

Trabajo de Fin de Máster en Biología y Tecnología  
Aplicada a la Reproducción Humana Asistida

ESTRATEGIA PARA LA RESTAURACIÓN DE LA FERTILIDAD EN  
MUJERES CON BAJA RESERVA OVÁRICA MEDIANTE EL  
MÉTODO DE REJUVENECIMIENTO OVÁRICO

AUTORA:

Rainia D. Sánchez Jorge

TUTORA:

Beatriz Amorocho Llanos

# ÍNDICE

	Páginas
Resumen.....	4
Summary .....	5
1. Introducción .....	6
2. Objetivos .....	12
3. Materiales y métodos.....	13
4. Resultados .....	17
5. Discusión .....	31
6. Conclusiones .....	37
7. Bibliografía .....	38

## LISTADO DE SIGLAS

<b>AMH</b>	Anti-Müllerian Hormone
<b>ART</b>	Assisted Reproduction Techniques
<b>ASCOT</b>	Autologous stem cell ovarian transplantation
<b>DHEA</b>	Dehidroepiandrosterona
<b>DOR</b>	Decreased Ovarian Reserve
<b>EGF</b>	Epidermal Growth Factor
<b>FGF</b>	Fibroblast Growth Factor
<b>FIV</b>	Fecundación in vitro
<b>FOP</b>	Fallo ovárico precoz
<b>FSH</b>	Follicle Stimulating Hormone
<b>G-CSF</b>	Granulocyte Colony-stimulating Factor
<b>HGF</b>	Hepatocyte Growth Factor
<b>ICSI</b>	Intracytoplasmic Sperm Injection
<b>IGF-1</b>	Insulin-like Growth Factor-1
<b>IOP</b>	Insuficiencia Ovárica Precoz
<b>MII</b>	Metafase II
<b>PDGF</b>	Platelet Derived Growth Factor
<b>PGTA</b>	Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy
<b>POR</b>	Reserva Ovárica Deficiente
<b>PRP</b>	Plasma Rico en Plaquetas
<b>RA</b>	Reproducción asistida
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Transforming Growth Factor- $\beta$

## RESUMEN

Este trabajo tiene como objetivo explicar las distintas técnicas o estrategias que existen para restaurar la fertilidad en mujeres con baja reserva ovárica mediante el método de Rejuvenecimiento Ovárico.

Se irán detallando los cambios fisiológicos y morfológicos que sufre el ovario a lo largo de la vida, las circunstancias que pueden llevar a una reserva ovárica baja y, sobre todo, detallar las distintas técnicas, con sus diferencias, beneficios, avances y resultados hasta el momento.

Las técnicas de Rejuvenecimiento Ovárico que vamos a desarrollar son:

- Plasma Rico en Plaquetas (PRP): Se realiza una extracción de sangre periférica y se separan las plaquetas que son células capaces de producir factores de crecimiento y de regeneración tisular. Estas células inyectadas en la corteza ovárica mediante punción ovárica bajo sedación permiten rescatar folículos primordiales muy pequeños y promover su crecimiento, teniendo mejores resultados en los ciclos de reproducción asistida, aumentando el número de óvulos obtenidos.
- Técnica ASCOT (por sus siglas en inglés, Autologous stem cell ovarian transplantation): Consiste en la activación de células madre procedentes de médula ósea mediante G-CSF (Granulocyte Colony-stimulating Factor), que después son infundidas en el ovario.
- Técnica OFFA (por sus siglas del inglés, Ovarian fragmentation for follicular activation): consiste en realizar extracción de tejido ovárico, mediante laparoscopia y, en el laboratorio se activa la corteza extraída para luego ser re-implantada en el ovario en un área bien vascularizada.

Estas técnicas permiten ayudar a:

- Recuperar la función ovárica a nivel de los procesos implicados en el reclutamiento folicular.
- Activar los folículos silentes (folículos pre-antrales) para que crezcan y se desarrollen evitando que desaparezcan.
- Rescatar folículos primordiales muy pequeños permitiendo su crecimiento.
- Entre otros beneficios que iremos desarrollando.

## SUMMARY

This work aims to explain the different techniques or strategies that exist to restore fertility in women with low ovarian reserve through the Ovarian Rejuvenation method.

The physiological and morphological changes that the ovary undergoes throughout life will be detailed, the circumstances that can lead to a low ovarian reserve and, above all, the different techniques will be detailed, with their differences, benefits, advances and results until the end. moment.

The Ovarian Rejuvenation techniques that we are going to develop are:

- Platelet Rich Plasma (PRP): A peripheral blood extraction is performed and the platelets, which are cells capable of producing growth and tissue regeneration factors, are separated. These cells injected into the ovarian cortex through ovarian puncture under sedation make it possible to rescue very small primordial follicles and promote their growth, having better results in assisted reproduction cycles, increasing the number of eggs obtained.
- ASCOT technique (Autologous stem cell ovarian transplantation): It consists of the activation of stem cells from bone marrow using G-CSF (Granulocyte Colony-stimulating Factor), which are then infused into the ovary.
- OFFA technique (Ovarian fragmentation for follicular activation): consists of extracting ovarian tissue through laparoscopy and, in the laboratory, the extracted cortex is activated and then re-implanted into the ovary in a well-developed area. vascularized.

These techniques help to:

- Recover ovarian function at the level of the processes involved in follicular recruitment.
- Activate silent follicles (pre-antral follicles) so that they grow and develop, preventing them from disappearing.
- Rescue very small primordial follicles allowing their growth.
- Among other benefits that we will develop.

# 1. INTRODUCCIÓN

Cada vez son más las mujeres que deciden aplazar la maternidad; es por esto por lo que la edad media para el primer embarazo sigue aumentando en España. En 1981 la edad materna se situó en los 28,2 años y en 1996 superó el umbral de los 30 años. En 2021 la edad media alcanzó los 32,6 años que corresponde a la segunda edad más alta de maternidad en la Unión Europea siendo Irlanda el país que ocupa el segundo puesto con una media de 32,7.

De acuerdo con las últimas estadísticas (2021), España ostentaba la primera posición en el porcentaje de nacimientos de mujeres con edades de 40 o más años sobre el total de nacimientos (10,7%), referenciado por Focus on Spanish Society, publicación editada por Funcas, el cual es un centro de análisis dedicado a la investigación económica y social. (Focus mayo 2023). Esto ha llevado a que los profesionales de la Reproducción Asistida tengan que estudiar nuevas técnicas o vías, como es el rejuvenecimiento ovárico, debido sobre todo a la gran influencia que tiene la edad materna en la fertilidad y la gran demanda que están teniendo las mujeres que recurren a los tratamientos de fertilidad en la actualidad.

