



MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
Y MEDICINA
CLÍNICA



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Efectividad del uso de Hormona de Crecimiento en pacientes con respuesta sub-óptima a la Estimulación Ovárica Controlada sometidas a Técnicas de Reproducción Asistida: *Ensayo Clínico Aleatorizado doble ciego controlado con placebo.*

Alumno: TEJERO LLINARES, BORJA.

Tutor: MARTINEZ ESCORIZA, JUAN CARLOS

Curso: 2016-2017.

RESUMEN.

ANTECEDENTES: Clásicamente, en base a la respuesta a la EOC, las pacientes se han categorizado en baja, normo y alta respondedoras. Sin embargo, recientemente, se ha definido una nueva categoría, pacientes sub-óptimas. Las pacientes sub-óptimas constituyen el grupo más numeroso de pacientes sometidas a TRA, constituyendo el 43% de los ciclos de fecundación *in vitro*. Actualmente, no hay definida una estrategia de estimulación ovárica ni co-tratamiento, en pacientes sub-óptimas, que mejoren los resultados clínicos.

OBJETIVOS: El estudio tiene como objetivo establecer la efectividad, Tasa Embarazo Clínico y Tasa Nacido Vivo, del uso de la hormona de crecimiento en pacientes con respuesta sub-óptima a la estimulación ovárica controlada sometidas a programas de reproducción humana asistida.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se trata de un Ensayo Clínico Aleatorizado (ECA), doble ciego, controlado con placebo y unicéntrico para evaluar el efecto de la hormona de crecimiento (rHGH, Saizen®; Serono) 7,5 UI/día frente placebo, ambos en combinación con gonadotropinas en mujeres con respuesta sub-óptima a la EOC, sometidas a técnicas de reproducción asistida.

SUJETOS: se incluirán 254 participantes en el estudio (Grupo intervención: 127 pacientes; Grupo control: 127 pacientes).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO: El análisis cualitativo será elaborado mediante el estadístico Chi². Las variables cuantitativas serán analizadas mediante el estadístico t de Students.

Palabras clave: Respuesta sub-óptima, Hormona de crecimiento, Estimulación ovárica controlada, Técnicas reproducción asistida.

ABSTRACT.

BACKGROUND: Formerly, based on response at Controlled Ovarian Stimulation (COS), patients have been categorized on poor, normo, and high responders. However, recently, a new category has been defined, sub-optimal patients. The largest group on Assisted Reproductive Technique (ART), are sub-optimal patients, constituting 43% *in vitro* fertilization cycles. Actually, there is not defined a strategy of ovarian induction neither co-treatment on sub-optimal patients, that improve clinical outcomes.

OBJECTIVES: The principal objective of the study is to establish the effectiveness, clinical pregnancy rate and live birth rate, of the use of growth hormone in patients with sub-optimal response to the controlled ovarian stimulation submitted to assisted human reproduction programs.

MATERIAL AND METHODS: Randomized Clinical Trial (RCT), double-blind, controlled-placebo and unicenter, to evaluate the growth hormone (rHGH, Saizen®; Serono) 7,5 IU/day effect, *versus* placebo, both in compound with gonadotrophins in women with sub-optimal response to COS.

SUBJECTS: Will be enrolled 254 subjects in this study (Intervention group: 127 subjects; control group: 127 subjects).

STATISTICAL ANALYSIS: The qualitative analysis will be processed/elaborated trough the Chi ² statistical. The quantitative variable will be analyzed with/through the t statistical Students.

Key Words: Sub-optimal responder, Growth Hormone (GH), Controlled Ovarian Stimulation COS, Assisted Reproductive Techniques (ART).

ÍNDICE.

<u>RESUMEN.</u>	<u>2</u>
<u>ABSTRACT.</u>	<u>3</u>
<u>INTRODUCCIÓN.</u>	<u>6</u>
<u>HIPÓTESIS.</u>	<u>7</u>
<u>OBJETIVOS.</u>	<u>7</u>
Objetivo principal.	7
Objetivo secundarios.	8
<u>MATERIAL Y MÉTODOS.</u>	<u>8</u>
DISEÑO.	8
<i>Control de la estimulación ovárica y punción.</i>	8
<i>Recuperación y denudación ovocitaria.</i>	9
<i>Microinyección Intracitoplasmática de Espermatozoides.</i>	9
<i>Cultivo embrionario.</i>	9
DOSIS Y ADMINISTRACIÓN.	10
ALEATORIZACIÓN Y ENMASCARAMIENTO.	11
<i>Aleatorización.</i>	11
<i>Enmascaramiento.</i>	11
<u>LUGAR.</u>	<u>11</u>
<u>TIEMPO DE EJECUCIÓN.</u>	<u>12</u>
<u>SUJETOS.</u>	<u>12</u>
Criterios de inclusión.	12
Criterio de exclusión.	12
Tamaño muestral.	13
<u>VARIABLES DE ESTUDIO.</u>	<u>14</u>

I. Variables cuantitativas:	14
<i>Variables discretas.</i>	14
II. Variables cualitativas:	15
<i>Variables dicotómicas.</i>	15
<u>RECOGIDA DE VARIABLES.</u>	<u>15</u>
<u>ANÁLISIS DE DATOS.</u>	<u>17</u>
<u>ASPECTOS ÉTICOS.</u>	<u>18</u>
Comité de ética.	19
<u>INTERÉS Y RELEVANCIA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.</u>	<u>19</u>
<u>DIFICULTADES Y LIMITACIONES.</u>	<u>20</u>
<u>PLAN DE TRABAJO.</u>	<u>21</u>
Etapas de desarrollo del proyecto.	21
Final del proyecto.	21
Distribución de tareas del equipo investigador.	22
<i>1ª Etapa: Documentación CEIC.</i>	22
<i>2ª Etapa: Recogida de variables.</i>	22
<i>3ª Etapa: Recopilación de datos, análisis e interpretación de variables.</i>	22
<i>4ª Etapa: Redacción y publicación del ensayo clínico.</i>	22
Cronograma de actividades.	22
<i>Experiencia del equipo investigador.</i>	22
<u>MEDIOS DISPONIBLES.</u>	<u>23</u>
<u>PRESUPUESTO.</u>	<u>23</u>
<u>BIBLIOGRAFÍA.</u>	<u>25</u>
<u>ANEXOS.</u>	<u>27</u>

INTRODUCCIÓN.

Poder predecir la respuesta a la Estimulación Ovárica Controlada (EOC) en pacientes que se encuentran sometidas a Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) *in vitro*, es útil para brindar un asesoramiento de las probabilidades de éxito del tratamiento, así como para optimizar los protocolos de estimulación, en términos de efectividad, seguridad y comodidad.

La categorización de las pacientes sometidas a técnicas de reproducción humana asistida es fundamental para definir qué protocolos deben seguir, así como el pronóstico de los resultados. En base a la respuesta a la EOC, las pacientes pueden categorizarse como baja respondedoras, <3 ovocitos recuperados¹; normo-respondedoras, 4-15 ovocitos recuperados; y, alta respondedora, >15 ovocitos recuperados^{2, 3}. La categorización convencional no es suficientemente precisa. Las paciente normo-respondedoras constituyen un grupo heterogéneo de población, con diferencias en su probabilidad de embarazo y Nacido Vivo. Por ello, Polyzos y Sunkara en 2015 definen una nueva categoría de pacientes, más homogénea y con un intervalo de ovocitos recuperados menor, que sería la pieza que falta en el puzzle de los grupos de respuesta a EOC, las mujeres con respuesta sub-óptima, que son aquellas en las que obtienen entre 4 y 9 ovocitos tras un protocolo de estimulación ovárica convencional. El porcentaje de ciclos correspondientes a una respuesta sub-óptima no es despreciable. Human Fertilisation and Embryology Authority determinó que el 43,3% de pacientes sometidas a técnicas de reproducción asistida corresponden a mujeres con respuesta sub-óptima a la EOC⁴. Este resultado coincide con el hallado en el Hospital General Universitario de Alicante donde el porcentaje de pacientes sub-óptimas corresponde al 43%. Por lo tanto, las pacientes sub-óptimas constituyen el grupo más numeroso de pacientes sometidas a fecundación *in vitro*.

