderate to Severe Endometriosis-Associated Pain. Protocolo M12-671, financiadopor Theorem Clinical Research, 2013-2015. +Como subinvestigadora y subcoordinadora.
- Estudio multicéntrico de doble ciego, de doble simulación, aleatorizado con dos grupos para compara la eficiacia, seguridad y tolerabilidad de 30 mg diarios de didrogestoerona oral frente a 600 mg diarios de cápsulas de progesterona mucronizadaintravaginal como apoyo en la fase lútea de la fertilización in vitro (LOTUS I). Código de Promotor M13-563; Nª EudraCT: 2012-002215-26. Promotor: Abbott Laboratories GmbH, 2014-2015. Como subinvestigadora.
- Obesidad y ácidos grasos ovocitarios. Estudio OYAGO. 2013-2016. Como subinvestigadora.

En su producción científica, destacar el siguiente artículo:

- Matorras R, Aparicio V, Corcostegui B, Prieto B, Mendoza R, Ramón O, Gomez-Picado O, Exposito A. Failure of intrauterine insemination as rescue treatment in low responders with adequate HCG timing with no oocytes retrieved.. Reprod Biomed Online; 29(5):634-9, Noviembre 2014

7.4 Para cada empresa, relacionar los principales responsables técnicos participantes en el proyecto HAZITEK, adjuntando un breve curriculum vitae de los mismos incluyendo: nombre, cargo, edad, titulación, formación adicional significativa y experiencia laboral más significativa (empresa y cargo).

No aplica.

8. DESCRIPCIÓN DE LA GESTION DEL PROYECTO.

8.1. Definición de la **estructura organizativa** del proyecto.

8.2. **Mecanismos para el seguimiento** de las tareas técnicas a realizar y seguimiento y justificación de los gastos a realizar por los diferentes miembros del consorcio.

8.3. **Mecanismos para la coordinación y aprovechamiento** de los proyectos de Investigación Básica Orientada en áreas estratégicas. (principalmente proyectos ETORTEK/ELKARTEK)

8.4. **Gestión de la adaptación** del consorcio ante cambios de los socios y adopción de nuevos socios.

8.5. **Descripción de las herramientas informáticas** a utilizar por el consorcio que permitan el seguimiento monitorizado por parte de los miembros consorciados y de los organismos externos de evaluación y seguimiento, en la ejecución de las actividades (cumplimiento y desviaciones) tanto técnica como económicamente.

8.6. **Sistema de Gestión** e **intercambio de conocimientos** existentes y generados en el proyecto por parte de los miembros del consorcio.

8.7. **Riesgos técnicos** del proyecto y **soluciones previstas**.

8.1 Definición de la estructura organizativa del proyecto.

Líder del proyecto: Ginegorama S.L., empresa que ha participado previamente en otros proyectos de investigación.

Para asegurar que la gestión del proyecto sea un éxito se han definido y estructurado las funciones de gestión y coordinación del proyecto. El plan de trabajo se ha estructurado de forma que son claras las dependencias entre las diferentes áreas, permitiendo la realización de tareas de forma paralela.

- Responsable técnico: Gorka, Director Médico
- Responsable económico-administrativo: Amaia García

Edurne Martínez será encargada junto con Gorka de supervisar la correcta ejecución del proyecto además del correcto seguimiento de control establecido:

1) Recogida de datos: recogida de datos periódica para efectuar un cálculo de los recursos consumidos en el proyecto.
2) Seguimiento periódico (bimensual): con la información obtenida en la fase de recogida de datos, se analizará el grado de avance frente a lo previsto y detectar posibles desviaciones.
3) Control del Alcance del Proyecto: en caso de que en el seguimiento periódico se observe un cambio significativo en las variables de gestión del proyecto, se procederá a replanificar el mismo.

Asimismo, se encargarán de realizar las siguientes tareas para evaluar el avance del proyecto:

- Coordinar y gestionar la globalidad del proyecto: planificación de las actividades del proyecto, coordinar las distintas líneas y equipos de trabajo, el control de su ejecución, así como el seguimiento y reajuste adecuado.
- Identificación de cuellos de botella, riesgos, desviaciones, etc.
- Proponer modificaciones científico-tecnológicas como planes de contingencia o soluciones ante problemas detectados en la ejecución de las actividades.
- Identificar problemas de ejecución de las tareas de proyectos.
- Conocer la marcha del proyecto, así como de aspectos relevantes que afectan a la normal ejecución del proyecto y que requieren de una intervención de la dirección.
- Gestionar los aspectos relacionados con la justificación técnica y económica del proyecto.

8.2 Mecanismos para el seguimiento de las tareas técnicas a realizar y seguimiento y justificación de los gastos a realizar por los diferentes miembros del consorcio.

No aplica

8.3 Mecanismos para la coordinación y aprovechamiento de los proyectos de Investigación Básica Orientada en áreas estratégicas. (principalmente proyectos ETORTEK/ELKARTEK)

En los mecanismos de coordinación cabe destacar la organización del proyecto, estructurado en fases, lo que permitirá evaluar el avance de las mismas y con ello del proyecto. En las reuniones de coordinación del proyecto se tratarán los siguientes puntos:

- Presentación de las actividades técnicas realizadas por Reproducción Bilbao y la subcontratación.
- Resultados obtenidos.
- Plan de trabajo previsto.
- Presupuesto ejecutado a la fecha y estimación de cierre.

Las reuniones de coordinación también servirán para abordar aspectos de comercialización de los resultados del proyecto, de manera que dichas actividades, así como las de difusión, sean realizadas de manera coordinada.

Este proyecto contribuye al desarrollo del ámbito de las biociencias en el País Vasco, definido como estratégico en el RIS3 de Euskadi.

8.4 Gestión de la adaptación del consorcio ante cambios de los socios y adopción de nuevos socios.

No aplica

8.5 Descripción de las herramientas informáticas a utilizar por el consorcio que permitan el seguimiento monitorizado por parte de los miembros consorciados y de los organismos externos de evaluación y seguimiento, en la ejecución de las actividades (cumplimiento y desviaciones) tanto técnica como económicamente.

No aplica

8.6 Sistema de Gestión e intercambio de conocimientos existentes y generados en el proyecto por parte de los miembros del consorcio.

No aplica

8.7 Riesgos técnicos del proyecto y soluciones previstas.

Muchos de los estudios y actuaciones desarrollados se basan en problemática y tratamientos que actualmente se sustentan con hipótesis y teorías que apuntan hacia influencias claras de determinadas variables, pero no permiten llegar a conclusiones muy certeras sobre beneficios y desventajas del uso de estos protocolos.

Es por ello, que, en línea con el afán de ser pioneros en medicina reproductiva, la clínica Ginegorama pone en marcha este proyecto que requiere de unas etapas de investigación en las que sustentar el posterior desarrollo de un nuevo servicio mediante el uso de factores de crecimiento para mejorar las tasas de éxito reproductivo en pacientes con baja respuesta ovárica.

Se debe destacar la gran limitación técnica existente en la materialización de los proyectos, ya que las condiciones teóricas u objetivos no siempre corresponden con los resultados obtenidos.

Si bien se han realizado diferentes estudios con estos factores de crecimiento, estos o bien se han realizado en modelo murino, con lo cual el cambio a realizarlo en modelo humano supone un elevado reto tecnológico. Y, el único estudio realizado en humanos se llevó a cabo únicamente con 8 pacientes y no se disponía de grupo control, por lo que el grado de incertidumbre sobre los resultados finales existe.

Por ello, se van a realizar indagaciones planificadas para ampliar estos conocimientos científicos para posteriormente validar una nueva herramienta diagnóstica de actuación médica.

Ginegorama tiene la capacidad de desarrollo e investigación suficiente, y la implicación necesaria para emprender el presente proyecto debido al gran interés que presentaría en la mejora del bienestar humano, a través del desarrollo de nuevos servicios aplicando una novedosa estrategia nunca aplicada para el tratamiento de infertilidad, específicamente, en el aumento del número de ovocitos disponibles mediante la activación de folículos primordiales quiescentes.

Ginegorama ha identificado los riesgos desde el punto de vista tecnológico del proyecto y ha definido las estrategias para su reducción/eliminación:

- Realización de actuación de vigilancia tecnológica: Ginegorama asistirá a ferias y congresos científicos con objeto de conocer todos los avances que se produzcan en relación a la tecnología empleada en el proyecto.
- Desarrollo de protocolos compatibles con el trabajo diario tanto en laboratorios como en la clínica: El equipo de profesionales de Ginegorama que participará el proyecto conoce profundamente los procedimientos que se llevan a cabo diariamente en los centros de reproducción asistida por lo que en todo momento se trabajará en línea con las necesidades del trabajo tanto en laboratorio como con pacientes del día a día.