El envejecimiento ovárico es un proceso fisiológico asociado a una disminución en la cantidad y calidad de los ovocitos almacenados dentro de la cohorte folicular (Seli E et al., 2015). En ambos ovarios, el número total de ovocitos al nacer es de 1-2 millones, y antes de llegar a la pubertad, más de la mitad de los ovocitos sufrirán atresia (Broekmans FJ et al., 2009). El aumento notable en la degeneración del folículo se observó en las mujeres mayores de 37 años y, en promedio, alrededor de 1000 ovocitos están presentes en la etapa de la menopausia (Fritz R et al., 2018).

La disminución fisiológica relacionada con la edad en el número de folículos tiene implicaciones críticas para la fertilidad y es una razón cada vez más frecuente para que las mujeres busquen un tratamiento de fertilidad. De hecho, el número de mujeres que se someten a un tratamiento de infertilidad con técnicas de reproducción asistida (ART, del inglés) en los Estados Unidos con un diagnóstico de reserva ovárica disminuida

(DOR, del inglés) aumentó de 22,089 casos en 2010 a 40,883 casos en 2017 (CDC, 2017).

La forma extrema de Reserva Ovárica Disminuida con Insuficiencia Ovárica Precoz (IOP, del inglés), afecta al 1 % de las mujeres en edad reproductiva y se caracteriza por una disminución severa de la reserva ovárica antes de los 40 años, lo que resulta en niveles de la hormona gonadotropina sérica menopáusica e irregularidad menstrual o amenorrea (Cakiroglu et al., 2020). Directrices de la Sociedad Europea de Medicina Reproductiva y Embriología define Insuficiencia Ovárica Precoz como la presencia de oligomenorrea o amenorrea durante al menos 4 meses y niveles séricos de hormona estimulante del folículo (FSH, del inglés) de  $\geq 25$  UI/ml medidos al menos dos veces con un intervalo de 4 semanas, con un inicio antes de los 40 años (Cakiroglu et al., 2020).

El término «rejuvenecimiento ovárico» se utiliza para englobar una serie de técnicas, algunas de ellas muy innovadoras y pioneras, que tienen como objetivo revertir procesos de insuficiencia ovárica primaria o menopausia precoz. Otro concepto es que, el rejuvenecimiento ovárico incluye aquellas técnicas dirigidas a la reactivación de las células madre y de los folículos remanentes en el ovario (Adolfo de Prados A., 2023).

En medicina reproductiva se han utilizado diferentes estrategias de tratamiento como la coenzima Q10, la dehidroepiandrosterona (DHEA, del inglés), suplementos dietéticos antioxidantes que contienen vitaminas C y E y melatonina para disminuir el estrés oxidativo y también mejorar la reserva ovárica. Sin embargo, los estudios de aprobación de la eficacia de estas terapias siguen sin estar claros y, los estudios de metaanálisis tampoco han sido concluyentes. Es por esto por lo que, el papel de las plaquetas en el desencadenamiento de la proliferación celular y la diferenciación de tejidos se considera una estrategia prometedora en medicina regenerativa (Özcan P et al., 2016).

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP, del inglés) se ha utilizado y estudiado desde la década de 1970 y se ha implementado en la práctica clínica habitual como agente rejuvenecedor o para promover la curación en dermatología, cirugía plástica, odontología y ortopedia (Foster TE et al., 2009). De manera similar, en obstetricia y ginecología, se realizaron varios estudios con un tamaño de muestra pequeño para investigar los efectos de la inyección de Plasma Rico en Plaquetas en el útero y los

ovarios. Los primeros datos sobre inyección intraovárica de Plasma Rico en Plaquetas fueron publicados por Sills et al. en febrero del 2018 (Sills ES et al., 2018).

El plasma rico en plaquetas se obtiene de la sangre total, que contiene (55%), glóbulos rojos (41%), plaquetas y glóbulos blancos (4 %), mediante centrifugación y separación de sus diferentes componentes (Holcomb JB et al., 2015).

Las plaquetas transportan más de 800 tipos de moléculas de proteínas, citocinas, hormonas y quimioatrayentes. La activación de las plaquetas induce la liberación de una variedad de proteínas biológicamente activas, que estimulan la proliferación, el crecimiento y la diferenciación celular (Pietrzak WS et al., 2005). Los mediadores biológicamente activos liberados por las plaquetas activadas incluyen el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF, del inglés), el factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ , del inglés), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF, del inglés), el factor de crecimiento epidérmico (EGF, del inglés), el factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1, del inglés) y factor de crecimiento de hepatocitos (HGF, del inglés). El PRP induce angiogénesis (proceso fisiológico que consiste en la formación de vasos sanguíneos nuevos a partir de los vasos preexistentes formados en la etapa temprana del proceso embrionario) y anabolismo acelerados, control de la inflamación, migración celular, diferenciación y proliferación (Pietrzak WS et al., 2005).

Se ha demostrado que los factores de crecimiento presentes en el PRP desempeñan un papel importante en la mejora de la síntesis de colágeno, la proliferación de células óseas, la quimiotaxis de fibroblastos, la activación de macrófagos, la angiogénesis, la quimiotaxis de células inmunitarias, la migración y mitosis de células endoteliales, la diferenciación de células epiteliales y secreción de citocinas por células mesenquimatosas y epiteliales. La terapia PRP autóloga utiliza inyecciones de plasma y plaquetas concentradas del propio paciente después de la extracción de sangre venosa. La teoría detrás del uso de esta modalidad para el tratamiento se deriva del proceso de curación natural que es la respuesta inicial del cuerpo a la lesión tisular al administrar plaquetas activadas y liberar factores de crecimiento (Serín Seckin et al., 2022).

Las propiedades curativas más destacadas de las plaquetas han llevado al uso de plasma rico en plaquetas en todos los aspectos de la medicina regenerativa. Sin embargo, su

concentración es un factor poderoso, tiene una concentración 7 veces mayor que el suero circulante actual. La efectividad del PRP como estrategia terapéutica crítica en diferentes enfermedades como enfermedades oculares, infarto de miocardio, lesiones nerviosas y cirugía estética es considerable (Amable PR et al., 2013).

Recientemente, el tratamiento con plasma rico en plaquetas se ha utilizado como complemento en la tecnología de reproducción asistida, en particular, como una inyección intraovárica junto con la fecundación in vitro para mujeres que tienen reserva ovárica deficiente (POR, del inglés), insuficiencia ovárica precoz o incluso menopausia (Sills ES et al., 2019). Hay varios estudios, que van desde estudios en animales hasta ensayos prospectivos controlados en humanos, que han tenido como objetivo dilucidar el efecto de la administración intraovárica de PRP.