Numerosos estudios demuestran una relación directa entre el número de ovocitos recuperados, Tasa de Embarazo Clínico (TEC) y Tasa de Nacido Vivo (TNV)⁵⁻⁸. Por ello, optimizar la respuesta a la EOC en pacientes sub-óptimas podría incrementar el número de ovocitos recuperados, así como la TEC y TNV. Se han propuesto varias estrategias para aumentar la respuesta ovárica. La adición de LH mejora los resultados en pacientes con baja respuesta⁹. Por otra parte, el pre-tratamiento con testosterona⁹,

estrógenos ¹⁰, letrozol ⁹ u hormona del crecimiento (GH) ¹¹, también se ha propuesto para mejorar el número de ovocitos recuperados en pacientes con baja reserva ovárica.

La hormona de crecimiento participa en la foliculogénesis, en tanto que es una importante reguladora de la estereidogénesis ovárica, desarrollo folicular y maduración ovocitaria. Regan et al. (2012) hallaron un incremento significativo de los receptores de FSH y LH en las células de la granulosa mediado por la administración de hormona de crecimiento en pacientes sometidas a FIV. Este hecho podría justificar el incremento de número de ovocitos recuperados ^{13, 14}, ovocitos maduros, número de ovocitos fecundados ^{13, 15}, tasa de embarazo clínico ^{14, 16, 17} y tasa de nacido vivo ^{16, 18} hallado en pacientes con baja respuesta a la EOC tratadas con GH.

La reciente aparición de una nueva categoría de pacientes sometidas a estimulación ovárica controlada en programas de reproducción humana asistida, pacientes sub-óptimas, abre un nuevo campo de investigación con el propósito de mejorar el pronóstico de estas pacientes. Actualmente no hay estudios realizados con hormona de crecimiento en pacientes sub-óptimas. En consecuencia, el presente trabajo pretende estimar la efectividad del uso de GH en pacientes sometidas a técnicas de reproducción asistida con respuesta sub-óptima a la estimulación ovárica controlada.

HIPÓTESIS.

El uso de Hormona de Crecimiento (GH) en pacientes con respuesta sub-óptima a la estimulación ovárica controlada es una estrategia eficiente y segura, que mejora los resultados reproductivos.

OBJETIVOS.

Objetivo principal.

Establecer la efectividad, Tasa Embarazo Clínico y Tasa Nacido Vivo, del uso de la hormona de crecimiento en pacientes con respuesta sub-óptima a la estimulación ovárica controlada sometidas a programas de reproducción humana asistida.

Objetivo secundarios.

1. Determinar la efectividad, en términos de número de ovocitos metafase II y ovocitos fecundados, de la hormona de crecimiento en pacientes con respuesta sub-óptima a la estimulación ovárica controlada sometidas a programas de reproducción asistida.
2. Conocer tiempo de estimulación ovárica en pacientes con respuesta sub-óptima a la estimulación ovárica controlada, tratadas con hormona de crecimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS.

DISEÑO.

Se trata de un Ensayo Clínico Aleatorizado (ECA), fase IV, doble ciego, controlado con placebo y unicéntrico para evaluar el efecto de la hormona de crecimiento (rHGH, Saizen®; Serono) 7,5 UI/día frente placebo, ambos en combinación con gonadotropinas en mujeres con respuesta sub-óptima a la EOC, sometidas a técnicas de reproducción asistida.

Control de la estimulación ovárica y punción.

El control de la estimulación ovárica se realizará cada 2 días mediante ecografía transvaginal acompañada de la determinación de niveles de estradiol sérico. Se administrará FSHr hasta obtener al menos 3 folículos de diámetro igual o superior a 17mm, momento en el cuál se inducirá la ovulación mediante la administración de 6500 UI de hCGr (Ovitrelle®, MSD). Todas las determinaciones hormonales serán realizadas mediante un autoanalyzer de electroquimioluminiscencia MODULAR E-170 (Roche Diagnostics). Tanto la punción folicular como la aspiración ovocitaria se realizarán 36 horas después de la inducción de la ovulación, con anestesia general, usando una sonda vaginal de 7.5 MHz (Voluson F6 General Electric) y agujas de Labotect de 17 G (Labotect GmbH Labor-Technik, Göttingen, Germany).

Recuperación y denudación ovocitaria.

El número de ovocitos se determinará tras la finalización de la punción ovárica, una vez revisados todos los viales resultantes de la aspiración del líquido folicular. Los ovocitos obtenidos serán transferidos a dos pocillos (placa cultivo 5 pocillos, Vitrolife, HertART aps, Suiza) que contendrán 0,5 ml de G-IVF™ (Vitrolife, V. Frölunda, Suiza). Treinta y ocho horas después de la administración de hCGr, el complejo cúmulo-ovocito se expondrá a 0,03 ml de hialuronidasa (HYASE™ -10X, Vitrolife, V. Frölunda, Suiza) + 0,3 ml de medio G-MOPS™ (Vitrolife, V. Frölunda, Suiza) durante aproximadamente 30 segundos, antes de ser transferidos a 0,5 ml de G-MOPS™, donde los cúmulos serán disociados del ovocito mediante procedimiento mecánico. Los ovocitos maduros (MII) serán introducidos en un pocillo de cultivo con 0,5 ml de G-IVF™ (Vitrolife, V. Frölunda, Suiza).

Microinyección Intracitoplasmática de Espermatozoides.

Aproximadamente 39 horas post-HCGr, todos los ovocitos MII serán inseminados mediante Microinyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI). La ICSI será realizada usando un microscopio invertido (Eclipse TE2000-S, Nikon) con pletina templada a 38 °C. La inseminación se realizará con pipetas de sujeción e inyección Wallace (Wallace®, SmithsMedical, USA). Los ovocitos microinyectados serán introducidos en pocillos de cultivo, máximo 4 ovocitos por pocillo. Los pocillos contendrán 0,5 ml de G-1™ (Vitrolife, V. Frölunda, Suiza), y serán cubiertos con 0,4 ml de aceite (OVOIL™, Vitrolife, V. Frölunda, Suiza).

Cultivo embrionario.

Los embriones serán cultivados en medio G-1™ (Vitrolife, V. Frölunda, Suiza) hasta D+2 ó D+3 posinseminación. A partir de D+3, y hasta D+5 el medio de cultivo utilizado será G-2™ (Vitrolife, V. Frölunda, Suiza). Los pocillos contendrán 0,5 ml de medio de cultivo (G-1™ vs G-2™), más 0,4 ml de ovoil (OVOIL™, Vitrolife, V. Frölunda, Suiza). Cada pocillo podrá contener un máximo de 4 embriones.

La evaluación morfológica se realizará 18-20 horas (D+1), 43-45 (D+2) y 67-69 (D+3) posinseminación. La observación embrionaria en D+5 tendrá lugar 114-118 horas posinseminación. No se realizará evaluación morfológica en D+4, evitando así toda exposición medioambiental, teniendo un impacto positivo en la calidad embrionaria y tasas de gestación.

Todas las placas serán equilibradas en la incubadora durante un mínimo de 6 horas (tiempo mínimo para que el medio alcance el pH correcto bajo el aceite) y un máximo de 18 horas. El cultivo embrionario tendrá lugar en incubadora (Labotect C200, Germany), CO₂ al 6% y 37 °C.

Transferencia.

El número de embriones y día de cultivo embrionario (D+2, D+3 y D+5) seleccionado para la transferencia, dependerá de características y antecedentes de los pacientes. Los embriones seleccionados serán trasladados a 0,5 ml de EmbryoGlue® (Vitrolife, V. Frölunda, Suiza) al menos 10 minutos antes de la transferencia. La transferencia de embriones se realizará mediante un catéter de transferencia Cook (K-JETS-6019.SIVF; Cook Ob/Gyn, Ireland) ecoguiado.

DOSIS Y ADMINISTRACIÓN.