Por otro lado, Ginegorama ha identificado los riesgos desde el punto de vista de mercado del proyecto y ha definido las estrategias para su reducción/eliminación:

- Se requiere un conocimiento en profundidad del sector para la implementación de la nueva herramienta con objeto de adaptar los procedimientos de aplicación a las necesidades de la práctica clínica diaria. Ginegorama, y su clínica Reproducción Bilbao, cuentan con reconocimiento y renombre en el País Vasco por lo que conocen perfectamente las necesidades de los profesionales de la reproducción asistida, así como de los pacientes.

Ello permitirá que de manera permanente a lo largo del proyecto se tenga presente el usuario final de la nueva herramienta terapéutica.

- Será necesario realizar una importante acción comercial destacando las ventajas de la herramienta pionera en el sector ya que no existen precedentes en su uso en reproducción asistida.

Cabe mencionar que se espera una alta aceptación en el mercado de la nueva herramienta terapéutica por parte de todas las pacientes con baja respuesta ovárica, ya que actualmente no tienen una alternativa para evitar someterse a ciclos repetidos de estimulación y muchas veces tienen que acabar sometiéndose a tratamientos de ovodonación.

Con todo ello, en todo proyecto de investigación existen dificultades técnicas y riesgos tecnológicos inherentes por la incertidumbre que supone embarcarse en campos o aplicaciones poco estudiados o sobre los que todavía existe una falta de conocimiento. Así pues, durante el transcurso de cualquier proyecto de investigación pueden surgir problemas inesperados que se tengan que subsanar de inmediato para no alterar la correcta ejecución del mismo. Se ha realizado un análisis de los posibles riesgos del proyecto y se ha planteado un plan de contingencias en caso de desviaciones significativas respecto a lo que se plantea en la memoria actual con la probabilidad de que ocurran y los pasos a seguir para su respectiva mitigación:

RIESGO	PROBABILIDAD	IMPACTO	ACCIÓN DE MITIGACIÓN – PLAN DE CONTINGENCIA
Obtener un tamaño muestral adecuado.	Media	Bajo	Considerando el número de pacientes que llegan a la clínica cada mes que cumplen con los criterios de inclusión del proyecto, se considera que no debe haber problemas para alcanzar una N adecuada. No obstante, se trata de un aspecto que no se puede controlar y en caso de que fuese necesario se intensificaría el reclutamiento incluyendo a un ginecólogo más dentro del proyecto, buscando colaboraciones puntuales con otros centros o alargando el tiempo estimado para las fases de reclutamiento de pacientes.
Que no se consiga una preparación adecuada del PRP de las pacientes.	Muy baja	Alto	Se subcontratará a Laboratorios Axpe, empresa con una gran experiencia en la preparación de este tipo de muestras para que asesore a los trabajadores de Ginegorama durante la preparación del PRP autólogo de cada una de

			las pacientes por lo que la probabilidad de que esto ocurra es muy baja. No obstante, en caso de que ocurriese cualquier problema se revisaría el protocolo de extracción y procesamiento de muestras de sangre, asegurando unas condiciones adecuadas.
Que el tratamiento con factores de crecimiento no tenga el efecto esperado sobre las pacientes.	Muy Baja	Muy Alto	Se ha realizado una exhaustiva búsqueda bibliográfica con la que se respalda la hipótesis planteada en el proyecto llevada a cabo por un personal investigador altamente cualificado y con experiencia demostrable en el sector, por lo que la probabilidad de que esto ocurra es muy baja. Además, se probarán diferentes dosis y concentraciones de factores de crecimiento.
Que la nueva herramienta terapéutica no permita mejorar la calidad y cantidad de ovocitos.	Baja	Medio	Se revisarían todos los datos evaluados a lo largo del proyecto, ajustando los diferentes pasos del mismo hasta conseguir un mayor número de ovocitos. En caso de que la causa se deba a la dosis y concentraciones utilizadas se contempla incrementar el número de subgrupos incluidos. casos de ambos grupos.

Tabla 5. *Plan de contingencia con identificación de riesgos y acciones a realizar*

No obstante, Ginegorama posee el potencial para superar estas limitaciones ya que sus profesionales están altamente cualificados y desarrollan un trabajo en el sector de la reproducción asistida de alto nivel fomentando siempre la investigación, la innovación y la excelencia profesional. Además, dentro del proyecto subcontratará a Laboratorios Axpe, creando un equipo multidisciplinar con gran experiencia en todas las áreas de conocimiento implicadas en el proyecto. Es por ello que estas limitaciones no supondrán un problema para el desarrollo del presente proyecto.

Por último y no por ello menos importante, cabe destacar el esfuerzo económico y humano asociado a realizar un proyecto de esta envergadura. En Ginegorama son conocedores de la importancia de la I+D como mejora competitiva y llevan años impulsando proyectos de este tipo. Además, cuentan con personal altamente cualificado que se forma continuamente para seguir los últimos avances en su campo de conocimiento y que además tienen una fuerte e incansable vocación investigadora.

9. JUSTIFICACIÓN DE GASTOS.

9.1. Justificar el presupuesto global de acuerdo con los objetivos planteados y el impacto del mismo en sus socios y en el conjunto de la Investigación Industrial Estratégica para el País Vasco.

9.2. Justificar el presupuesto de cada participante de acuerdo con el papel desarrollado en el proyecto, su contribución a los objetivos al mismo y su coherencia en relación al tamaño y estructura económico-financiera actual de cada una de las entidades que componen el consorcio.

Descripción y justificación del presupuesto del proyecto por conceptos (a nivel de cada participante):

9.3. Personal: Peso del proyecto con respecto a la capacidad de I+D de la organización, especificar participación y niveles de dedicación de personal actualmente en plantilla y/o nuevas incorporaciones

9.4. Subcontratación: Relacionar y describir las subcontrataciones existentes con entidades de la RVCTI y otras colaboraciones externas significativas. Se indicarán respectivamente el nombre, ubicación, actividad, tareas a realizar, y presupuesto previsto.

9.5. Amortización de instrumentos y equipamiento utilizado en el proyecto: Describir los aparatos y equipos de investigación a adquirir para la realización del proyecto, aportando para cada uno de ellos una descripción de sus características principales o ficha técnica y su finalidad en el proyecto. Si no es posible concretar alguno de ellos, justificar dicha imposibilidad.

9.6. Otros gastos del proyecto; Descripción de los gastos en materiales, derechos de la propiedad intelectual para la realización del proyecto y su necesidad en el proyecto.

9.1 Justificar el presupuesto global de acuerdo con los objetivos planteados y el impacto del mismo en sus socios y en el conjunto de la Investigación Industrial Estratégica para el País Vasco.

A continuación, se detalla el presupuesto total del proyecto en la anualidad 2018, para cada una de las partidas del proyecto:

PARTIDAS	2019	2020
PERSONAL	103.983,92 €	124.524,89 €
COSTES INDIRECTOS	15.597,59 €	18.678,73 €
AMORTIZACIÓN EQUIPOS	7.887,58 €	11.042,61 €
SUBCONTRATACIÓN	5.000,00 €	7.500,00 €
SUBCONTRATACIÓN RVCTI	0,00 €	0,00 €
GASTOS MATERIAL FUNGIBLE	12.705,00 €	15.750,00 €
GASTOS AUDITORÍA	1.500,00 €	1.500,00 €
TOTAL	**146.674,09 €**	**178.996,23 €**

Tabla 6. *Presupuesto total del proyecto para las anualidades 2019 y 2020.*

9.2 Justificar el presupuesto de cada participante de acuerdo con el papel desarrollado en el proyecto, su contribución a los objetivos al mismo y su coherencia en relación al tamaño y estructura económico-financiera actual de cada una de las entidades que componen el consorcio.

No aplica.

9.3 Personal: Peso del proyecto con respecto a la capacidad de I+D de la organización, especificar participación y niveles de dedicación de personal actualmente en plantilla y/o nuevas incorporaciones

Seguidamente se muestran en las siguientes tablas, el personal implicado en el proyecto, las horas que van a realizar en el mismo cada uno de ellos, así como los importes imputados de cada uno de ellos.

PERSONAL	TITULACIÓN	2019	2020
Edurne Martinez Sanz	Licenciado en Bioquímica	350	350
Gorka Barrenetxea Ziarrusta	Licenciado en Medicina: Ginecología	350	450
Maitane Bilbao Zabala	Diplomada en Enfermería	300	300
Maria De Las Heras Martinez	Licenciado en Biología	300	300
Alaine Abio Monasterio	Diplomada en Enfermería	350	500
Oihane Gómez Picado	Licenciada en Química y Bioquímica	300	400
Mª José Martinez-Cañavate	Licenciado en Medicina: Ginecología	425	550
TOTAL HORAS		**2375**	**2850**
TOTAL COSTE		**103.983,92 €**	**124.524,89 €**

Tabla 7. *Presupuesto de la partida de personal del proyecto en la anualidad 2019 y 2020*

A continuación, se indican todas las personas que participarán en el proyecto, así como las funciones que llevarán a cabo en el mismo:

Gorka Barrenetxea Ziarrusta

Gorka Barrenetxea es el director Gerente de la Clínica Ginegorama, su misión principal será la coordinación, seguimiento, participación en la realización de los tratamientos y establecimiento de las conclusiones.