En el mismo estudio de Sills et al. en febrero del 2018 se informó una mejora en los parámetros de laboratorio después de administrar Plasma Rico en Plaquetas intraovárico en cuatro mujeres con Reserva Ovárica Disminuida. Posteriormente en diciembre del mismo año, Sfakianoudis et al. informó el primer embarazo en una mujer menopáusica después de la inyección intraovárica de Plasma Rico en Plaquetas (Sfakianoudis K et al., 2018). Esta era una mujer de 40 años diagnosticada con IOP a la edad de 35 años. Sus biomarcadores séricos de reserva ovárica mejoraron después del procedimiento de PRP y se logró el embarazo después de la FIV; sin embargo, el aborto espontáneo ocurrió en la quinta semana de gestación.

Examinando un modelo, Hosseini et al. en 2018, reportaron un aumento significativo en el desarrollo de folículos antrales tempranos después de ser cultivados con Plasma Rico en Plaquetas, concluyendo que puede ser un método efectivo para inducir el desarrollo folicular (Hosseini L et al., 2017).

Herráiz et al. en 2018, ha investigado los efectos del trasplante ovárico de células madre autólogas (ASCOT, del inglés Autologous Stem Cell Ovarion Transplantation) sobre la reserva ovárica en pacientes con mala respuesta (Herraiz S et al., 2018). En ese estudio, las células madre derivadas de la médula ósea (BMDSC, del inglés) se movilizaron a la sangre periférica mediante el tratamiento con factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF, del inglés) y posteriormente se recolectaron mediante aféresis, que no es más que, la técnica mediante la cual se separan los componentes de la sangre,

siendo seleccionados los necesarios para su aplicación en medicina y devueltos al torrente sanguíneo el resto de los componentes. Las células se administraron en la arteria ovárica mediante un catéter intraarterial. Diecisiete mujeres fueron tratadas, lo que resultó en un aumento del número de folículos antrales y ovocitos, y cinco embarazos, de los cuales tres fueron espontáneos.

Hoy en día, esta técnica es conocida como la Revolución de la Reproducción Asistida. Sin embargo, el rejuvenecimiento ovárico está lejos de ser una realidad completa. Las investigaciones sobre dicha técnica avanzan cada vez más, pero estas aún se encuentran en una fase experimental. No obstante, genera esperanza en aquellas mujeres con baja reserva ovárica y agotamiento folicular (Adolfo de Prados A., 2023).

El objetivo primordial de esta técnica es ayudar a las pacientes a conseguir óvulos maduros para, posteriormente, realizar una Inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI, del inglés) con sus propios óvulos, con su posterior Test Genético Preimplantacional para Aneuploidias (PGTA, del inglés) y su traducción en el resultado de tener un Recién nacido sano en casa. Esta técnica está dirigida principalmente a mujeres con menopausia o premenopausia, con baja reserva ovárica, insuficiencia ovárica prematura y con niveles de hormonas antimüllerianas anormales, teniendo en cuenta que los rangos normales oscilan entre 0,7 y 2,9 ng/ml: reserva ovárica normal. Si la AMH se encuentra entre 0,7-0,9 ng/ml, la reserva ovárica ha comenzado a reducirse, aunque aún se considera normal.

Múltiples estudios han descrito que la escisión de parte de la corteza ovárica en pequeños fragmentos y su posterior reinscripción puede producir la activación de la función ovárica. Incluso, se ha descrito un reclutamiento de folículos residuales, que se definen como dormidos, que están presentes en el ovario en mujeres con fallo ovárico total, publicándose embarazos tanto espontáneos como tras Fecundación In Vitro. Es lo que se conoce como OFFA (del inglés, Ovarian Fragmentation for Follicular Activation) (Ana Fuentes, 2023).

En 2013, el Dr. Kawamura en Japón, habló de la manera de activar los folículos durmientes, en pacientes jóvenes con fallo ovárico precoz o primario. Esta técnica, que consta de diferentes variantes, se ha realizado en los últimos años en centros de todo el

mundo, describiéndose embarazos espontáneos y tras Fecundación in Vitro en algunas de las pacientes tratadas (Kawamura K et al., 2020).

El proceso de Activación Ovárica consiste en la extracción de parte de la corteza ovárica, fragmentación de la misma corteza y colocación de los fragmentos en diversas localizaciones cercanas al ovario de la paciente. Se realiza una laparoscopia, que es una intervención quirúrgica en la que se utiliza una cámara y varios instrumentos que se introducen en el abdomen a través de pequeñas incisiones, esto permite visualizar los órganos pélvicos y trabajar mediante visión directa. Se estimula el ovario mediante la administración de hormonas con el objetivo de obtener ovocitos para ser fecundados mediante Fecundación in Vitro (Ana Fuentes, 2023).

En el transcurso del desarrollo de esta revisión, vamos a poder apreciar distintos conceptos de interés, así como el desglose de las distintas técnicas utilizadas para conseguir el rejuvenecimiento ovárico, los porcentajes comparativos en el paso de los años midiendo la evolución, avances y resultados mediante este método sobre todo en paciente con baja reserva ovárica, el perfil y los criterios de pacientes sometidas a esta técnica, la importancia del Plasma rico en plaquetas y el correcto manejo y desarrollo del Rejuvenecimiento Ovárico. Esta revisión se realiza para resumir los hallazgos de publicaciones recientes.

## **2. OBJETIVOS**

El presente trabajo tiene como objetivo principal explicar los avances y resultados mediante el método de Rejuvenecimiento Ovárico en baja reserva, explicar las distintas técnicas desarrolladas hasta la fecha y como mediante estas se puede restaurar la función ovárica y obtener ovocitos propios capaces de ser fecundados, tomando en cuenta el perfil y los criterios de las pacientes sometidas a este método.

De la misma manera, vamos a desplegar la importancia y el papel que juega el Plasma Rico en Plaquetas, lo cual es una parte fundamental de un correcto manejo y desarrollo del rejuvenecimiento ovárico hoy en día.

Nuestra mayor meta con esta revisión bibliográfica es que sirva de guía para ayudar a la comprensión de todos los aspectos relacionados con este tema y sus métodos innovadores.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda bibliográfica con revisión de estudios y artículos disponibles, incluidos informes de casos, series de casos, ciencia básica y artículos clínicos revisados por pares, entre otros, publicados en diferentes bases de datos multidisciplinares como Google Académico, Scopus, Web Of Science, PubMed y MEDLINE

Se hicieron uso de los operadores imprescindibles para adquirir mayor precisión, utilizando descriptores, criterios necesarios y palabras claves para conseguir resultados de búsqueda más acertados.