Los sujetos incluidos en el ensayo, que cumplan los criterios de elegibilidad, serán asignados aleatoriamente para recibir uno de los siguientes tratamientos:

- GH 7,5 UI/día (rHGH, Saizen®; Serono) + FSH (Gonal-F, Serono; Puregon, Organon, MSD).
- Placebo + FSH (Gonal-F, Serono; Puregon, Organon, MSD).

En todas las pacientes se utilizará un protocolo de supresión hipofisaria con antagonistas de GnRH (ganirelix; Orgalutrán®, N.V Organon MSD o cetrotrelis ; Cetrotide®, Merk-Serono) de dosis múltiples administrando 0.25 mg/día comenzando el día 6 de estimulación y hasta la administración de HCG recombinante. La dosis inicial de FSH se decidirá en base a la edad, IMC, niveles séricos de AMH y CFA ecográfico, siendo en función de la respuesta esperada, entre 150-225 UI en normo-respuesta y 300 UI en pacientes con baja respuesta. Se añadirá LH (en proporción 2:1 respecto a dosis de FSHr) sólo en aquellas pacientes en las que la respuesta a la estimulación ovárica no fue adecuada (niveles séricos de Estradiol bajos respecto a foliculometría o incremento inadecuado de los mismos).

El tratamiento coadyuvante con GH se administrará mediante inyección subcutánea con dosis de 7,5 UI/día (rHGH, Saizen®; Serono) a partir del primer día de estimulación hasta la administración de HCG recombinante.

Las participantes se administrarán por vía subcutánea el tratamiento asignado, en el hogar, entre las 16:00 y 19:00 horas. La enfermera de la unidad detallará el modo de aplicación correcto de la medicación, despejando cualquier duda de la paciente.

ALEATORIZACIÓN Y ENMASCARAMIENTO.

Aleatorización.

Los sujetos serán asignados aleatoriamente a uno de los dos brazos de tratamiento en una proporción 1:1. La aleatorización de los participantes será realizada mediante el programa informático Epidat 3.1. Concretamente, se utilizará la herramienta de asignación de sujetos a tratamientos con función generadora de números aleatorios. El programa generará un conjunto de números en cada uno de los tratamientos, como los mostrados en Anexo I. Los participantes del ensayo serán registrados por medio de un código de identificación que coincidirá con el código de tratamiento que dictará la asignación al tratamiento.

Enmascaramiento.

El envase, embalaje y etiquetado del tratamiento será el mismo en ambos brazos, grupo de intervención y grupo placebo. El tratamiento asignado a cada participante será dispensado por la atención farmacéutica de consultas externas. Los farmacéuticos tendrán una copia del documento de números aleatorios. Los farmacéuticos registrarán la medicación y tratamiento dispensado a cada participante.

El tratamiento asignado a cada paciente será recogido en un documento cuyo acceso estará restringido. Únicamente, el investigador principal, Borja Tejero, tendrá acceso al registro mediante contraseña. El enmascaramiento será mantenido hasta la finalización del ensayo. Sólo se revelará el tratamiento asignado de los participantes ante un evento adverso.

LUGAR.

Estudio unicéntrico, que será llevado a cabo en la Unidad de Reproducción Humana Asistida del servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital General Universitario de Alicante.

TIEMPO DE EJECUCIÓN.

El ensayo será realizado entre enero de 2018 y noviembre de 2020. El estudio se divide en cuatro fases, I. Presentación de documentación al CEIC; II. Realización del número de ciclos necesarios a incluir en el ensayo; III. Recopilación de datos, análisis estadístico e interpretación de resultados; IV. Redacción y publicación del ensayo, realizadas dentro del periodo detallado.

SUJETOS.

Pacientes sometidas a técnicas de reproducción humana asistida *in vitro*, en edad fértil, en la Unidad de Reproducción Humana Asistida del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA). Los criterios de inclusión y exclusión para incluir a los sujetos de la población diana en este ensayo se describen en las secciones siguientes.

Criterios de inclusión.

1. 4-9 ovocitos recuperados en al menos un ciclo de Fecundación *In Vitro* previo.
2. Mujeres en edad comprendida entre 18 y 40 años.
3. Método inseminación por Microinyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI).

Criterio de exclusión.

1. Endometriosis severa.
2. Ovario poliquístico.
3. Cirugía ovárica previa.
4. Ooforectomía unilateral.
5. Factor seminal severo.
6. Mujeres con obesidad tipo III (índice Masa Corporal 40-49,9).
7. Uno o ambos miembros de la pareja con serología positiva para VIH, Hepatitis B y C, y VDRL.
8. Ciclos con Screening Genético Preimplantacional (SGP)/ Diagnóstico Genético Preimplantacional (DGP).

Los criterios de exclusión pueden ser factores que influyan sobre los objetivos que se persiguen en el presente ensayo, enmascarando el posible efecto del tratamiento.

Tamaño muestral.

El presente trabajo pretende evaluar la efectividad de la hormona de crecimiento en pacientes con respuesta sub-óptima a la EOC sometidas a técnicas de reproducción asistida mediante el contraste estadístico de la hipótesis enunciada.

Los valores de referencia utilizados en la determinación del tamaño muestral han sido obtenidos a partir de estudios realizados en pacientes con baja respuesta a la EOC. Concretamente, los datos utilizados en el cálculo han sido obtenidos a partir de la revisión sistemática y meta-análisis llevada a cabo por Xue-Li Li et al.¹⁹. Se ha asumido, para el cálculo del tamaño muestral, la Tasa de Nacido Vivo (TNV) como mejor indicativo clínico de la eficacia de la GH en el grupo de pacientes seleccionado. Los resultados hallados por Xue-Li Li et al.¹⁹ mostraron una TNV grupo control (P₁) de 16% frente al 27% correspondiente al grupo intervención (P₂). No se han encontrado estudios realizados en pacientes sub-óptimas con tratamiento coadyuvante con GH.

El cálculo del tamaño muestral ha sido realizado en base al siguiente algoritmo, obtenido a partir del portal de salud para médicos y pacientes Fisterra²⁰:

$$n = \frac{[Z_{\alpha} * \sqrt{2p(1-p)} + Z_{\beta} * \sqrt{P_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Donde:

- n= sujetos necesarios.
- Z_α= Valor Z correspondiente al riesgo deseado.
- Z_β= Valor Z correspondiente al riesgo deseado.
- P₁= Valor de la proporción en el grupo de referencia, placebo, control o tratamiento habitual.
- P₂= Valor de proporción en el grupo del nuevo tratamiento.
- P= Media de las dos proporciones, p1 y p2

Los valores introducidos han sido: Z_α= 1,960; Z_β= 0,842; P₁=0,16; P₂=0,27; y P= 0,21.

$$n = \frac{[1,960 * \sqrt{2 * 0,21 (1 - 0,21)} + 0,842 * \sqrt{0,16 (1 - 0,16) + 0,27(1 - 0,27)}]^2}{(0,16 - 0,27)^2}$$

$$n = 215,05 \cong 215$$

Se han estimado las posibles pérdidas de sujetos debido a ciclos cancelados por híper y baja respuesta, ciclos cancelados por errores en la pauta y dosis de administración del tratamiento, ciclos cancelados por no ovocitos y, ciclos cancelados por no embriones. El porcentaje de ciclos cancelados, por alguno de los motivos mencionados, en la unidad de reproducción asistida del HGUA en el año 2016 es 18,12%. Se ha tenido en cuenta este dato en el cálculo del tamaño muestral ajustado a las posibles pérdidas. La ecuación puede expresarse como:

$$n = \frac{1}{1 - R}$$

Donde:

- n= sujetos necesarios.
- R= proporción pérdidas esperadas.

$$n = \frac{1}{1 - 0,18}; \quad n = 254$$

Por lo tanto, el número de participantes totales a incluir en el ensayo es 254. Los sujetos serán aleatorizados a cada uno de los brazos, 127 sujetos en cada uno.

VARIABLES DE ESTUDIO.

I. Variables cuantitativas:

Variables discretas.