Las principales funciones que desarrollará en el proyecto serán las siguientes:

- Supervisará de cada una de las tareas durante el desarrollo del proyecto.
- Coordinará y seguimiento durante todas las tareas del proyecto.
- Establecerá de las bases del proyecto y de los objetivos concretos.
- Determinará de las diferentes variables a controlar durante la realización del proyecto y establecimiento de estrategias para la solución de los contratiempos que puedan surgir.
- Evaluará de los resultados durante el desarrollo del proyecto.
- Llevará a cabo reuniones de coordinación con personal para supervisar el correcto desarrollo del proyecto y determinar el avance del mismo.
- Definirá los procedimientos a seguir durante el proyecto.
- Realizará reuniones de coordinación entre el equipo investigador y con Laboratorios Axpe.
- Analizará el historial clínico de las pacientes.
- Realizará el reclutamiento de las nuevas pacientes a incluir en el estudio
- Supervisará de la estimulación ovárica controlada y suplementación hormonal a las pacientes bajo control ecográfico durante los tres ciclos de estimulación.
- Realización de la punción folicular a las pacientes en los tres ciclos de estimulación
- Realizará la inyección de los factores de creciente en cada uno de los óvulos de las pacientes incluidas en el grupo de estudio durante la primera punción.
- Llevará a cabo el seguimiento de los ciclos de estimulación ovárica controlada.
- Realizará la transferencia embrionaria del embrión seleccionado en cada una de las pacientes
- Llevará a cabo el seguimiento de la paciente tras la transferencia
- Evaluará de los resultados obtenidos
- Desarrollará de la nueva herramienta terapéutica.

María José Martinez-Cañavate Montero

María José Martinez-Cañavate Montero es Licenciada en medicina y a lo largo del proyecto participará junto con Gorka en el establecimiento de las bases del proyecto, supervisión de los diferentes ensayos y establecimiento de las conclusiones. Las principales funciones que desarrollará en el proyecto serán las siguientes:

- Supervisará de cada una de las tareas durante el desarrollo del proyecto.
- Coordinará y seguimiento durante todas las tareas del proyecto.
- Establecerá de las bases del proyecto y de los objetivos concretos.

- Determinará de las diferentes variables a controlar durante la realización del proyecto y establecimiento de estrategias para la solución de los contratiempos que puedan surgir.
- Evaluará de los resultados durante el desarrollo del proyecto.
- Llevará a cabo reuniones de coordinación con personal para supervisar el correcto desarrollo del proyecto y determinar el avance del mismo.
- Definirá los procedimientos a seguir durante el proyecto.
- Realizará reuniones de coordinación entre el equipo investigador y con Laboratorios Axpe.
- Analizará el historial clínico de las pacientes.
- Realizará el reclutamiento de las nuevas pacientes a incluir en el estudio
- Supervisará de la estimulación ovárica controlada y suplementación hormonal a las pacientes bajo control ecográfico durante los tres ciclos de estimulación.
- Realización de la punción folicular a las pacientes en los tres ciclos de estimulación
- Realizará la inyección de los factores de creciente en cada uno de los óvulos de las pacientes incluidas en el grupo de estudio durante la primera punción.
- Llevará a cabo el seguimiento de los ciclos de estimulación ovárica controlada.
- Realizará la transferencia embrionaria del embrión seleccionado en cada una de las pacientes
- Llevará a cabo el seguimiento de la paciente tras la transferencia
- Evaluará de los resultados obtenidos
- Desarrollará de la nueva herramienta terapéutica.

Edurne Martinez Sanz

Edurne Martínez Sanz es Licenciada en Bioquímica. A lo largo del proyecto participará junto con Gorka en el establecimiento de las bases del proyecto, supervisión de los diferentes ensayos y establecimiento de las conclusiones. Las principales funciones que desarrollará en el proyecto serán las siguientes:

- Supervisará de cada una de las tareas durante el desarrollo del proyecto.
- Coordinará y seguimiento durante todas las tareas del proyecto.
- Establecerá de las bases del proyecto y de los objetivos concretos.
- Determinará de las diferentes variables a controlar durante la realización del proyecto y establecimiento de estrategias para la solución de los contratiempos que puedan surgir.
- Evaluará de los resultados durante el desarrollo del proyecto.
- Participará en las reuniones de coordinación con personal para supervisar el correcto desarrollo del proyecto y determinar el avance del mismo.
- Evaluará el estado de madurez de los ovocitos obtenidos

- Realizará la vitrificación de los ovocitos obtenidos en los dos primeros ciclos
- Realizará la desvitrificación de los ovocitos
- Con el asesoramiento de Laboratorios Axpe realizará la preparación de PRP a partir de las muestras de sangre de las pacientes
- Se encargarán de los análisis macroscópicos (pH, volumen, licuefacción, color y aspecto) y microscópicos (concentración espermática, movilidad, morfología y presencia de otros elementos celulares
- Realizarán el proceso de decumulación de los ovocitos con la solución tamponadora HEPES.
- Supervisarán la correcta captación de los espermatozoides para su posterior uso en ICSI.
- Realizarán la microinyección intracitoplasmática de los ovocitos.
- Realizarán seguimiento de la evolución embrionaria, mediante el análisis de imágenes y de resultados durante la incubación de las muestras en el Embryoscope.
- Vitrificará los embriones hasta obtener los resultados de PGS.
- Realizará la biopsia de trofoectodermo
- Evaluará de los resultados obtenidos
- Desarrollará de la nueva herramienta terapéutica.

Maria De Las Heras Martinez

María de las Heras Martínez es Licenciada en Biología. Las principales funciones que desarrollará en el proyecto serán las siguientes:

- Evaluará el estado de madurez de los ovocitos obtenidos
- Realizará la vitrificación de los ovocitos obtenidos en los dos primeros ciclos
- Realizará la desvitrificación de los ovocitos
- Con el asesoramiento de Laboratorios Axpe realizará la preparación de PRP a partir de las muestras de sangre de las pacientes
- Se encargarán de los análisis macroscópicos (pH, volumen, licuefacción, color y aspecto) y microscópicos (concentración espermática, movilidad, morfología y presencia de otros elementos celulares
- Realizarán el proceso de deculminación de los ovocitos con la solución tamponadora HEPES.
- Supervisarán la correcta captación de los espermatozoides para su posterior uso en ICSI.
- Realizarán la microinyección intracitoplasmática de los ovocitos.
- Realizarán seguimiento de la evolución embrionaria, mediante el análisis de imágenes y de resultados durante la incubación de las muestras en el Embryoscope.

- Vitrificará los embriones hasta obtener los resultados de PGS.
- Realizará la biopsia de trofoectodermo

Oihane Gómez Picado

Oihane es Licenciada en Química. Las principales funciones que desarrollará en el proyecto serán las siguientes:

- Evaluará el estado de madurez de los ovocitos obtenidos
- Realizará la vitrificación de los ovocitos obtenidos en los dos primeros ciclos
- Realizará la desvitrificación de los ovocitos
- Con el asesoramiento de Laboratorios Axpe realizará la preparación de PRP a partir de las muestras de sangre de las pacientes
- Se encargarán de los análisis macroscópicos (pH, volumen, licuefacción, color y aspecto) y microscópicos (concentración espermática, movilidad, morfología y presencia de otros elementos celulares).
- Realizarán el proceso de deculminación de los ovocitos con la solución tamponadora HEPES.
- Supervisarán la correcta captación de los espermatozoides para su posterior uso en ICSI.
- Realizarán la microinyección intracitoplasmática de los ovocitos.
- Realizarán seguimiento de la evolución embrionaria, mediante el análisis de imágenes y de resultados durante la incubación de las muestras en el Embryoscope.
- Realizará la biopsia de trofoectodermo
- Vitrificará los embriones hasta obtener los resultados de PGS.