Una vez obtenidos los artículos se hizo una lectura crítica de cada uno de ellos para decidir si aportasen información valiosa una vez incorporados al trabajo de investigación.

Seguimos la línea de revisión bibliográfica según el método de las técnicas utilizadas, las cuales vamos a explicar a continuación agregando esquemas de imágenes ilustrativas.

1) La muestra de la técnica de PRP se prepara de una manera relativamente rápida y sencilla. Tras una extracción sanguínea de la propia paciente, se centrifuga esta muestra y finalmente se extrae la fracción más rica en plaquetas, en un proceso totalmente cerrado y aséptico.

La administración de este plasma se puede realizar en dos momentos concretos: o bien en ciclo previo a estimulación ovárica o inmediatamente tras la primera punción ovárica en un ciclo de doble estimulación.

Tras la obtención del correspondiente PRP de la paciente, se inserta en el espesor del tejido ovárico la aguja similar a la de la punción ovárica de FIV, y se instilan de manera lenta 2 ml aproximadamente de este PRP por cada ovario (Blog VITA Medicina Reproductiva, 2023).

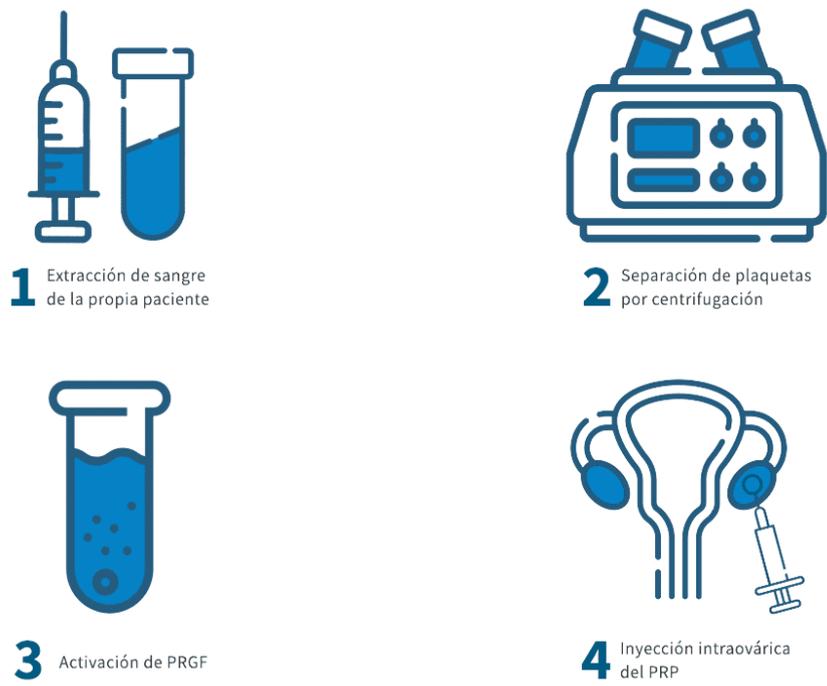


Figura 1. Fuente: GIUR

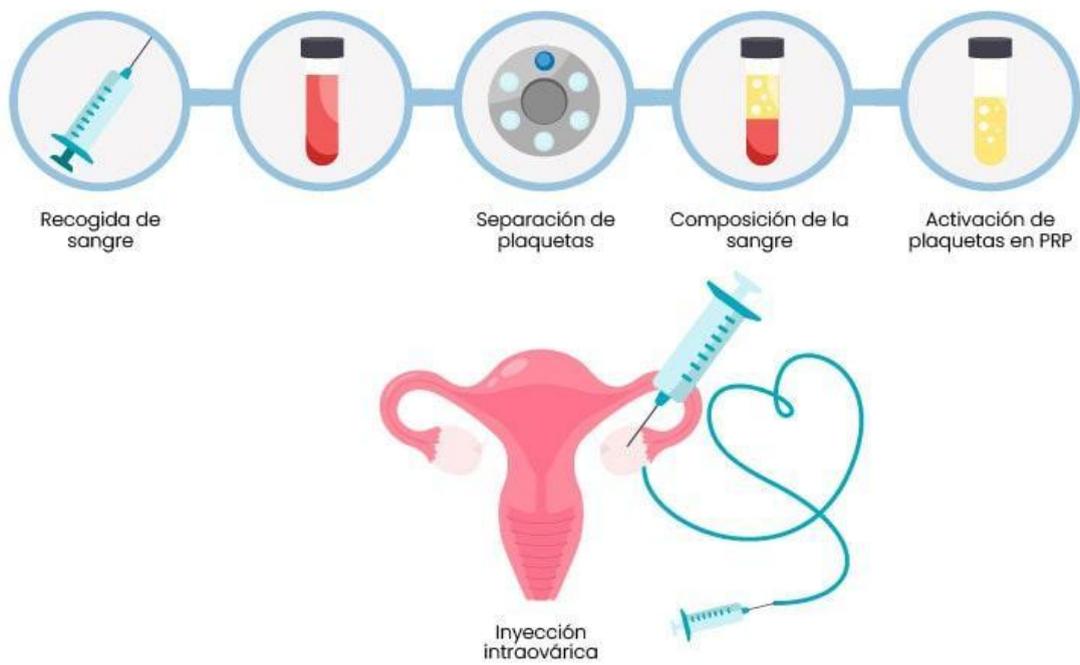
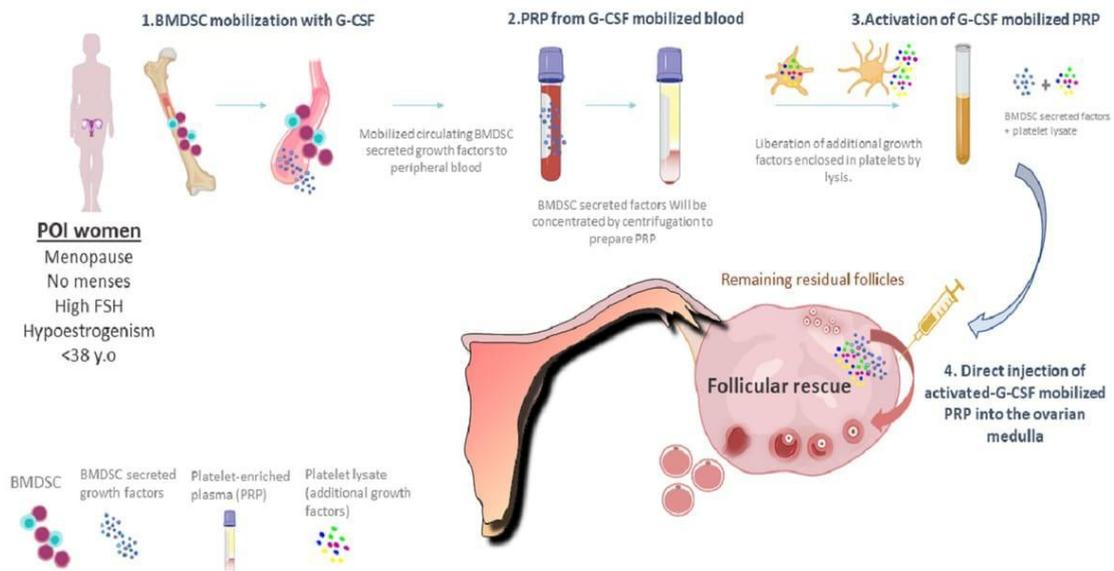


Figura 2. Fuente: Ceras.