Ovocito Metafase II (MII): ovocito maduro caracterizado por la presencia del corpúsculo polar. La presencia del corpúsculo polar indica que la maduración nuclear ha finalizado, quedando detenido en el estado meiótico metafase II.

Ovocitos fecundados: ovocitos caracterizados por la presencia de dos pronúcleos. Cada uno de los pronúcleos pertenece al núcleo de los gametos, ovocito y espermatozoide, aportando cada uno de ellos la mitad de la dotación genética. Se descartaran los ovocitos que presenten un número mayor o menor de dos pronúcleos, prueba de fecundación anómala.

Tiempo de estimulación: periodo de tratamiento, cuantificado en días, desde el comienzo de la estimulación hasta el día de la administración de hCGr.

II. Variables cualitativas:

Variables dicotómicas.

Tasa Embarazo Clínico (T.E.C.): número de embarazos clínicos expresados por 100 ciclos con transferencia de embriones. Se considera Embarazo Clínico como, embarazo diagnosticado por visualización ecográfica de uno más sacos gestacionales con latido del corazón. Esto incluye embarazo ectópico. Tomará valores, 0: NO embarazo clínico; 1: embarazo clínico.

Tasa Nacido Vivo (T.N.V.): número de nacimientos que hayan resultado en al menos un nacido vivo expresado por 100 ciclos con transferencia de embriones. Se considera Nacido Vivo la expulsión completa del cuerpo de su madre del producto de la fecundación, independientemente de la duración del embarazo, si después de la separación respira o muestra cualquier otra evidencia de vida, tales como latido del corazón, pulsación del cordón umbilical, movimiento definido de músculos voluntarios, independientemente de si el cordón umbilical ha sido cortado o si la placenta está unida. Tomará valores, 0: NO nacido vivo; 1: Nacido vivo.

RECOGIDA DE VARIABLES.

Las variables serán recogidas en la base de datos de la Unidad de Reproducción asistida del Servicio de Obstetricia y Ginecología (URSOG), Hospital General Universitario de Alicante (HGUA). La base de datos está sustentada por un sistema de gestión de bases de datos, Microsoft Access. Esta base de datos permite recopilar datos, y ser exportados, a cualquiera de las aplicaciones incluidas en el paquete informático Microsoft Office. El acceso a la base de datos está restringido mediante contraseña, conocida únicamente por

el personal de la unidad, garantizando la seguridad de los datos. El tratamiento y cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ceñirá a lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal (LEY 15/1999).

Los ginecólogos de la unidad (Dra. Pilar Matallín, Dra. Inma Bernabeu, Dra. Ana Fernández-Peinado y Dra. Jana Valdés) registrarán el día de comienzo, dosis y día de finalización de estimulación (FSH). Estas variables serán anotadas en la base de datos de la unidad con periodicidad diaria. A partir de estos datos se obtendrá el tiempo de estimulación, producto de la diferencia entre el día de comienzo y día de finalización de la estimulación (FSH).

El número de ovocitos MII será conocido, aproximadamente, dos horas y media después de la punción (aspiración folicular). El valor será introducido en la base de datos URSOG por los embriólogos, Irene Eleno Buendicho y Borja Tejero Llinares, quedando recogida en la historia clínica de cada una de los participantes. Esta variable será recogida diariamente.

La variable ovocitos fecundados será registrada por los embriólogos del laboratorio, 16 a 18 horas posfecundación (márgenes horarios habituales en la observación de los pronúcleos). El número de ovocitos fecundados será introducido en la base de datos de la unidad. Esta variable será anotada diariamente.

El diagnóstico del embarazo clínico se realizará 21 días después de la determinación de la Gonadotropina Coriónica Humana (HCG). El diagnóstico será realizado cuando el valor de la HCG ≥ 35 UI/L. Las pacientes que sean diagnosticadas de embarazo clínico evolutivo serán dado de alta y, controlados por el tocólogo de zona. El diagnóstico será anotado en la base de datos URSOG por los ginecólogos de la unidad.

La variable Nacido Vivo será recogida 9 meses después del diagnóstico del embarazo clínico. No todas las participantes parirán en el HGUA. Las pacientes deberán comprometerse a proporcionar los datos del parto. La variable será recogida mediante vía telefónica por parte de Irene Eleno y Borja Tejero y, registrada en la base de datos de la unidad.

ANÁLISIS DE DATOS.

Inicialmente se hará un análisis descriptivo con el propósito de demostrar la homogeneidad del grupo de intervención y grupo control. La variable exposición, tomará valor 0 (tratamiento GH) y 1 (placebo). Variables descriptivas: edad, IMC, AMH, Unidades iniciales y finales de LH y FSH. El resultado quedará recogido en una tabla informativa.

Se utilizarán estadísticas descriptivas para todos los criterios de valoración de la eficacia (Tasa Embarazo Clínico, Tasa Nacido Vivo, ovocitos MII, ovocitos fecundados y tiempo de estimulación). Se obtendrá la distribución de frecuencias de las variables categóricas, así como medidas estadísticas (valores percentiles, dispersión, tendencia central y distribución) de las variables continuas.

Previo a la aplicación del estadístico de contraste, se realizará la verificación de la hipótesis de normalidad de las variables cuantitativas, mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Si la distribución es normal se utilizarán test paramétricos, y si no cumple dichos criterios, se utilizarán test no paramétricos.

El análisis estadístico del presente ensayo se basa en el contraste de hipótesis. Dicho análisis se realizará mediante tests estadísticos a través del paquete estadístico SPSS. Se realizará un análisis univariante con el fin de hallar relación causal entre la variable de exposición (GH) y las variables respuesta (TEC, TNV, ovocitos MII, ovocitos fecundados y tiempo de estimulación). La variable exposición, cualitativa dicotómica, tomará valor 0 (tratamiento GH) y 1 (placebo).

El objetivo principal del ensayo cuenta con dos variables cualitativas dicotómicas, Tasa Embarazo Clínico y Tasa Nacido Vivo. Los objetivos secundarios del estudio están constituidos por variables cuantitativas discretas, ovocitos MII, ovocitos fecundados y tiempo de estimulación.

La tabla 1 recoge las pruebas paramétricas y no paramétricas. Debido a la ausencia de datos no se ha podido determinar la distribución de las variables y en consecuencia no se ha podido escoger la prueba estadística para el contraste de hipótesis.

Tabla 1. Pruebas paramétricas y pruebas no paramétricas.

Test paramétricos		
V₁	V₂	Estadístico
Cuantitativa	Cualitativa	t-Test (2G)
Cualitativa	Cualitativa	ANOVA (>2G)
Cuantitativa	Cuantitativa	Prueba Chi 2
		Correlación de Pearson

Test NO paramétricos.		
V₁	V₂	Estadístico
Cuantitativa	Cualitativa	U Mann Whitney (2G)
Cualitativa	Cualitativa	Kuskral wallis (>2G)
Cuantitativa	Cuantitativa	Test exacto de Fisher
		Correlción de Spearman

V1: variable 1; V2: variable 2.

ASPECTOS ÉTICOS.

Los pacientes que cumplan los criterios de inclusión serán informados de los riesgos, beneficios, incomodidades y derechos. Se les facilitará el documento “hoja de información al paciente”, donde quedará recogida toda la información necesaria en términos que pueda ser comprendida por parte del paciente (*véase anexo II*). Los pacientes, antes de su inclusión en el ensayo, deben conceder la aprobación y autorización a través de la firma del consentimiento informado (*véase anexo III*). Sólo participarán aquellos pacientes que hayan comprendido correcta y totalmente los riesgos y beneficios del estudio, y que proporcionen su consentimiento voluntariamente.

Los participantes dispondrán de información durante todo el periodo de duración del estudio. Serán informados de la capacidad de revocar su consentimiento en cualquier momento, sin la necesidad de justificación y sin derivar penalización ni perjuicio alguno para el sujeto participante. El paciente que revoque el consentimiento o no participe en el estudio recibirá el tratamiento habitual propio de su diagnóstico.