Maitane Bilbao Zabala

Maitane Bilbao Zabala es Diplomada en Enfermería, las principales funciones que desarrollará en el proyecto serán las siguientes:

- Informará y tramitará el consentimiento de los pacientes durante el reclutamiento.
- Recogerá los datos clínicos de las pacientes.
- Revisará el historial médico de las pacientes participantes en el proyecto para determinar su inclusión junto con los ginecólogos.
- Asistirá a los ginecólogos durante las visitas con las pacientes y a lo largo de la estimulación ovárica controlada

- Realizará la extracción de sangre a las pacientes con la que preparar el PRP
- Asistirá a los médicos durante la punción folicular
- Etiquetará todas las muestras obtenidas a lo largo del proyecto
- Asistirá a los médicos durante la transferencia embrionaria
- Registrará los datos obtenidos en la base de datos del proyecto

Alaine Abio Monasterio

Alaine Abio Monasterio es Graduada en Enfermería, las principales funciones que desarrollará en el proyecto serán las siguientes:

- Informará y tramitará el consentimiento de los pacientes durante el reclutamiento.
- Recogerá los datos clínicos de las pacientes.
- Revisará el historial médico de las pacientes participantes en el proyecto para determinar su inclusión junto con los ginecólogos.
- Asistirá a los ginecólogos durante las visitas con las pacientes y a lo largo de la estimulación ovárica controlada
- Realizará la extracción de sangre a las pacientes con la que prepara el PRP
- Asistirá a los médicos durante la punción folicular
- Etiquetará todas las muestras obtenidas a lo largo del proyecto
- Asistirá a los médicos durante la transferencia embrionaria
- Registrará los datos obtenidos en la base de datos del proyecto

9.4 Subcontratación: Relacionar y describir las subcontrataciones existentes con entidades de la RVCTI y otras colaboraciones externas significativas. Se indicarán respectivamente el nombre, ubicación, actividad, tareas a realizar, y presupuesto previsto.

Para la realización del presente proyecto será necesaria la subcontratación de Laboratorio Axpe según se ha argumentado a lo largo de la Memoria. Laboratorio Axpe está ubicada en la calle Ercilla 18 (Plaza Jado) en Bilbao 48009. A continuación, se presenta el presupuesto desglosado de su participación en el proyecto:

Laboratorio Axpe lleva a cabo un amplio catálogo de pruebas de laboratorio entre las que destacan: screening prenatal, curva de glucemia para embarazadas, diferentes pruebas genéticas (cribado prenatal

veriref, cribado prenatal veriref plus, cribado prenatal veriref plus 24, cribado prenatal trisonim advance, cribado prenatal trisonim premiun, cribado prenatal myprenatal bemygene, etc.)

Pertenecen al cuadro médico de las principales compañías de seguro implantadas en Bizkaia. Son especialistas en extracciones de sangre difíciles, como recién nacidos, niños y pacientes adultos en quimioterapia o con finas venas por constitución. Además, congelan suero de todos los pacientes durante 1 mes, lo cual les permite realizar nuevas determinaciones, o comprobaciones sin tener que volver a extraer sangre.

Laboratorio Axpe, cuenta con 100 años de experiencia en el sector y cuenta con personal con perfil docente e investigador altamente cualificado **para llevar a cabo el asesoramiento en la obtención de factores de crecimiento de las pacientes.** Con ello, Laboratorios Axpe participará en el diseño del estudio, supervisará y asesorará en la obtención de factores de crecimiento a partir de muestras de sangre de las propias pacientes y evaluará junto con Gorka y Edurne la evolución del proyecto para asegurar que se consigue desarrollar la nueva herramienta terapéutica. El gasto de la subcontratación se define a continuación:

SUBCONTRATACIÓN	2019	2020
Laboratorio Axpe	5.000,00 €	7.500,00 €
TOTAL	5.000,00 €	7.500,00 €

Tabla 8. *Detalle del presupuesto de subcontratación en la anualidad de 2019 y 2020.*

9.5 Amortización de instrumentos y equipamiento utilizado en el proyecto: Describir los aparatos y equipos de investigación a adquirir para la realización del proyecto, aportando para cada uno de ellos una descripción de sus características principales o ficha técnica y su finalidad en el proyecto. Si no es posible concretar alguno de ellos, justificar dicha imposibilidad.

Será necesario el gasto de **7.887,58 € en 2019** y de **11.042,61 € en 2020** en equipos necesarios para acometer las diferentes pruebas y ensayos a realizar en el proyecto.

A continuación, se describe el uso empleado de cada uno de los equipos en el proyecto, los cuales están siendo amortizados por la empresa:

ECOGRAFO

Estos sistemas son capaces de obtener y construir imágenes volumétricas en tiempo real. Pueden desplegar hasta gran cantidad de imágenes volumétricas por segundo. Además, también realizan las imágenes en 2D, para una confianza aún mayor en los diagnósticos y de ecografía general. Estos equipos son la base de los seguimientos de las pacientes a nivel ginecológico, tanto en reconocimientos previos al estudio como durante el estudio y después de éste.

Se utilizarán tanto para los exámenes previos en la selección de pacientes como para diversas intervenciones y seguimiento de los ciclos de ICSI. Con su ayuda se llevará a cabo la correcta comprobación de la implantación y gestación embrionaria

Será empleado en la fase 2 del proyecto "Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento" y en la fase 3 del proyecto: "ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica".

EMBRYOSCOPE

Se trata de un incubador completamente automatizado con ciclos de medidas programables para su uso sin atención. Presenta además una estación de trabajo compuesta por un ordenador y software que recibe y trata las imágenes enviadas por el Embryoscope para seleccionar y evaluar los embriones de mejor calidad, mediante el análisis de imágenes.

Se utilizará para hacer mediciones, realizar un análisis por medio de imágenes en tiempo real (cuantificar en el tiempo las divisiones celulares y el desarrollo morfológico de los embriones) y controlar la temperatura y dióxido de carbono de los embriones estudiados.

Será empleado en la fase 3 del proyecto: "ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica".

ESTACION DE TRABAJO

Superficie de trabajo donde se manipularán las muestras que se procesarán. Se trata de cabinas de flujo laminar o bancadas de laboratorio con superficie de trabajo termostatizada y lupa integrada que permiten agilizar el manejo de muestras en las mejores condiciones de temperatura y asepsia durante los diversos procesos de estudio. Su función es la de mantener un área estéril y libre de partículas, especialmente de

posibles contaminantes (bacterias, levaduras, etc.) que puedan acceder al cultivo o manipulación de las muestras. Algunas de ellas cuentan con una superficie calefactada la cual permite mantener las muestras atemperadas en las condiciones de Temperatura adecuadas mediante el proceso de micromanipulación de las mismas.

Se utilizarán en la manipulación de las muestras biológicas para evitar contaminaciones externas. Estos equipos son cabinas de flujo laminar que se utilizarán para la manipulación de las muestras seminales en el estudio de los parámetros básicos del semen, extracción ovocitaria del líquido folicular, la preparación de medios de cultivo, valoraciones morfológicas, etc. Es decir, será imprescindible en el manejo de las muestras celulares: ovocitos, espermatozoides, embriones en condiciones de esterilidad absoluta a lo largo de todo el proyecto.

Será empleado en la fase 2 del proyecto “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento” y en la fase 3 del proyecto: “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

INCUBADORA

Estos incubadores se utilizarán para mantener las muestras biológicas (celulares) en las condiciones de Tª y CO_2 óptimos para el correcto desarrollo del estudio, antes de la inseminación, durante y posteriormente.

Este equipo está provisto de una puerta de doble cristal que permitirá la observación de las muestras sin necesidad de abrir la cámara de incubación, evitando de esta manera variaciones en los parámetros controlados que pudieran generar a las células estrés durante la incubación que podrían afectar a los resultados. Además, permitirán programar los tiempos de incubación para cada tipo de muestra biológica según sea necesario.

Será empleada en la fase 2 del proyecto “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento” y en la fase 3 del proyecto: “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

MICROSCOPIO INVERTIDO

El microscopio invertido, a diferencia del clásico más conocido como microscopio óptico de campo claro, es una variación en la estructura y distribución de los componentes de este último. La fuente de luz en el microscopio invertido, está ubicada por encima de la platina y el principio de funcionamiento y formación

de la imagen es el mismo que el del microscopio tradicional. Los objetivos y el revólver están debajo de la platina orientados hacia arriba. Los oculares sobre estar en la misma orientación se sitúan por debajo de la platina, recibiendo la luz reflejada por su óptica hasta el usuario. La platina permanece entre la fuente de iluminación y el revólver con los objetivos. Este tipo de microscopios se emplea principalmente para cultivos celulares sin una preparación previa, monitorear actividades y en el caso de la fecundación in vitro, mediante el uso de micromanipuladores y microinyectores, permite la fecundación de óvulos mediante la inyección de espermatozoides seleccionados e introducidos mediante técnicas que exigen gran destreza.

Se utilizará, junto con los micromanipuladores y microinyectores, en la realización de ICSI, en la evaluación de la fecundación, en la evaluación de embriones y en general todas las técnicas de alta complejidad. Será empleado en la fase 3 del proyecto: "ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica".