2) La técnica del ASCOT une las dos tecnologías, en un proceso dividido en 4 pasos:

1. Movilización de células madre durante 5 días, mediante un procedimiento estándar, similar al de las donaciones de médula ósea o células madre. Esto se realiza mediante inyecciones diarias subcutáneas de G-CSF (Granulocyte colony-stimulating factor). El objetivo de este primer paso es enriquecer la sangre en células madre y en los factores que éstas segregan, es decir, los factores positivos de crecimiento.
2. Preparación del PRP. En este segundo paso es necesario que la paciente acuda a la clínica para realizarle una extracción de sangre. Esta sangre se centrifuga para preparar el PRP que, previamente, está enriquecido en factores segregados por las células madre.
3. Activación del PRP, mediante la rotura de las plaquetas, para que los factores salgan.
4. Inyección directa en el ovario del PRP, en una intervención similar a la punción ovárica. Este último paso consiste en inyectar el concentrado rico en factores de crecimiento en diferentes puntos del ovario. (Sonia Herraiz, IVI, 2023).

Figure 3. The 4-step ASCOT



Fuente: IVI.

3) La técnica de OFFA consiste en realizar una pequeña resección de corteza ovárica mediante laparoscopia, fragmentación de este tejido y activación en el laboratorio con factores de crecimiento durante 48 horas, e inserción posterior de los fragmentos de corteza ovárica activados en el ovario contralateral mediante una segunda laparoscopia (E. Puente, 2023).

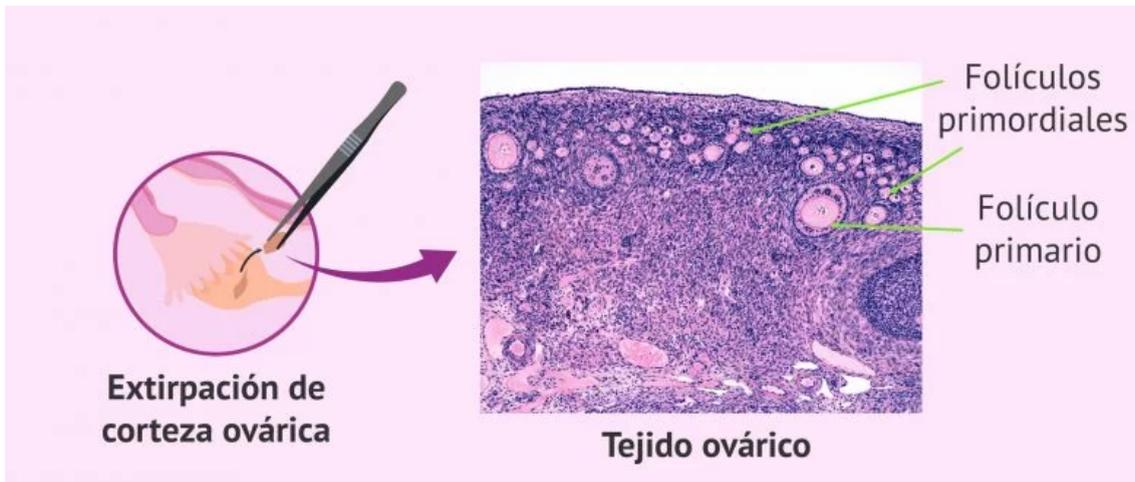


Figura 4. Fuente: ORG

## 4. RESULTADOS

En el transcurso del desarrollo de este trabajo al ir realizando las distintas revisiones bibliográficas pudimos observar los diferentes enfoques, resultados y evoluciones de distintos autores a lo largo de sus investigaciones.

Para poder apreciar de la mejor manera estos resultados, vamos a desarrollarlo a modo de resumen, resaltando los datos más importantes de algunos estudios realizados en los últimos años.

El estudio realizado por Cakiroglu et al. en el 2020, planteaban la hipótesis donde la inyección intraovárica de PRP autólogo mejoraría los parámetros de reserva ovárica, la respuesta ovárica a la estimulación y los resultados de la FIV en mujeres diagnosticadas con IOP. Trataron a 311 mujeres previamente diagnosticadas con IOP con inyección intraovárica de PRP. De esas mujeres, 23 (7,4%) lograron un embarazo espontáneo y otras 82 (26,3%) desarrollaron al menos un embrión en etapa de clivaje después de la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) y FIV.

El embarazo espontáneo ocurrió en 23 mujeres (7,4 %, edad media  $\pm 34,6 \pm 4,0$ ) uno o dos ciclos después del procedimiento de PRP (Figura 5). En el momento de ese informe, 7 de los embarazos concebidos espontáneamente se perdieron como abortos espontáneos, mientras que 5 estaban en curso entre las semanas 24 y 35 de gestación y 11 nacieron entre las semanas 37 y 40. de gestación, Por lo tanto, 16/23 (69,5 %) de los embarazos espontáneos que se desarrollaron después del tratamiento con PRP dieron como resultado una implantación sostenida o un nacimiento vivo (Cakiroglu et al., 2020).