El ensayo cumple con los principios éticos básicos y el respeto a los derechos humanos. El ensayo cumple con los principios éticos básicos, respeto a los derechos humanos y aspectos legales, tales como, Declaración de Helsinki, Informe Belmont, Convenio de

Oviedo del Consejo de Europa (1997), Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, RD 223/2004, D 73/2009 (Marco Legislativo de la Comunidad Valenciana).

Comité de ética.

Previo al inicio del proyecto, será entregada la documentación solicitada por el Comité de Ética del Hospital General Universitario de Alicante (CEIC) a través de su Instituto de Investigación ISABIAL. La figura 1 recoge toda la documentación requerida por el CEIC del HGUA necesaria para la aprobación del proyecto.

4. PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

4. PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

TIPO DE DOCUMENTO (art. 16 del RD 223/2004)	Nº COPIAS			DOCUMENTO	INSTRUCCIONES
	Originales	Copias	Formato electrónico		
Carta de solicitud e evaluación del Investigador Principal	1	-	Opcional		Obligatorio
Protocolo del proyecto de Investigación completo (no resumen)	1	1	Sí	ver modelo	Obligatorio
Cuaderno de Recogida de Datos Codificado (anonimizado)	1	1	Sí		Obligatorio
Hoja de información al paciente	1	2	Sí		Obligatorio
Consentimiento informado o en su defecto carta de solicitud de exención al CEIC	1	1	Sí		Obligatorio
Memoria Económica	1	1	Sí	ver modelo	Obligatorio
Autorización del Jefe de Servicio donde se realiza el proyecto	1	1	Sí	ver modelo	Obligatorio
Autorización del Jefe de Servicio de otros servicios implicados	1	1	Sí	ver modelo	Obligatorio
Informe de disponibilidad de muestras del BIOBANCO	1	1	Sí		Obligatorio (SÓLO SI REQUIERE MUESTRAS DEL BIOBANCO)
Compromiso del Investigador Principal	1	1	Sí	ver modelo	Obligatorio
CV del investigador principal	1	1	Sí		Obligatorio
CV de los colaboradores	1	1	Sí		Obligatorio
Poliza de Seguro de Responsabilidad Civil (Art 18 ley 14/2007)	1	1	sí		Obligatorio (si procede)
Certificado de existencia de seguro de RC que firma el IP.	1	1	sí	ver modelo	Obligatorio (si procede)

* La documentación en papel se presentará preparada en carpetas individuales.

* La documentación electrónica se presentará en soporte CD .

Figura 1. Documentación requerida por el CEIC del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA) a través de ISABIAL. Información obtenida del portal de Comité Ético de Investigación Clínica, Hospital General Universitario de Alicante, Generalitat Valenciana. (<http://alicante.san.gva.es/web/ceic/portada>).

INTERÉS Y RELEVANCIA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.

La Sociedad Española de Fertilidad (SEF) publicó a principios del año 2016 el informe del Registro Nacional de Actividad de los centros participantes que cubren la totalidad de las TRA correspondientes al año 2014. En España se realizaron 116688 ciclos de

FIV/ICSI ²¹. Conforme los datos presentados, la importancia del estudio queda justificada debido a que aborda el conjunto de pacientes sometidas a TRA más numeroso, resultando el 43% de los ciclos de fecundación *in vitro* (FIV/ICSI).

A demás, no hay definida una estrategia de estimulación ovárica ni co-tratamiento que mejoren los resultados clínicos de las pacientes sub-óptimas. Como se ha mencionado con anterioridad, el presente ensayo es pionero en el uso de hormona de crecimiento en pacientes con respuesta sub-óptima a la EOC pudiendo tener una considerable repercusión en el campo de la reproducción asistida.

Por otra parte, el deseo de tener un hijo sin ser logrado genera malestar, desequilibrio emocional y estrés. Las expectativas depositadas por las pacientes en las técnicas de reproducción asistida genera ilusión, esperanza y deseo que en muchas ocasiones resultan frustradas. El co-tratamiento con GH podría incrementar los resultados clínicos, disminuyendo el tiempo necesario para gozar de nacido vivo en casa, así como, disminuir la desazón y deterioro emocional.

Finalmente, el gasto económico derivado del número de ciclos necesario para obtener una gestación con nacido vivo, y el coste del tratamiento hormonal, provocan abandono debido a la imposibilidad de afrontar el valor económico total. La hormona de crecimiento podría disminuir el número de ciclos necesarios para tener un nacido vivo reduciendo el coste del tratamiento.

El interés y relevancia del presente proyecto de investigación queda resumido a continuación:

- Grupo de pacientes más numeroso sometido a TRA.
- Reducción de tiempo necesario nacido vivo en casa.
- Menor gasto en tratamiento hormonal.
- Disminución del número de ciclos necesario para obtener nacido vivo.
- Menor deterioro psicológico.

DIFICULTADES Y LIMITACIONES.

La principal dificultad del presente ensayo residió en la posología de la hormona de crecimiento. La ausencia de estudios realizados en la población seleccionada, así como la heterogeneidad de dosis utilizada en otros estudios (pacientes con baja respuesta a la EOC) supuso un entorpecimiento en la elaboración del proyecto de investigación.

PLAN DE TRABAJO.

Etapas de desarrollo del proyecto.

El ensayo será realizado entre enero de 2018 y noviembre de 2020. El estudio se distribuye en cuatro etapas:

Primera etapa: Presentación de documentación al Comité de Ética del Hospital General Universitario de Alicante (CEIC) a través de su Instituto de Investigación ISABIAL, y su aprobación necesaria para el inicio del ensayo. Toda la documentación presentada queda detallada en el apartado “ASPECTOS ÉTICOS”.

Segunda etapa: Realización del número de ciclos necesarios a incluir en el ensayo. El periodo de duración de esta fase se ha calculado a partir del tamaño muestral, número de ciclos/año y, porcentaje de pacientes con respuesta sub-óptima a la EOC. Los datos utilizados, número de punciones realizadas (297) y el porcentaje de pacientes sub-óptimas (43%), corresponden al año 2016, ambos extraídos de la base de datos de la unidad de reproducción asistida del HGUA. Esta fase tendrá una duración de 24 meses.

Tercera etapa: Recopilación de datos, análisis estadístico e interpretación de resultados. El periodo de tiempo de esta fase dependerá de la gestación de la última participante incluida en el estudio. Esta fase tendrá una duración de 5 meses, mayo de 2020 a septiembre de 2020. Intervalo de tiempo necesario para recoger las variables, incluida Tasa de Nacido Vivo, de los sujetos participantes. El análisis estadístico queda detallado en el apartado “análisis de datos”.

Cuarta etapa: Redacción y publicación del ensayo: Efectividad del uso de Hormona de Crecimiento (GH) en pacientes con respuesta sub-óptima a la Estimulación Ovárica Controlada (EOC) sometidas a Técnicas de Reproducción Asistida (TRA): *Ensayo Clínico Aleatorizado doble ciego controlado con placebo*. Este bloque tendrá una duración de 8 meses, iniciándose en febrero 2020 y finalizando en noviembre 2020.

Final del proyecto.

El proyecto finalizará con la publicación del estudio “Efectividad del uso de Hormona de Crecimiento (GH) en pacientes con respuesta sub-óptima a la Estimulación Ovárica Controlada (EOC) sometidas a Técnicas de Reproducción Asistida (TRA): *Ensayo Clínico Aleatorizado doble ciego controlado con placebo*” en noviembre de 2020.

Distribución de tareas del equipo investigador.

1ª Etapa: Documentación CEIC.

La cumplimentación y presentación de la documentación requerida por el CEIC del Hospital General Universitario de Alicante será realizada por el jefe de servicio de ginecología y obstetricia del centro, Dr. Juan Carlos Martínez Escoriza; jefa de la unidad de reproducción asistida del HGUA, Dra. Pilar Matallín y; embriólogo laboratorio de la unidad de reproducción asistida Borja Tejero.

2ª Etapa: Recogida de variables.