ACTIVOS					
EQUIPO	**COSTE EQUIPO**	**AMORT. CUOTA 2019 SIN IVA**	**DEDIC. EN EL PROYECTO 2019**	**MESES DE DEDIC. 2019**	**COSTE 2019**
ECOGRAFO	27.771,18 €	5.049,27 €	25%	8	841,55 €
EMBRYOSCOPE	109.670,00 €	19.939,96 €	25%	8	3.323,33 €
ESTACION DE TRABAJO	39.877,20 €	7.250,40 €	25%	8	1.208,40 €
INCUBADORA	29.912,85 €	5.438,73 €	25%	8	906,46 €
MICROSCOPIO INVERTIDO	53.059,05 €	9.647,13 €	25%	8	1.607,86 €
TOTAL					**7.887,58 €**

Tabla 9. *Detalle del presupuesto de activos en la anualidad de 2019.*

ACTIVOS					
EQUIPO	**COSTE EQUIPO**	**AMORT. CUOTA 2020 SIN IVA**	**DEDIC. EN EL PROYECTO 2020**	**MESES DE DEDIC. 2020**	**COSTE 2020**
ECOGRAFO	27.771,18 €	5.049,27 €	35%	8	1.178,16 €
EMBRYOSCOPE	109.670,00 €	19.939,96 €	35%	8	4.652,66 €
ESTACION DE TRABAJO	39.877,20 €	7.250,40 €	35%	8	1.691,76 €
INCUBADORA	29.912,85 €	5.438,73 €	35%	8	1.269,04 €
MICROSCOPIO INVERTIDO	53.059,05 €	9.647,13 €	35%	8	2.251,00 €
TOTAL					**11.042,61 €**

Tabla 10. *Detalle del presupuesto de activos en la anualidad de 2020.*

9.6 Otros gastos del proyecto; Descripción de los gastos en materiales, derechos de la propiedad intelectual para la realización del proyecto y su necesidad en el proyecto.

En otros gastos se incluyen los asociados a materiales fungibles. Será necesario un gasto total de **12.705,00 € en 2019** y de **15.750,00 € en 2020**. A continuación, se describe el uso que cada uno de ellos va a tener en la investigación:

GEL ECÓGRAFO

Este gel específico para la realización de las ecografías basales (no vaginales) durante los controles a las pacientes, para realizar los seguimientos de los ciclos después de la transferencia embrionaria.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

JERINGAS

Se trata de jeringas de volumen graduadas, estériles que se emplearán principalmente para la obtención de muestras de sangre para la determinación de los niveles hormonales, para la esterilización de soluciones termosensibles a través de un filtro de jeringa y para cambiar las muestras de placa.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

PUNTAS CON FILTRO

Puntas para pipetas automáticas que se emplearán en la dosificación de medios y reactivos y para el empleo de soluciones del orden de microlitros. Son de un único uso y con filtro, evitan las contaminaciones externas y permiten trabajar y mantener unas condiciones de esterilidad permanentes a lo largo del proceso. Además, son libres de RNAsas, lo que asegura que no se degrade RNA que podría interferir en los resultados genéticos. Serán necesarias durante la manipulación de reactivos, soluciones y muestras.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

PIPETAS PLÁSTICO

Pipetas de varios volúmenes para la extracción de pequeñas cantidades de reactivos de las soluciones madre o simplemente de recipientes de mayor volumen. Se emplearán durante para preparar las soluciones necesarias para el procesado de las muestras biológicas incluyendo sangre, semen, etc.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

PLACAS PETRI

Se utilizarán placas de diferentes tamaños para la manipulación de las muestras durante el análisis de los parámetros básicos, sirviendo de soporte en tareas habituales de laboratorio. Se emplearán para sustentar los medios de cultivo preparados para las muestras biológicas. Se han utilizado durante la manipulación de ovocitos.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

TEST DE AUTOCLAVE

Se trata de una prueba que evidencia la eliminación adecuada del aire de la cámara de una autoclave de pre-vacío y necesaria para la correcta desinfección del material. Se empleará para realizar la esterilización de materiales y soluciones durante la realización del proyecto.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

GUANTES Y MASCARILLAS

Su función principal en el laboratorio será la de proteger de los componentes químicos a la persona que los manipula. Se trata de dispositivos indispensables para realizar la exploración a pacientes y para evitar la contaminación de las muestras que se han manipulado en las estaciones de trabajo.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

ESPÉCULO

El espéculo es un instrumento de plástico que tiene la función de mantener orificios corporales abiertos, en este caso la vagina femenina. Están constituidos por dos valvas, con un mecanismo para separarlas y ensanchar la abertura o mantenerla abierta, con el fin de permitir la observación directa por parte del médico o facilitar el paso de instrumentos al interior de la cavidad (realización de la biopsia endometrial). Se empleará durante la realización las revisiones ginecológicas hasta la realización de la transferencia embrionaria.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

NITROGENO LÍQUIDO

El nitrógeno líquido es nitrógeno puro en estado líquido a una temperatura igual o menor a su temperatura de ebullición, que es de –195,8 °C a una presión de una atmósfera. El nitrógeno líquido es incoloro e inodoro. Su densidad en el punto triple es de 0,707 g/ml. Se produce industrialmente en grandes cantidades por destilación fraccionada del aire líquido. El nitrógeno líquido es una fuente de fácil transporte y compacta de gas nitrógeno sin presurización. Además, su capacidad para mantener temperaturas muy por debajo del punto de congelación del agua hace que sea muy útil en una amplia gama de aplicaciones, en este caso principalmente para la conservación de muestras biológicas (muestras endometriales), para procurar una congelación rápida que evite el daño de estructuras. Será necesario para la congelación de las muestras ovocitarias hasta su uso previo a la fecundación y transferencia embrionaria.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

FUNDA ECÓGRAFO

Funda que cubre la sonda vaginal que está conectada al ecógrafo, que se empleará en las ecografías vaginales realizadas durante el proceso de estimulación ovárica en el seguimiento de las donantes a la

hora de determinar la maduración folicular y realizar un recuento previo a la punción folicular. Son fundas estériles que confieren una mayor protección de la paciente evitando la introducción de patógenos externos. Asimismo, también ofrece protección a la sonda evitando que sea deteriorada por los fluidos vaginales, puesto que este tipo de aparatos son muy sensibles.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

OVOIL

Se trata de un aceite especial que se empleará para cubrir las placas de cultivo de los embriones y del ovocito con el fin de evitar la desecación del medio con los cambios de temperatura, permitiendo mantener las condiciones ambientales de la placa de cultivo estables durante el tiempo en que se trabaja con ellas fuera y dentro del incubador. Se han obtenido buenos resultados, gracias a que los sistemas de cultivo son capaces de mantener niveles estables de temperatura, pH y osmolaridad.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

MEDIOS DE CULTIVO

Se trata de mezclas de nutrientes que generan un ambiente químico homogéneo en todas las etapas de manipulación de los gametos y embriones y mejora el desarrollo embrionario, minimizando el estrés al embrión.

Serán empleados en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

PIPETAS PASTEUR ESTÉRIL

Las pipetas Pasteur son pipetas de un solo uso no graduadas de plástico o de vidrio, que se utilizarán durante la preparación de las soluciones y el equilibrado del pH en soluciones acuosas y medios de cultivo. Las pipetas Pasteur estériles largas se utilizarán específicamente para los procesos de decumulación de los ovocitos, en los ciclos ICSI, durante la preparación de la placa de hialuronidasa

Será empleado en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

PLACAS FECUNDACIÓN

Se utilizarán placas de diferentes tamaños para la manipulación de las muestras durante el análisis de los parámetros básicos, sirviendo de soporte en tareas habituales de laboratorio. Se emplearán en la manipulación de los ovocitos para la decumulación y los procesos de fecundación. En este caso se utilizarán tanto en la fertilización del ovocito durante el proceso de ICSI como en la localización de los ovocitos entre el líquido folicular.

Será empleado en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

CATÉTER TRANSFERENCIA

Catéter que se empleó para la transferencia de los embriones al útero. La influencia del catéter en el éxito de la transferencia embrionaria podría estar condicionada por su diseño (doble luz, guía de inserción, forma de la punta, etc.), materiales empleados (metálicos, plásticos duros o blandos, etc.) y su maleabilidad. Los catéteres rígidos y maleables facilitan el paso de la curvatura del canal cervical, pero se asocian a una mayor posibilidad de traumatismo, sangrado y aumento de las contracciones uterinas. Los catéteres blandos disminuirían estos riesgos, pero su inserción podría ser más difícil.

Además, existen varios tipos de catéter de transferencia. Pueden utilizarse precargados (con los embriones) o sin precargar. En este último caso, el médico introduce en primer lugar la parte externa del catéter (o guía) hasta alcanzar la situación deseada. Posteriormente, la parte interna del catéter se utiliza para cargar los embriones en el laboratorio y se introduce en el útero a través de la guía. Llegados al punto deseado para el depósito de los embriones (con la ayuda de ecografía o no) se procede a descargarlos suavemente con la ayuda de una jeringa. A continuación, se retira cuidadosamente el catéter y se examina en la lupa para asegurar la descarga de los embriones. En caso necesario se repite el proceso. La paciente permanece en reposo.

Será empleado en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

CAPILAR DENUDACIÓN

Se trata de capilares de silicona de varios tamaños en función del tipo de célula que se pretende manipular, se han utilizado principalmente en la manipulación y traslado de ovocitos y embriones de un lugar a otro por aspiración de los mismos. Este tipo de pipetas se emplearán durante el procesado y cultivo de ovocitos (decumulación) y embriones

Será empleado en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

HIALURONIDASA

Se trata de una enzima hidrolítica que facilita la separación de las células del cúmulo del ovocito. Esta enzima se encuentra en la zona anterior de la cabeza de los espermatozoides en estado natural y su función principal es degradar la corona radiada durante el proceso de fecundación.