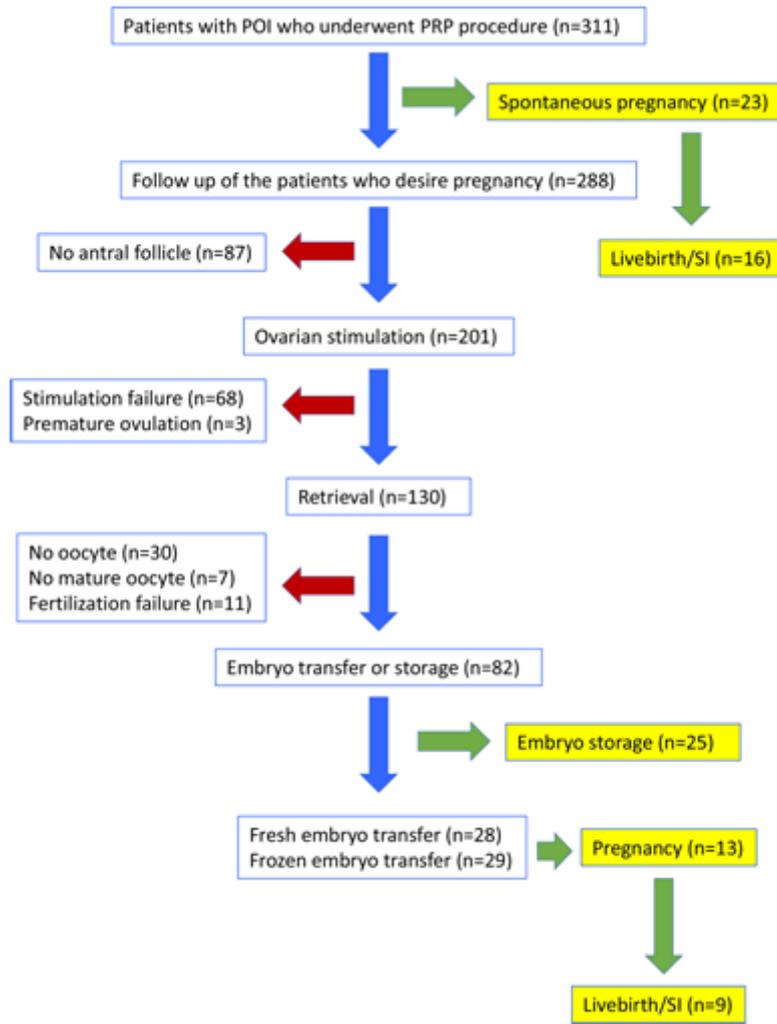


Figura 5. Diagrama de flujo de los resultados clínicos en mujeres con IOP que se sometieron a una inyección de PRP. SI: implantación sostenida. Cakiroglu et al. 2020. Efectos de la inyección intraovárica de plasma autólogo rico en plaquetas.

Cuando los investigadores analizaron los parámetros de la reserva ovárica, observaron un aumento estadísticamente significativo en el recuento de folículos antrales después del tratamiento con PRP ( $1,7 \pm 1,4$  frente a  $0,5 \pm 0,5$ ;  $p < 0,01$ ). En particular, antes del tratamiento con PRP, 186 de las 311 mujeres tenían un AFC de "0", mientras que después de la inyección de PRP, solo 87 no tenían folículos antrales. AMH en suero también aumentó después del tratamiento con PRP ( $0,18 \pm 0,18$  frente a  $0,13 \pm 0,16$ ;  $p < 0,01$ ), mientras que la FSH sérica no fue estadísticamente significativa ( $41,6 \pm 24,7$  frente a  $41,9 \pm 24,7$ ;  $p = 0,87$ ) (Figura 6).

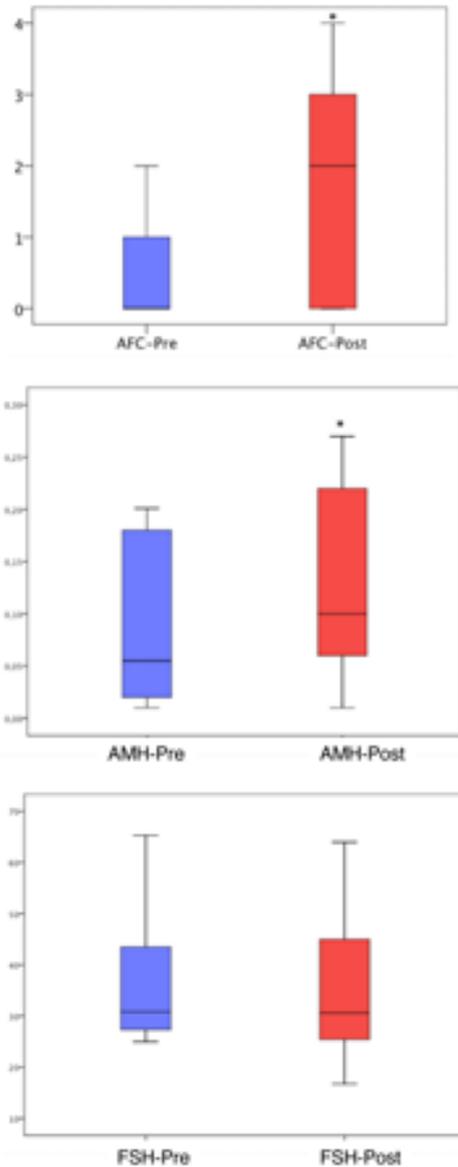


Figura 6. Conteo de folículos antrales, niveles de AMH y FSH antes y después de la inyección de PRP. Los extremos de las cajas son los cuartiles superior e inferior, por lo que la caja abarca el rango intercuartílico (percentil 25 a 75). La línea horizontal dentro del diagrama de caja representa el valor de la mediana. Los bigotes se extienden entre 5% y 95%. \*:  $P < 0,05$ . (Cakiroglu et al. 2020. Efectos de la inyección intraovárica de plasma autólogo rico en plaquetas).

Su hallazgos sugirió que en mujeres con IOP, la inyección intraovárica de PRP autólogo podría considerarse como una opción de tratamiento experimental alternativa.

Un resultado similar tuvo Nazli Navali, MD y colaboradores, los cuales realizaron un estudio de ensayo clínico en el hospital Al-Zahra y la Clínica de Infertilidad Milad, Tabriz, Irán (abril y mayo de 2021) con una perspectiva distinta.

Un total de treinta y cinco mujeres con una POR y una edad media de  $40,68 \pm 0,34$  se inscribieron en ese estudio. Después de la inyección de PRP autólogo en los ovarios, el número de ovocitos, folículos antrales y el nivel de estradiol, hormona antimülleriana (AMH), hormona estimulante del folículo (FSH), hormona lútea (LH), proporción FSH/LH, tomando en cuenta que también habían sido evaluados antes de la administración de PRP (Nazli Navali et al. 2022).

A los 2 meses de seguimiento, las mujeres tratadas con PRP mostraron una elevación significativa en el número de ovocitos ( $3,68 \pm 0,24$ ,  $P=0,0043$ ) y embriones ( $3,17 \pm 0,14$ ,  $P=0,0001$ ), así como en los niveles de estradiol ( $404,1 \pm 16,76$  frente a  $237,7 \pm 13,14$ ,  $P = 0,0003$ ).