El día de comienzo de la estimulación, dosis, día de finalización de la estimulación y, diagnóstico de embarazo clínico será registrada en la base de datos URSOG por las ginecólogas de la unidad de reproducción asistida, Dra. Pilar Matallín, Dra. Inma Bernabeu, Dra. Ana Fernández-Peinado y Dra. Jana Valdés.

Las variables ovocitos MII, ovocitos fecundados y nacido vivo serán introducidas en la base de datos de la unidad de reproducción asistida por los embriólogos Irene Eleno y Borja Tejero.

3ª Etapa: Recopilación de datos, análisis e interpretación de variables.

Toda la metodología perteneciente al análisis de datos (recogida de variables, descripción de la muestra, análisis de datos para dos variables) del ensayo será realizada por Irene Eleno y Borja Tejero.

4ª Etapa: Redacción y publicación del ensayo clínico.

La escritura del artículo será realizada por la Dra. Pilar Matallín, y los embriólogos Irene Eleno y Borja Tejero.

Cronograma de actividades.

Véase anexo IV.

Experiencia del equipo investigador.

El equipo investigador está formado por profesionales de larga trayectoria en el campo de la reproducción asistida, con publicaciones previas en revista de alto índice de impacto. Todos ellos forman parte del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital General Universitario de Alicante, desarrollando gran parte de su actividad en la Unidad de Reproducción asistida.

Algunos de ellos forman parte del Instituto de Investigación Sanitaria y Biomédica de Alicante (ISABIAL), haciendo investigación en reproducción.

MEDIOS DISPONIBLES.

Las instalaciones de la Unidad de Reproducción asistida del Hospital General Universitario de Alicante cuentan con los recursos materiales y humanos necesarios para el desarrollo completo del estudio de investigación presentado.

Todos los procedimientos de laboratorio tendrán lugar en el laboratorio de Fecundación *In Vitro* incluido en las instalaciones de la unidad de reproducción asistida. Las técnicas y procedimientos de laboratorio que se realizarán durante el tiempo de ejecución del estudio son: Valoración y capacitación seminal, denudación/ decumulación ovocitaria, valoración morfológica de ovocitos y embriones, cultivo embrionario, Microinyección Intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) y transferencia embrionaria. El laboratorio dispone del material fungible e inventariable (equipamiento) necesario para el desempeño de todas las técnicas y procedimientos anteriormente mencionados.

La Unidad de Reproducción cuenta con una sala de punciones donde se procederá a la extracción ovocitaria, mediante punción y aspiración de folículos antrales. Las foliculometría, ecografías de gestación, pauta de administración del tratamiento e, información de resultados se realizarán en consulta por los ginecólogos.

El material fungible y equipamiento necesario en el estudio queda recogido en el anexo V.

El ECA se desarrollará durante la rutina de trabajo diaria de la Unidad de Reproducción.

El estudio no requerirá tiempos e instalaciones distintos a los habituales.

PRESUPUESTO.

El presente estudio se efectuará empleando los procedimientos y técnicas realizadas rutinariamente en pacientes que se someten a Fecundación *In Vitro*. Así pues, el ECA, no requerirá de un coste económico adicional en personal, material fungible y material no gastable (equipamiento).

El personal investigador desarrollará su participación en el estudio durante el horario laboral habitual.

Sin embargo, se requerirá de financiación para la publicación artículo científico. El estudio será presentado en la revista *Fertility and Sterility*. Para cada artículo publicado de acceso abierto el coste de publicación es de 31545,98 € (3500 USD), impuestos no incluidos.

Se tendrán en cuenta el coste de asistencia a congresos para presentar los resultados obtenidos. Por ejemplo, asistencia al congreso de la Sociedad Española de Fertilidad.



BIBLIOGRAFÍA.

1. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L. *ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the bologna criteria*. Hum Reprod. 2011, 26 (7): 1616-1624.
2. La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. Hum Reprod Update. 2014, 20 (1): 124-140.
3. Steward RG, Lan Lan, Shah AA, Yeh JS, Price TM, Goldfarb JM, Muasher SJ. *Oocyte number as a predictor for ovarian hyperstimulation syndrome and live birth: an analysis of 256,381 in vitro fertilization cycles*. Fertility and Sterility. 2014, 101(4): 967-973.
4. Polyzos NP, Sunkara SK. *Sub-optimal responders following controlled ovarian stimulation: an overlooked group?* Hum Reprod. 2015, 30 (9):2005-2008.
5. Sunkara SK, Rittenberg V, Fenning NR, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. *Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles*. Hum Reprod. 2011, 26 (7): 1768-1774.
6. Bosch E, Ezcurra D. *Individualised controlled ovarian stimulation (iCOS): maximising success rates for assisted reproductive technology patients*. Reprod Biol Endocrinol. 2011, 9: 82.
7. Revelli A, Pettinau G, Basso G, Carosso A, Ferrero A, Dallan C, Canosa S, Gennarelli G, Guidetti D, Filippini C, Benedetto C. *Controlled Ovarian Stimulation with recombinant-FSH plus recombinant-LH vs. human Menopausal Gonadotropin based on the number of retrieved oocytes: results from a routine clinical practice in a real-life population*. Reprod Biol Endocrinol. 2015, 13:77.
8. Van Loendersloot LL, Van Wely M, Limpens J, Boussuyt PMM, Repping S, Van der Veen F. *Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis*. Human Reproduction Update. 2010, 16 (6): 577-589.
9. Giovanale V, Pulcinelli FM, Ralli E, Primiero FM, Caserta D. *Poor responders in IVF: an update in therapy*. Gynecol Endocrinol. 2014, 31 (4): 253-257.
10. Pabuccu EG, Caglar GS, Pabuccu R. Estrogen or anti-estrogen for Bologna poor responders. Gynecol Endocrinol. 2015, 31 (12): 955-958.

11. Hart RJ, Rombauts L, Norman RJ. *Growth Hormone in IVF cycles: any hope?* Curr Opin Obstet Gynecol. 2017, 29.
12. Regan S, Stanger J, Yovich JL, Almahbobi G. Growth hormone increase gonadotropin receptor in poor-prognosis patients. Hum Reprod. 2012, 27 (525).
13. Eftekhari M, Aflatoonian A, Mohammadian F, Eftekhari T. *Adjuvant growth hormone therapy in antagonist protocol in poor responders undergoing assisted reproductive technology.* Arch Gynecol Obstet. 2013, 287: 1017-1021.
14. Hazout A, Junca AM, Ménéz Y, Mouzon J, Cohen-Bacrie P. *Effect of growth hormone on oocyte competence in patients with multiple IVF failures.* RBMonline. 2009, 18 (5): 664-670.
15. Bassiouny YA, Dakhly DM, Bayoumi YA, Hashish NM. *Does the addition of growth hormones to the in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection antagonist protocol improve outcomes in poor responders? A randomized, controlled trial.* Fertil Steril. 2016, 105 (3): 697-702.
16. Kolibianakis EM, Venetis CA, Diedrich K, Tarlatzis BC, Griesinger G. Addition of growth hormone to gonadotrophins in ovarian stimulation of poor responders treated by in-vitro fertilization: a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update. 2009, 15 (6): 613-622.
17. Yovich JL, Stanger JD. *Growth hormone supplementation improves implantation and pregnancy productivity rates for poor-prognosis patients undertaking IVF.* RBM online. 21: 37-49.
18. Tesarik J, Hazout A, Mendoza C. Improvement of delivery and live birth rates after ICSI in women aged >40 years by ovarian co stimulation with growth hormone. Hum Reprod. 2005, 20 (9): 2536-2541.
19. Li XL, Wang L, Lv F, Huang XM, Wang LP, Pan Y, Zhang XM. *The influence of different growth hormone addition protocols to poor ovarian responders on clinical outcomes in controlled ovary stimulation cycles: A systematic review and meta-analysis.* Medicine. 2017, 96 (12).
20. Fistera.com, Atención Primaria en la Red [sede Web]. La Coruña: Fistera.com; 1990- [actualizada el 3 de enero de 2006; acceso 12 de enero de 2006]. Disponible en: <http://www.fistera.com>
21. Sociedad Española de Fertilidad.(2017). Informe Registro Nacional de Actividad 2014-Registro SEF - IA Y FIV/ICSI. www.registrosef.com

ANEXOS.