Será empleado en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

TUBOS FALCON

Son tubos de ensayo de polipropileno con fondo redondo y tapa roscada adecuados para el almacenamiento de muestras hasta su procesado. Su tapón estriado en polietileno de alta densidad permite un cierre hermético mediante anillo de obturación interno, evitando las contaminaciones por entrada o salida de las muestras contenidas. Se emplearán para la recogida de muestras.

Será empleado en la fase 2 “Estimulación ovárica controlada y tratamiento con factores de crecimiento y en la fase 3 “ICSI y desarrollo de la nueva herramienta terapéutica”.

MATERIAL FUNGIBLE	2019	2020
GEL ECÓGRAFO	100,00 €	125,00 €
JERINGAS	30,00 €	50,00 €
PUNTAS CON FILTRO	450,00 €	500,00 €
PIPETAS PLÁSTICO	300,00 €	350,00 €
PLACAS PETRI	600,00 €	750,00 €
TEST DE AUTOCLAVE	100,00 €	150,00 €
GUANTES Y MASCARILLAS	200,00 €	250,00 €
ESPECULO	75,00 €	125,00 €
NITROGENO LIQUIDO	1.500,00 €	2.000,00 €
FUNDA ECÓGRAFO	100,00 €	150,00 €
OVOIL	1.250,00 €	1.750,00 €
MEDIOS DE CULTIVO	3.250,00 €	3.500,00 €
PIPETAS PASTEUR ESTÉRIL	500,00 €	750,00 €
PLACAS FECUNDACIÓN	1.000,00 €	1.250,00 €
CATÉTER TRANSFERENCIA	2.000,00 €	2.250,00 €
CAPILAR DENUDACION	500,00 €	750,00 €
HIALURONIDASA	250,00 €	350,00 €
TUBOS	500,00 €	700,00 €
TOTAL	**12.705,00 €**	**15.750,00 €**

Tabla 11. *Presupuesto en material fungible del proyecto.*

HAZITEK 2019
Proyectos de apoyo a la I+D empresarial

MEMORIA TÉCNICA DEL PROYECTO

En este apartado se deberán anexar los *Curricula Vitarum* del equipo de trabajo: los investigadores, así como de los técnicos u otro personal relevante que se considere importante destacar

Comience a introducir los CV a partir de la página siguiente (o entregarlos en ficheros anexos)

10. EFECTO INCENTIVADOR

La ayuda para la cual se presenta este proyecto conllevará a Ginegorama, a incrementar el nivel de las actividades de I+D en el sector. Asimismo, se realizará una potenciación interna de sus actividades de Investigación y Desarrollo e Innovación, a través de su personal cada vez más cualificado. Esto producirá un claro avance tecnológico en la empresa que les permitirá mantenerse en primera fila de un mercado cada vez más exigente y competitivo.

El efecto incentivador principal que tendría la concesión de la ayuda contribuirá al seguimiento del desarrollo del presente proyecto, así como al desarrollo de nuevos proyectos de investigación enfocados a uno de los sectores estratégicos prioritarios a nivel internacional, como es el de la biomedicina y en concreto el sector de los tratamientos de infertilidad.

Invertir en una actuación puntera, que además incremente la competitividad de la empresa, supone un gran esfuerzo, ya no sólo a nivel económico sino de horas de dedicación en el estudio.

Hay que contar también con excelentes relaciones de colaboración para la externalización del asesoramiento técnico y los desarrollos que se necesiten para la óptima consecución de resultados.

Conseguir destacar en un sector tan competitivo como es este, ha de considerarse como un éxito a todos los niveles de la empresa, y una resolución positiva de esta ayuda, incentivará enormemente al incremento de la competitividad de la misma.

El proyecto planteado tendrá un importante impacto en la empresa, puesto que generará una evolución constante del valor de sus activos. También se espera que a partir de este proyecto surjan nuevas líneas de investigación a desarrollar en el futuro. En este sentido, se considera que el apoyo en el proyecto por parte de la Administración a la empresa es fundamental puesto que le permitirá poder llevar a cabo estos planes de inversión y evolución en I+D+i.

Seguidamente, se exponen las mejoras sustanciales que se producirán en cada uno de los siguientes ámbitos:

Incremento del volumen del proyecto:

La concesión de la ayuda incrementaría el coste del proyecto, ya que se invertirán más recursos en el mismo, permitiendo el aumento del tiempo de dedicación del personal en las actividades a desarrollar, consiguiéndose resultados de mayor calidad, la contratación de personal destinado a actividades de I+D+i así como aumentar la dedicación a estas tareas por parte del personal de la empresa, iniciando mayores planes de inversión en investigación y desarrollo.

Incremento del alcance del proyecto

En este contexto, la concesión de la ayuda incrementará la viabilidad del proyecto a la par que reducirá el riesgo al que se enfrenta la empresa al emprender un proyecto de este tipo, ya que se podrían destinar más recursos a la realización de pruebas y ensayos de las muestras, así como las reformulaciones y cambios derivados de los problemas que el análisis de las muestras conlleva.

Incremento de la rapidez

En este ámbito, la posibilidad de poder invertir en más recursos destinados a la consecución del proyecto repercutirá directamente en el tiempo empleado para la realización del mismo, siendo éste 4 meses menor que el proyectado inicialmente, y ya tenido en cuenta en el cronograma de investigación planteado.

Incremento de la cuantía total empleada en I+D+i

Por otra parte, dado el carácter investigador de esta empresa, las consecuencias inmediatas del presente proyecto de inversión se verán reflejadas sustancialmente desde el punto de vista del incremento de la compra de equipos y el gasto en I+D+i que se realizará.

Gracias a la financiación que se obtenga, se posibilitará iniciar otros proyectos a la par que finalizar exitosamente el presente proyecto debido a la optimización de los tiempos de ejecución del mismo. Todo ello contribuirá a ofrecer soluciones de mayor contenido tecnológico como ventaja competitiva.

Por tanto, la previsión de gasto en I+D+i, en la anualidad 2019, se verán incrementadas gracias a la concesión de una ayuda para este proyecto, y en consecuencia el gasto total para todas las actividades de I+D+i de toda la empresa.

Cabe destacar que con el desarrollo de este proyecto será posible destacar en el sector salud, frente a otros competidores, gracias al alcance de un nuevo producto y un nuevo servicio no existente.

Por tanto, la previsión de gasto en I+D+i, en la anualidad 2019, se verá incrementada gracias a la concesión de una ayuda para este proyecto, según se indica en la siguiente tabla:

DESCRIPCIÓN DEL INDICADOR	Sin subvención (1)	Con HAZITEK (2)	Incremento (2) – (1)
Gasto Previsto en I+D+i en 2019	185.000,00 €	221.668,52 €	36.668,52 €
Gasto Previsto en I+D+i en 2020	190.000,00 €	234.749,06 €	44.749,06 €

Tabla 12. *Efecto incentivador de la ayuda*

Referencia: MUH/CLIN/EC

ASUNTO: RESOLUCIÓN DE LA SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE UN ENSAYO CLÍNICO

DESTINATARIO: REPRODUCCION BILBAO (GINEGORAMA SL)
MORGAN 2B
48014 BILBAO (España)

DATOS DE LA SOLICITUD

Solicitud de autorizacion del Ensayo clinico Nº EudraCT **2020-000247-32** y título **ACTIVACION DE FOLICULOS PRIMORDIALES EN MUJERES CON BAJA RESERVA OVARICA MEDIANTE FACTORES DE CRECIMIENTO.**.

Promotor: REPRODUCCION BILBAO (GINEGORAMA SL)
MORGAN 2B
48014 BILBAO (España)

Fecha de solicitud válida: 21/05/2020

Una vez evaluada la solicitud de autorización de ensayo clínico previamente indicada, se considera que cumple con los requisitos indicados en el Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos y demás legislación aplicable*.

Por todo lo anteriormente expuesto la Directora de la Agencia de Medicamentos y Productos Sanitarios en el ejercicio de sus competencias **RESUELVE:**

AUTORIZAR el ensayo clínico solicitado y CALIFICAR el medicamento PLASMA AUTÓLOGO, como producto en fase de investigación clínica, asignándole el Nº de PEI 20-097, con la indicación: FALLO OVARICO OCULTO.

CONDICIONES:
En el manual del investigador, apartado de información de referencia de seguridad, se debe incluir que todas las sospechas de reacciones adversas graves que ocurran en el ensayo

* Texto refundido de la Ley de Garantías y Uso Racional de los medicamentos y productos sanitarios, aprobado por Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio.
Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal "Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y se aprueba su Estatuto".