Para las mujeres antes de la inyección de PRP, el número promedio de ovocitos (media  $\pm$  SD) fue ( $0,64 \pm 0,92$ ) y para las mismas mujeres después de la inyección de PRP fue ( $2,5 \pm 2,1$ ).

Como se muestra en la Figura 7 A, 3 B del ensayo clínico de Nazli Navali et al. 2022, no hubo una diferencia significativa en la FSH sérica antes y después del tratamiento con PRP ( $12,2 \pm 0,31$  y  $12,51 \pm 0,28$ , respectivamente) ni tampoco en la LH ( $13,00 \pm 0,25$  y  $13,14 \pm 0,26$ , respectivamente). Además, el nivel de AMH no fue estadísticamente significativo después del tratamiento con PRP ( $0,38 \pm 0,039$ ) en comparación con antes del tratamiento ( $0,39 \pm 0,04$ , Fig. 1C). Observamos un aumento estadísticamente significativo en los niveles de estradiol después de PRP.

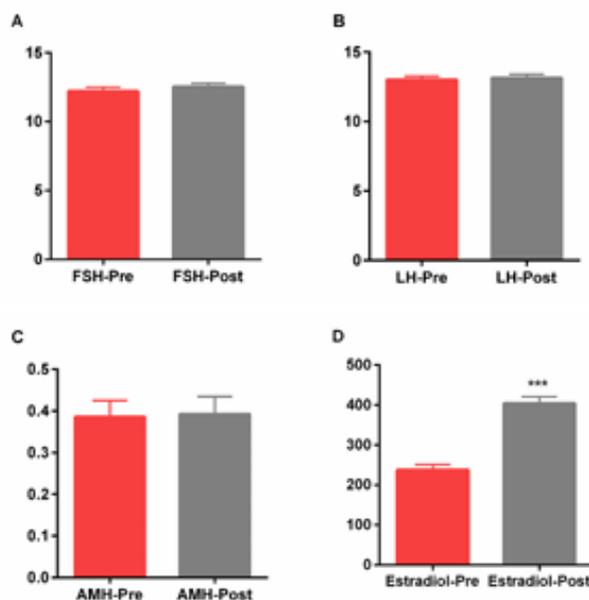


Figura 7: Alteraciones de los niveles de hormonas séricas antes y después de la inyección de PRP. A. FSH, B. LH, C. AMH, y D. Niveles de estradiol antes (pre) y después (post) de la inyección de PRP. Los datos se expresaron como media + error estándar de la media (SEM). \*\*\*; P. Navali et al. 2021-2022 "Un estudio de antes y después".

Por los resultados obtenidos con la elevación significativa en el número de ovocitos tras el tratamiento, consideraron que la inyección única de PRP es efectiva y podría ser un enfoque terapéutico prometedor en las pacientes con POR para concebir con sus propios ovocitos a pesar de que no presentaron datos significativos para los demás parámetros utilizados, por lo que se requiere más evidencia para evaluar la influencia del PRP en la tasa de nacidos vivos. (Nazli Navali et al. 2022).

En el estudio experimental realizado por Keikha F. et al. desde agosto de 2021 hasta diciembre de 2021, en la Clínica de Infertilidad Vali-e-Asr afiliada a la Universidad de Ciencias Médicas de Teherán, Teherán, Irán. Se seleccionaron 12 pacientes POR según los criterios del grupo 4 de Bolonia (Tabla 1), que se sometieron a dos ciclos de FIV con regímenes antagonistas similares en un intervalo de 70 días. Inmediatamente después de la extracción de ovocitos (OPU, del inglés Ovum Pick Up), se realizó una inyección intramedular multifocal de 4 cc de PRP autólogo en sus ovarios derechos en el primer ciclo de FIV (grupo de casos). Por otro lado, sus ovarios izquierdos fueron considerados

como grupo de control. Los pacientes se sometieron al segundo ciclo de FIV después de 70 días.

Aquellas que se habían sometido a PRP experimentaron un aumento significativo de la media del recuento folicular antral (AFC) (de  $1,91 \pm 0,79$  a  $2,50 \pm 0,90$ ,  $p=0,043$ ). Hubo un aumento significativo en la cantidad de ovocitos del ovario derecho (grupo de intervención) en comparación con el ovario izquierdo (grupo de control) después de la PRP, pero no hubo una diferencia significativa en la cantidad de ovocitos en el ovario derecho antes y después de la intervención (Tabla 2) (de  $0,25 \pm 0,45$  a  $1,08 \pm 0,79$ ,  $p=0,705$ ). No hubo cambios significativos en el número de ovocitos, AMH y FSH en los grupos de casos y controles antes y después de la intervención ( $p>0,05$ ).

Tabla 1: Características demográficas y clínicas de los pacientes.

Variable	Frecuencia (media/%) n=12
Edad (año)	40,40±3,91
IMC	22,59±9,76
Educación	
Educación Secundaria	7 (58%)
educación universitaria	5 (42%)
Trabajo	
Ama de casa	8 (67%)
empleado	4 (33%)
Tipo de infertilidad	
Primario	7 (58%)
Secundario	5 (42%)
Duración de la infertilidad (año) FIV previa(n)	2,79±1,72 0,50±0,67

Fuente: Keikha F.et al., 2022

Tabla 2: Comparación de variables antes y después de la intervención con PRP.

Variable	Pre-intervención	Post-intervención	valor p
AMH	0,5±0,52	0,66±0,89	0.241*
FSH	18,22±16,99	16,06±11,41	0.224*
Espesor endometrial (mm) Número	2,40±0,51	2,33±0,49	0.317*
de ampollas de FSH, HMG Número	3,83±0,57	4,00±0	0.317*
de días de inyección	12,41±2,74	12,50±1,93	0.730*

\*prueba de rangos de Wilcoxon; Datos presentados como media ± DE. prueba de rangos de Wilcoxon; aPRP=plasma autólogo rico en plaquetas; FSH= hormona foliculoestimulante; AMH=hormona antimülleriana; FIV= fecundación in vitro; AFC= recuento de foliculos antrales.

Fuente: Keikha F.et al., 2022

Tabla 3: Comparación de variables entre los grupos de intervención y control.