Anexo I. Tabla de números aleatorios.

Número de tratamientos	<input type="text" value="2"/>	Tipo de grupos a crear
Número de sujetos	<input type="text" value="254"/>	<input checked="" type="radio"/> Grupos de igual tamaño <input type="radio"/> Grupos equilibrados

Número de tratamientos: 2
Tamaño de muestra: 254

Tratamiento: 1

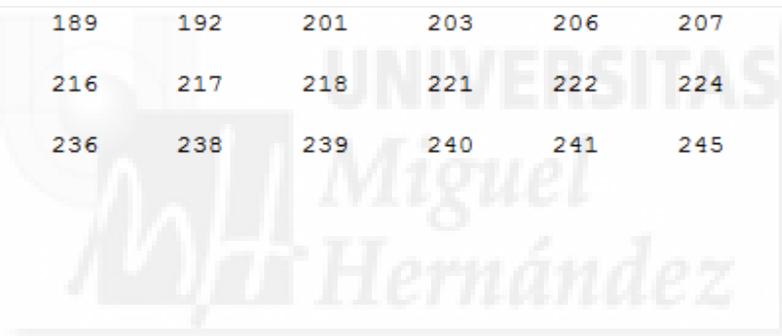
Número de los sujetos seleccionados: 127

23	1	2	5	6	12	14	16	18	19
39	25	27	28	29	30	31	35	36	38
63	42	43	46	47	48	51	55	56	60
86	64	68	74	75	76	77	82	83	85
106	87	88	89	90	91	94	95	100	101
130	107	108	110	116	120	121	122	126	127
153	131	133	135	136	138	142	148	149	150
175	156	158	159	161	162	164	166	169	173
193	177	179	181	182	184	187	188	190	191
205	194	195	196	197	198	199	200	202	204
229	208	209	211	213	219	220	223	225	228
247	230	231	233	235	237	242	243	244	246
	248	249	250	251	252	253	254		

Tratamiento: 2

Número de los sujetos seleccionados: 127

	3	4	7	8	9	10	11	13	15
17									
	20	21	22	24	26	32	33	34	37
40									
	41	44	45	49	50	52	53	54	57
58									
	59	61	62	65	66	67	69	70	71
72									
	73	78	79	80	81	84	92	93	96
97									
	98	99	102	103	104	105	109	111	112
113									
	114	115	117	118	119	123	124	125	128
129									
	132	134	137	139	140	141	143	144	145
146									
	147	151	152	154	155	157	160	163	165
167									
	168	170	171	172	174	176	178	180	183
185									
	186	189	192	201	203	206	207	210	212
214									
	215	216	217	218	221	222	224	226	227
232									
	234	236	238	239	240	241	245		



Anexo II. Hoja de información al paciente.

HOJA DE INFORMACIÓN A LOS PARTICIPANTES EN LA INVESTIGACIÓN.

TITULO.

Efectividad del uso de Hormona de Crecimiento (GH) en pacientes con respuesta sub-óptima a la Estimulación Ovárica Controlada (EOC) sometidas a Técnicas de Reproducción Asistida (TRA): *Ensayo Clínico Aleatorizado doble ciego controlado con placebo.*

INVESTIGADOR RESPONSABLE.

Borja Tejero Llinares.

Embriólogo.

Hospital General Universitario de Alicante (HGUA).

Servicio Obstetricia y Ginecología.

Unidad de Reproducción Asistida.

965913496

DATOS DEL ESTUDIO.

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación (Ensayo Clínico Aleatorizado, ECA) en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA) a través de su Instituto de Investigación ISABIAL.

El ensayo cumple con los principios éticos básicos y aspectos legales, tales como, Declaración de Helsinki, Informe Belmont, Convenio de Oviedo del Consejo de Europa

(1997), Ley 14/2007 de Investigación Biomédica, RD 223/2004, D 73/2009 (Marco Legislativo de la Comunidad Valenciana).

El presente documento tiene como objetivo proporcionarle la información necesaria para la comprensión del estudio, así como, ser informado de los riesgos, beneficios, incomodidades y derechos. Cualquier duda o aclaración que precise, será resuelta por el investigador principal.

Objetivos.

Objetivo principal.

Establecer la efectividad, Tasa Embarazo Clínico y Tasa Nacido Vivo, del uso de la hormona de crecimiento en pacientes con respuesta sub-óptima a la estimulación ovárica controlada sometidas a programas de reproducción humana asistida.

Objetivo secundarios.

1. Determinar la efectividad, en términos de número de ovocitos metafase II y ovocitos fecundados, de la Hormona de Crecimiento en pacientes con respuesta sub-óptima a la estimulación ovárica controlada sometidas a programas de reproducción asistida.
2. Conocer tiempo de estimulación ovárica en pacientes con respuesta sub-óptima a la estimulación ovárica controlada, tratadas con hormona de crecimiento.

Metodología.

La metodología seguida en el presente estudio es la misma que la desarrollada en un tratamiento Fecundación *In Vitro* convencional.

Se realizará una estimulación ovárica controlada, efectuando controles ecográficos transvaginales cada dos días.

La punción folicular y aspiración ovocitaria se realizará 36 horas después de la inducción de la ovulación, con anestesia general.

Los ovocitos obtenidos serán inseminados mediante Microinyección Intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

Los embriones resultantes de la ICSI serán cultivados y evaluados diariamente.

El número de embriones y día de cultivo embrionario seleccionado para la transferencia, dependerá de características y antecedentes de los pacientes, y será decidido por los ginecólogos y embriólogos.

Adicionalmente al presente documento, usted recibirá un documento informativo “FECUNDACIÓN IN VITRO O MICROINYECCIÓN ESPERMÁTICA” donde queda recogida toda la información del procedimiento convencional.

Aleatorización.

Usted será asignado aleatoriamente (al azar) a uno de los dos grupos de tratamiento del ensayo. La aleatorización será realizada mediante un programa informático de análisis estadístico y epidemiológico. El programa generará un conjunto de números en cada uno de los tratamientos. Será registrado en el ensayo por medio de un código de identificación que coincidirá con el código de tratamiento que dictará la asignación al tratamiento.

Usted puede recibir el tratamiento placebo.

Finalidad del estudio.

El 43% de las pacientes que se someten a fecundación *In Vitro* responden de manera sub-óptima a la estimulación ovárica controlada. La paciente sub-óptima supone el grupo más numeroso que se somete a Técnicas de Reproducción Asistida (TRA). La aplicación de hormona de crecimiento puede abrir un nuevo camino de tratamiento en este grupo de pacientes.

Fisiológicamente, la hormona de crecimiento es liberada por la adenohipófisis ejerciendo efectos metabólicos en la mayor parte de los tejidos. La hormona de crecimiento estimula el desarrollo de los folículos antrales en etapas dependientes de gonadotropinas, así como la maduración de los ovocitos.

El ensayo presentado pretende optimizar y mejorar los resultados clínicos en términos de Tasa de Nacido Vivo (TNV).

Beneficios derivados del estudio.

La investigación tiene como finalidad el avance de una disciplina, reproducción asistida, y la elaboración de nuevas prácticas. Es decir, pretende esclarecer si el uso de hormona de crecimiento es tan eficaz y seguro como el tratamiento convencional, o si por el

contrario no produce beneficio alguno. Si el tratamiento con hormona de crecimiento demostrara ser eficaz y usted hubiera sido asignado a dicho grupo, podría tener un beneficio directo por su participación en el estudio. En cualquier caso, a día de hoy, no podemos asegurarle que usted vaya a recibir este beneficio por su participación en el estudio. Pero es importante que sepa que con su participación en el mismo, con independencia del tratamiento que reciba, puede contribuir a un avance científico que sirva para mejorar la calidad de vida de las personas con su misma lesión.

TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS.