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS)
Fecha de la firma: 03/11/2020
Puede comprobar la autenticidad del documento en la sede de la AEMPS:https://localizador.aemps.es
CSV: 8 R G 9 T 7 V C 1 9

C/ CAMPEZO, 1 - EDIFICIO 8
28022 MADRID
Tel.: 918225073
Fax: 918225043

serán consideradas inesperadas a efectos de notificación expeditiva (documento de preguntas y respuestas sobre la reference safety information (RSI), Clinical Trial Facilitation Group), tal y como se solicitó con la petición de información suplementaria.

Contra esta Resolución, que pone fin a la vía administrativa, puede interponerse potestativamente Recurso de Reposición ante el/la Director/a de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en el plazo de un mes, conforme a lo dispuesto en los artículos 123 y 124 de la Ley 39/2015, de 1 de octubre, del Procedimiento Administrativo Común de las Administraciones Públicas, o interponerse Recurso Contencioso-Administrativo ante el Juzgado Central de lo Contencioso-Administrativo de Madrid, en el plazo de dos meses a contar desde el día siguiente a la recepción de la presente notificación, conforme a lo dispuesto en la Ley Reguladora de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa de 13 de julio de 1998, y sin perjuicio de cualquier otro recurso que pudiera interponerse.

DIRECTORA DE LA AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS

agencia española de medicamentos y productos sanitarios

Fdo. Mª Jesús Lamas Díaz

NIDA Clinical Trials Network

Certificate of Completion

is hereby granted to

Gorka Barrenetxea

to certify your completion of the six-hour required course on:

GOOD CLINICAL PRACTICE

MODULE:	STATUS:
Introduction	N/A
Institutional Review Boards	Passed
Informed Consent	Passed
Confidentiality & Privacy	Passed
Participant Safety & Adverse Events	Passed
Quality Assurance	Passed
The Research Protocol	Passed
Documentation & Record-Keeping	Passed
Research Misconduct	Passed
Roles & Responsibilities	Passed
Recruitment & Retention	Passed
Investigational New Drugs	Passed

Course Completion Date: 22 December 2020

CTN Expiration Date: 22 December 2023

Tracee Williams, Training Coordinator
NIDA Clinical Coordinating Center

Good Clinical Practice, Version 5, effective 03-Mar-2017

This training has been funded in whole or in part with Federal funds from the National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Department of Health and Human Services, under Contract No. HHSN27201201000024C.

CEIm E
Euskadiko Medikamentuen gaineko Ikerkuntza Batzorde Etikoa
Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de Euskadi

EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO
OSASUN SAILA
DEPARTAMENTO DE SALUD

DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS DE EUSKADI (CEIm-E)

Arantza Hernández Gil
Secretaria del CEIm de Euskadi (CEIm-E)

CERTIFICA

Que este Comité, ha evaluado la siguiente propuesta de ensayo clínico:

CÓDIGO: MAXIMOVO, NÚMERO EUDRACT: 2020-000247-32, CÓDIGO INTERNO: 2020003, TÍTULO: **"Activación de folículos primordiales en mujeres con baja reserva ovárica mediante factores de crecimiento."**
PROMOTOR: **Reproducción Bilbao Ginegorama S.L.**,

PROTOCOLO: Version 04, 15.09.2020

Hoja de Información al Paciente / Consentimiento Informado:
GENERAL / Rev02 – Fecha: 21-07-2020

Que este Comité ha realizado la evaluación de la parte I de la solicitud de autorización del ensayo, ha valorado las respuestas del promotor a las aclaraciones solicitadas y ha transmitido a la Agencia Española de medicamentos su opinión final sobre la parte I.

Que este Comité ha realizado la evaluación de la parte II de la solicitud de autorización del ensayo, de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 1090/2015 y en el art 7 del reglamento (UE) 536/2014 y considera que:

- El procedimiento para obtener el consentimiento informado (incluyendo las hojas de información al sujeto de ensayo y consentimientos informados mencionados en el encabezamiento), y el plan de reclutamiento de sujetos previsto son adecuados y cumplen con los requisitos para la obtención del consentimiento informado previstos en el capítulo II del Real Decreto 1090/2015.
- Las compensaciones previstas a los participantes son adecuadas, así como las previsiones de indemnización por daños y perjuicios que pueda sufrir el participante.
- El procedimiento previsto para el manejo de datos personales es adecuado.
- El uso futuro de las muestras biológicas obtenidas durante el ensayo se adecua a lo previsto en el Real Decreto 1716/2011.

Nota: Se recuerda la obligación de:
- Enviar un **informe de seguimiento anual** y el **informe final** que incluya los resultados del estudio (si el estudio dura menos de un año, con el informe final será suficiente). Más información en la página web del CEIm-E: http://www.euskadi.eus/comite-etico-investigacion-clinica/

CEIm
Euskadiko Medikamentuen gaineko Ikerkuntza Batzorde Etikoa
Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de Euskadi

EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO
OSASUN SAILA
DEPARTAMENTO DE SALUD

• Para la realización del ensayo se consideran adecuados los centros e investigadores previstos en el anexo II a este dictamen, teniendo en cuenta las declaraciones de idoneidad emitidas por el promotor y por los responsables de las instituciones correspondientes.

Que este Comité, decidió emitir DICTAMEN FAVORABLE en la reunión celebrada el día 22/07/2020 (recogido en Acta 17/2020)

Que en dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente –Real Decreto 1090/2015 – para que la decisión del citado CEIm sea válida.

Que el CEIm-E, tanto en su composición como en sus procedimientos, cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con la legislación vigente que regula su funcionamiento, y que la composición del CEIm-E es la indicada en el anexo I, teniendo en cuenta que en el caso de que algún miembro participe en el ensayo o declare algún conflicto de interés no habrá participado en la evaluación ni en el dictamen de la solicitud de autorización del ensayo clínico.

Lo que firmo en Vitoria, a 21 de octubre de 2020
Fdo:

ARANTZAZU HERNANDEZ GIL

Firmado digitalmente por ARANTZAZU HERNANDEZ GIL
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, o=Eusko Jaurlaritza, ou=SALUD, ou=Ziurtagiri onartua - Certificado reconocido, ou=Entitate publikoen ziurtagiri - Certificado de entidad publica, ou=Condiciones de uso en www.izenpe.com nola erabili jakiteko, dnQualifier=-dni 44678219Y -cif S4833001C, cn=ARANTZAZU HERNANDEZ GIL, givenName=ARANTZAZU, sn=HERNANDEZ, serialNumber=44678219Y
Fecha: 2020.10.21 09:47:24 +02'00'

Arantza Hernández Gil
Secretaria del CEIm de Euskadi (CEIm-E)

Nota: Se recuerda la obligación de:
- Enviar un **informe de seguimiento anual** y el **informe final** que incluya los resultados del estudio (si el estudio dura menos de un año, con el informe final será suficiente). Más información en la página web del CEIm-E: http://www.euskadi.eus/comite-etico-investigacion-clinica/

CEIm
Euskadiko Medikamentuen gaineko Ikerkuntza Batzorde Etikoa
Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de Euskadi
E

EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO
OSASUN SAILA
DEPARTAMENTO DE SALUD

Anexo I

COMPOSICIÓN DEL CEIm

Presidente	Carlos Romeo Casabona
Vicepresidente	Iciar Alfonso Farnos
Secretaria técnica	Arantza Hernández Gil
Vocales	Carmelo Aguirre Gómez
	Pablo Aldazabal Amas
	Mª Teresa Audicana Berasategui
	Ignacio Díez González
	Saioa Domingo Echaburu
	Jose Mª González de Castro
	Agustín Castiella Eguzkiza
	Miguel Ángel Goenaga
	Antonio Escobar Martínez
	Marianela Hernández López
	Mª José López Varona
	Amaia Martínez Galarza
	José Ignacio Pijoán Zubizarreta
	Jesús Rosa Nieto
	Francisco Javier Santamaría Sandi
	Iratxe Urreta Barallobre
	Pedro Gorrotxategi Gorrotxategi
	Eva Ferreira González de Viñaspre
	Jesús Ángel Molinuevo Tobalina
	Carlos de Miguel Sánchez
	Ana Blanca Yoller
	Monike de Miguel Cascón
	Virginia Arechavala Gomeza

Nota: Se recuerda la obligación de:
- Enviar un **informe de seguimiento anual** y el **informe final** que incluya los resultados del estudio (si el estudio dura menos de un año, con el informe final será suficiente). Más información en la página web del CEIm-E: http://www.euskadi.eus/comite-etico-investigacion-clinica/

CEIm E
Euskadiko Medikamentuen gaineko Ikerkuntza Batzorde Etikoa
Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de Euskadi

EUSKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO
OSASUN SAILA
DEPARTAMENTO DE SALUD

Anexo II

Dictamen Inicial sobre la parte II

CENTROS E INVESTIGADORES PRINCIPALES PARTICIPANTES EN ESPAÑA

CÓDIGO: MAXIMOVO NÚMERO EUDRACT: 2020-000247-32 TÍTULO: **"Activación de folículos primordiales en mujeres con baja reserva ovárica mediante factores de crecimiento."**
PROMOTOR: **Reproducción Bilbao Ginegorama S.L.**

Investigador principal	Centro de realización del estudio
Gorka Barrenetxea Ziarrusta	Centro de Reproducción Bilbao

Nota: Se recuerda la obligación de:
- Enviar un **informe de seguimiento anual** y el **informe final** que incluya los resultados del estudio (si el estudio dura menos de un año, con el informe final será suficiente). Más información en la página web del CEIm-E: http://www.euskadi.eus/comite-etico-investigacion-clinica/

FECHA: 20/05/2020

ASUNTO: COMUNICACIÓN DE SOLICITUD INICIAL VÁLIDA

DESTINATARIO: REPRODUCCION BILBAO (GINEGORAMA SL)
MORGAN 2B
48014 BILBAO (España)

En contestación a su solicitud de autorización del ensayo clínico 2020-000247-32, Cº de protocolo MAXINOVO y titulado "ACTIVACION DE FOLICULOS PRIMORDIALES EN MUJERES CON BAJA RESERVA OVARICA MEDIANTE FACTORES DE CRECIMIENTO.", le comunico **que la misma ha sido validada** y reúne los requisitos documentales establecidos en la disposicion transitoria tercera del Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos.

A continuación se indica el calendario con los plazos de tramitación.

CALENDARIO EVALUACION INICIAL PARTE I: Ensayos fase I, alérgenos y terapias avanzadas	Día límite	Calendario
Fecha de solicitud válida: comienza la evaluación	**0**	**21/05/2020**
La AEMPS envía el borrador del informe al CEIm	30	20/06/2020
El CEIm envía comentarios a la AEMPS	37	27/06/2020
La AEMPS integra su evaluación, consolida y envía al promotor las conclusiones finales sobre la parte I (en caso de no autorización) o una petición de información suplementaria	**45**	05/07/2020
Respuesta del promotor a la petición de información suplementaria	**57**	17/07/2020
El CEIm envía conclusiones sobre la respuesta del promotor a la AEMPS	67	27/07/2020
La AEMPS integra su evaluación, consolida y envía conclusiones finales sobre la parte I al promotor (en caso de no autorización)	**76**	05/08/2020
El CEIm envía al promotor y a la AEMPS su dictamen sobre la parte II	**45 a 76**	05/07/2020 a 05/08/2020
La AEMPS envía la resolución al promotor según las conclusiones sobre la parte I y II	**50 a 81**	10/07/2020 a 10/08/2020

Debe tener en cuenta lo siguiente:

- La fecha de solicitud válida es el día natural siguiente a la última de las fechas de entrada de una solicitud que contiene toda la documentación necesaria para la AEMPS y el CEIm. Hay que tener en cuenta que esta fecha, en el caso de una solicitud sin firma electrónica, será la fecha entrada del justificante de envío telemático firmado. Si hay petición de subsanación, esta fecha será la fecha de respuesta del promotor a la petición de subsanación por la AEMPS o el CEIm, la que sea la última de las dos.
- Si, como solicitante indicado por el promotor, no responde a una petición de información suplementaria en el plazo indicado, se considerará que el promotor ha desistido de la solicitud, quedando finalizado el proceso.
- En caso de desistimiento de la solicitud o cuando la resolución indique que no se autoriza el ensayo es posible volver a presentar la solicitud, como una reiteración.
- En caso de que el ensayo no sea autorizado es posible presentar un recurso, según lo indicado en el apartado 2 del artículo 25 del Real decreto 1090/2015, de 4 de diciembre.

Puede encontrar más información en el documento "Instrucciones para la realización de ensayos clínicos en España" que puede consultar en:
http://www.aemps.gob.es/investigacionClinica/medicamentos/ensayosClinicos.htm .

Para cualquier duda, puede contactar con la AEMPS en la dirección aecaem@aemps.es.

Fdo:
Secretaría del Área de Ensayos Clínicos

		POSEIDON III	POSEIDON IV
SUBGRUPO 1	**13**	5	8
SUGRUPO 2	**9**	4	5
SUBGRUPO 3	**8**	0	8
CONTROL	**29**	8	22
	60	17	43
	60	17	43
		60	

% POSEIDON III	
TOTAL	28,33%
CONTROL	26,67%
PRP	30,00%

% POSEIDON IV	
TOTAL	71,67%
CONTROL	73,33%
PRP	70,00%

PUN
PU

TOTAL PACIENTES	60	
TOTAL CICLOS	**196**	
TOTAL FOLÍCULOS	**995**	5,07
TOTAL OVOCITOS	**191**	0,97
TOTAL MII	**147**	0,75

BLASTOS

		0	1	2	3	4	5	6
CONTROL	PUNCIÓN SI	6	5	4	5	3	3	2
	PUNCION NO	1						
TRATAMIENTO	PUNCIÓN SI	5	3	6	10	3	0	0
	PUNCION NO	3						

BLASTOS EUPLOIDES

	0	1	2	3	4		
CONTROL	12	8	6	0	2	28	28
TRATAMIENTO	14	6	2	5	0	27	27

BLASTOS EUPLOIDES

	0	>0		0	>0
CONTROL	12	16	28		57,14%
TRATAMIENTO	14	13	27		48,15%

chi cuadrado=0,45
p=0,5042

26,67%	43,33%
58,06%	

PUNCIÓN	CONTROL	TRATAMIENTO	
SI	84	85	169
NO	3	5	8
	87	90	177

		CONTROL	TRATAMIENTO
CIONES CON 0 OVOCITOS		2	2
INCIONES CON OVOCITOS		82	83
		84	85

	CONTROL	TRATAMIENTO
ICSI SI	28	27
ICSI NO	1	3
	29	30

11				
0	**28**	28	78,57%	PROBABILIDAD DE BLASTOS EN EL GRUPO TRATADO
		1		
	27	27	81,48%	RR
		3		OR

chi 0,34
p: 0,5607

euploides/bl	euploides/pacientes	
72,73%	57,14%	PROBABILIDAD DE BLASTOS EUPLOIDES EN EL GRUPO TRAT/
59,09%	48,15%	RR
		OR

ADO

MII			
	TOTAL	CONTROL	TRAT
P1	2,61	2,69	2,55
P2	3,85	3,27	4,18
P3	4,73	4,15	5,27
P2/P1	47,51%	21,56%	63,92%
P3/P2	22,86%	26,91%	26,08%
P3/P1	81,23%	54,28%	106,67%

OVOCITOS			
	TOTAL	CONTROL	TRAT
P1	2,93	2,9	2,95
P2	3,85	3,37	4,29
P3	5,12	4,69	5,57
P2/P1	31,40%	16,21%	45,42%
P3/P2	32,99%	39,17%	29,84%
P3/P1	74,74%	61,72%	88,81%

TOTAL		
59	ET	
31	PE POS	
26	SACOS	44,22%
20	EVOLUTIVOS	33,19%
11	VARONES	55,00%
9	MUJER	45,00%
15	VAGINALES	73,46%
5	CESAREA	23,33%

NO ET
POR NO BLASTEOS TRANSFERIBLES
POR NO ICSI (UNA DE ELLAS EXCLUIDA DEL GRUPO CONTROL

PRIMEROS ET
SEGUNDO ET
TERCER ET

"PACIENTES"

GRUPO CONTROL			
31	ET		
21	PE POS	68,42%	
18	SACOS	57,89%	ABORTOS
13	EVOLUTIVOS	42,11%	27,78%
6	VARONES	46,15%	
7	MUJER	53,85%	
10	VAGINALES	74,56%	
3	CESAREA	23,08%	

8 **NO ET**
POR NO BLASTEOS TRANSFERIBLES
POR NO ICSI (UNA DE ELLAS EXCLUIDA DEL GRUPO CON

21 PRIMEROS ET
6,5 SEGUNDO ET "7"
3 TERCER ET

29 "PACIENTES"

CHI CUADRADO EMBARAZOS EVOLUTIVOS

SOBRE ET
CHI2=1,20
P= 0,2727

SOBRE ITT
CHI2: 1,88
P= 0,1709

CHI CUADRAI
CHI2=0,12
P= 0,7270

GRUPO TRATAMIENTO

28	ET			
10	PE POS	35,29%		
8	SACOS	29,41%	ABORTOS	
7	EVOLUTIVOS	23,53%		12,00%
5	VARONES	71,43%		
2	MUJER	28,57%		
5	VAGINALES	71,43%		
2	CESAREA	23,81%		
10	**NO ET**			
7	POR NO BLASTEOS TRANSFERIBLES			
3	POR NO ICSI (UNA DE ELLAS EXCLUIDA DEL GRUPO CONTROL			
20	**PRIMEROS ET**			
8	SEGUNDO ET			
0	TERCER ET			
30	**"PACIENTES"**			

ITROL

DO ABORTOS