Si declina participar en el presente proyecto de investigación recibirá los tratamientos convencionales de estimulación ovárica controlada. Concretamente, recibirá gonadotropinas (FSH y LH).

DERECHOS DEL PARTICIPANTE.

Participación voluntaria y posibilidad de retirarse.

Usted debe saber que la participación en el ensayo clínico es voluntaria, otorgando libremente el consentimiento informado firmado, una vez haya comprendido la información que se le ha dado acerca de los objetivos de éste, beneficios, incomodidades y riesgos previstos, alternativas posibles, derechos y responsabilidades .

Debe saber que tiene derecho a la revocación del consentimiento y sus efectos. El participante que decida abandonar el estudio tendrá que comunicarlo al investigador principal y firmar la revocación del consentimiento, en cualquier momento, sin perjuicio de su tratamiento médico

Debe saber que dispone de la posibilidad de contactar con el investigador en caso de aparición de algún efecto adverso imprevisto.

Confidencialidad de los datos.

Los participantes gozarán de confidencialidad de la información obtenida. Toda la información que se genere durante el estudio será almacenada en la base de datos de la unidad de reproducción y en documentos de acceso restringido. Solo podrán acceder a los datos y documentación generada el personal investigador. El responsable de los

ficheros será el investigador principal. Dispone del derecho de acceso, rectificación, cancelación y oposición, para lo cual deberá dirigirse al investigador principal. Toda la información producida durante el desarrollo de la investigación será eliminada una vez cumplido los objetivos.

Los datos serán recogidos en la base de datos de la Unidad de Reproducción asistida del Servicio de Obstetricia y Ginecología (URSOG), Hospital General Universitario de Alicante (HGUA). La base de datos está sustentada por un sistema de gestión de bases de datos, Microsoft Access. Esta base de datos permite recopilar datos, y ser exportados, a cualquiera de las aplicaciones incluidas en el paquete informático Microsoft Office, a partir del cual se realizará el análisis estadístico pertinente que permitan detectar la efectividad de la GH.

El ensayo garantiza la seguridad de los datos cumpliendo con la LEY 15/1999, de protección de datos de carácter personal.

Compensación económica.

No se obtendrá ninguna compensación económica, ni le supondrá gasto económico adicional al paciente que decida participar en el estudio.

Seguro.

Se ha contratado una póliza de seguro de responsabilidad civil que cubrirá los daños inesperados causados por su participación en el estudio y hasta la finalización del mismo, siempre que estos daños no sean consecuencia de la técnica o por ineficacia del tratamiento.

Anexo III. Consentimiento informado.

DOCUMENTO DE CONFORMIDAD

El presente consentimiento informado se dirige a pacientes atendidos en la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital General Universitario de Alicante.

He leído y comprendido la hoja de información que me ha sido entregada en relación al estudio de investigación “Efectividad del uso de Hormona de Crecimiento en pacientes con respuesta sub-óptima a la Estimulación Ovárica Controlada sometidas a Técnicas de Reproducción Asistida: *Ensayo Clínico Aleatorizado doble ciego controlado con placebo*”. He dispuesto de tiempo suficiente para considerar mi participación, pudiendo haber realizado las preguntas necesarias, y habiendo sido contestadas.

Los abajo firmantes manifiestan libre y voluntariamente ser incluidos en el estudio de investigación indicado.

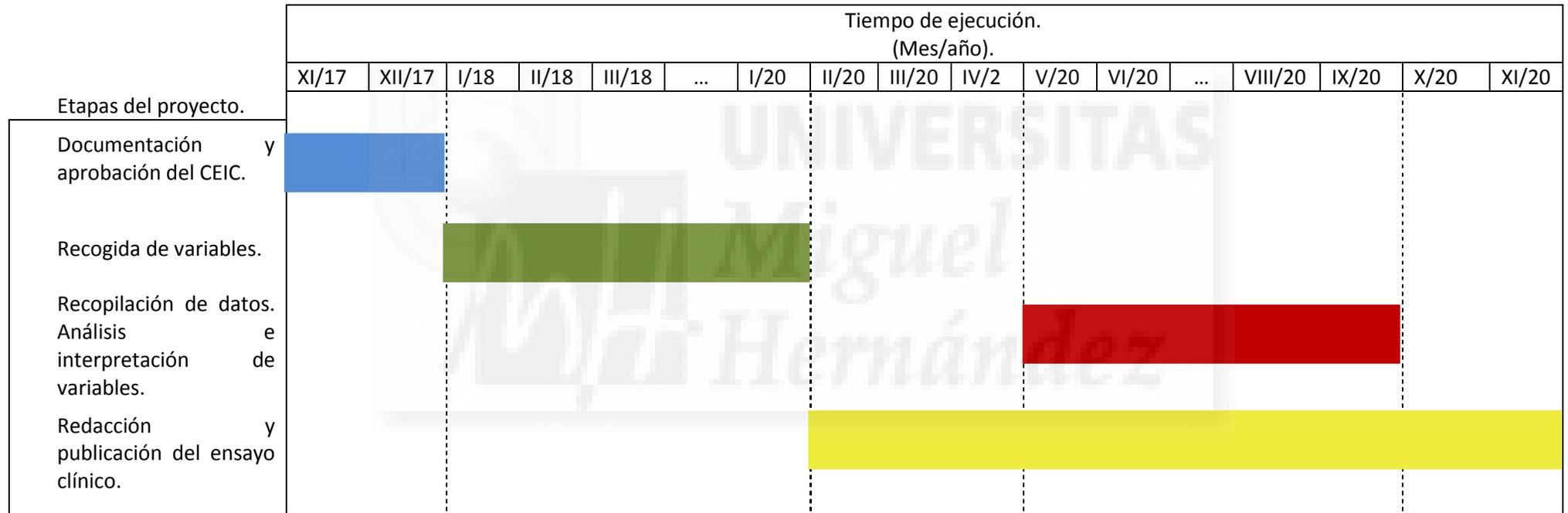
Firma*

Firma*

* Nombre, apellidos, fecha y DNI.

Anexo IV. Cronograma.

Figura 2. Cronograma de ejecución de las etapas.



Anexo V. Material disponible.

I. Material fungible.

- Placas cultivo 5 pocillos (Vitrolife).
- Placa recolección ovocitaria 90mm (Vitrolife).
- Placa recolección ovocitaria 35x10mm (BF Falcon).
- Placa Petri ICSI 50x9mm (FALCON).
- Tubo recolección ovocitaria 14mL (Vitrolife).
- Tubo fondo redondo 8mL (FALCON).
- Tubo fondo redondo 5mL (FALCON).
- Tubo centrifuga graduado 15mL (Vitrolife).
- Pipetas pasteur (InterScientific, Vidrafoc)
- Puntas pipeta 50-1000 μ L (eppendorf).
- Puntas pipeta 2-200 μ L (eppendorf).
- Puntas pipeta 0.1-20 μ L (eppendorf).
- Pipetas serológicas graduadas 5mL (SARSTEDT).
- Jeringa transferencia 1mL (COOK MEDICAL).
- Catéter de transferencia (COOK MEDICAL).
- Agujas aspiración folicular Labotect de 17 G (LABOTECT).

II. Medios de Cultivo.

- G-IVFTM (Vitrolife).
- G-MOPSTM (Vitrolife).
- G-1TM (Vitrolife).
- G-2TM (Vitrolife).

HYASE™ (Vitrolife).

ICSI™ (Vitrolife).

EmbryoGlue® (Vitrolife).

OVOIL™ (Vitrolife).

Kit Gradientes espermático 40/80 (COOK MEDICAL).

III. Equipamiento.

Ecógrafo Voluson F6 (General Electric).

Incubadores Labotect C200 (LABOTECT).

Centrífuga (J.P.Selecta).

Estufa (J.P.Selecta).

Campana flujo Laminar (IVF Workstation L126 Dual, Ksystem).

Lupa binocular SMZ 800 (Nikon).

Bomba aspiración folicular electrónico (Labotect 4014).

Microscopio invertido (Eclipse TE2000-S, Nikon).