Variable	Ovario derecho (n=12)	Ovario izquierdo (n=12)	valor p
<b>Número de folículos</b>			
Pre-intervención	1,16±0,83	0,90±0,73	0.459*
Post-Intervención	1,58±0,90	0,40±0,84	0.674*
<b>Número de ovocitos</b>			
Pre-intervención	1,25±0. 96	1,00±0,70	0.203*
Post-Intervención	1,08±0. 99	1,00±0,70	0.418*
<b>AFC</b>			
Pre-intervención	1,91±0. 79	1,30±0/67	0. 080*
Post-Intervención	2,50±0. 90	1,60±0. 84	0.043*
<b>Número de embriones</b>			
Pre-intervención	0,25±0,45	0,30±0. 48	0.872*
Post-Intervención	1,08±0. 79	0,20±0. 63	0.014*
<b>Calidad Embrionaria (pre -intervención)</b>			
A	1(20%)	1(30%)	0.322**
B	4(40%)	2(70%)	
AB	4(40%)	0	
<b>Calidad Embrionaria (Post-intervención)</b>			
A	5(40%)	1(50%)	0.233**
B	3(20%)	0	
AB	5(40%)	1(50%)	

\* Prueba t de Mann-Whitney; \*\* TestData de Chi-cuadrado presentado como media ± SD. \* Prueba de Mann-Whitney. \* Datos presentados como n (%). \*\*: Prueba de chi-cuadrado, \* aPRP: plasma rico en plaquetas; FIV: fecundación in vitro; AFC: recuento de folículos antrales.

Fuente: Keikha F.et al., 2022

Por lo que consideraron que, de acuerdo con los resultados de ese estudio, parece que en mujeres con POR, el PRP intraovárico no tuvo efecto sobre los resultados (número de embriones, número de ovocitos, nivel de FSH y AMH) (Tabla 3), excepto por un aumento en AFC, deducciones totalmente distintas a los demás estudios que hemos podido observar a lo largo de esta revisión bibliográfica (Keikha F.et al., 2022).

Herráiz et al. realizó en 2022 un estudio retrospectivo con 104 mujeres de entre 23 y 45 años que recibieron una inyección intraovárica de PRGF (REGENERA-Ovario) kit Endoret, en ambos ovarios y seguimiento de biomarcadores de reserva ovárica (AFC, AMH) y hormona foliculoestimulante (FSH) para evaluar la reactivación folicular buscando FIV o embarazo espontáneo, entre 2020 y 2021 en IVIRMA Alicante (España).

A las 104 pacientes (edad: 38,7±2,0 años; IMC: 22,1±2,9) con reservas ováricas disminuidas se les realizó una inyección intraovárica de PRGF (3,3±0,8 ml PRGF/cada ovario). El cohorte se caracterizó por FSH sérica elevada (2 1,8 ± 4. 1 mIU/mL). niveles bajos de AMH els (0,25±0-37 ng/ml), y un volumen ovárico de 6,3±2,3cm<sup>3</sup>. Ochenta y ocho de ellas cumplieron.

En la primera visita de seguimiento se mostró un aumento de AMH sérica ( $0,25\pm 0,37$  ng/ml vs.  $0,32\pm 0,36$  ng/ml,  $p = 0,008$ ), y AFC en ambos ovarios ( $2,1\pm 1,9$  vs.  $3,2\pm 2,4$ ,  $p < 0,0001$ ) respecto a los niveles basales, logrando reactivación ovárica en el 55,9% de las pacientes e inicio de ciclo de FIV en el 19,3%. Estas mejoras fueron mayores 2 meses después del tratamiento (55 pacientes), con aumento de folículos antrales (AFC-2:  $2,9\pm 2,5$ ,  $p=0,0001$ ) y activación ovárica, con un nuevo inicio de FIV en 43,9% de las pacientes. Se observaron resultados similares durante el seguimiento realizado a 30 mujeres y que duró hasta la quinta visita ( $n = 8$ ), aunque el número de pacientes se redujo en este punto (Herráiz et al., 2022).

Se iniciaron un total de 44 ciclos de FIV y la captación de ovocitos se desarrolló exitosamente en el 72,7% de ellos con un número medio de  $3,3\pm 4,2$  MII de ovocitos. Durante ese periodo se generaron 6 embarazos con ovocitos obtenidos, 2 de ellos tras transferencia embrionaria y 4 por concepción natural.

El estudio piloto de Herráiz et. al. del 2018 fue diseñado para el trasplante ovárico de células madre autólogas (ASCOT) en 17 pacientes de mala respuesta según los criterios de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE, del inglés, European Society of Human Reproduction and Embryology). Consistió en la movilización de trasplante de células madre de la médula ósea (BMDSC, por las siglas en inglés de Bone Marrow-Derived Stem Cells) a sangre periférica mediante tratamiento con factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y posterior recolección por aféresis.

El recuento de folículos antrales (AFC, del inglés, Antral Follicle Count) por ecografía transvaginal y los niveles séricos de AMH se consideraron marcadores de respuesta ovárica a ASCOT. Ambos se registraron en todas las pacientes en condiciones basales antes de la inyección de G-CSF. Después del procedimiento ASCOT, se registraron AMH y AFC séricos cada 2 días durante 2 semanas, luego una vez a la semana durante 4 semanas y luego mensualmente hasta 5 meses. Los criterios para una respuesta positiva de la reserva ovárica a ASCOT fueron un aumento en AFC a tres o más folículos de las mediciones basales y/o un aumento de dos SD en los niveles de AMH en dos mediciones consecutivas en comparación con los niveles basales (Herráiz et. al., 2018).

El AFC total aumentó, en comparación con el valor inicial, desde el día 2 hasta el día 43 después de ASCOT. Ese aumento fue estadísticamente significativo el día 15 (tabla 4). No se detectaron diferencias cuando se comparó el ovario tratado con el ovario de control en cualquier otro momento analizado. El perfil sérico de AMH también se muestra en la tabla 4. No se observaron diferencias cuando se analizaron todos los casos juntos, pero se observaron variaciones individuales (Figura 8B), lo que indica que algunos pacientes mostraron un aumento notable de la AMH sérica durante las primeras 4 semanas de seguimiento y respondieron al tratamiento (Figura 8B y 8C), arbitrariamente consideraron una respuesta positiva cuando las mujeres mostraron un aumento en AFC total de tres o más folículos después de ASCOT y/o mostraron dos aumentos consecutivos en el nivel de AMH. Con esos criterios, la reserva ovárica mejoró en 13 de las 16 pacientes (81,3%). Ambos criterios se cumplieron en seis (37,5%) de los pacientes; en el resto, dos (12,5%) lograron el aumento de AFC y cinco mostraron (31,3%) mejoría de AMH. Todos estos aumentos de AFC y AMH se detectaron durante las primeras 4 semanas de seguimiento, aunque varios pacientes también mostraron un segundo aumento después de ese período inicial (Figura 4). (Herráiz et al., 2018).

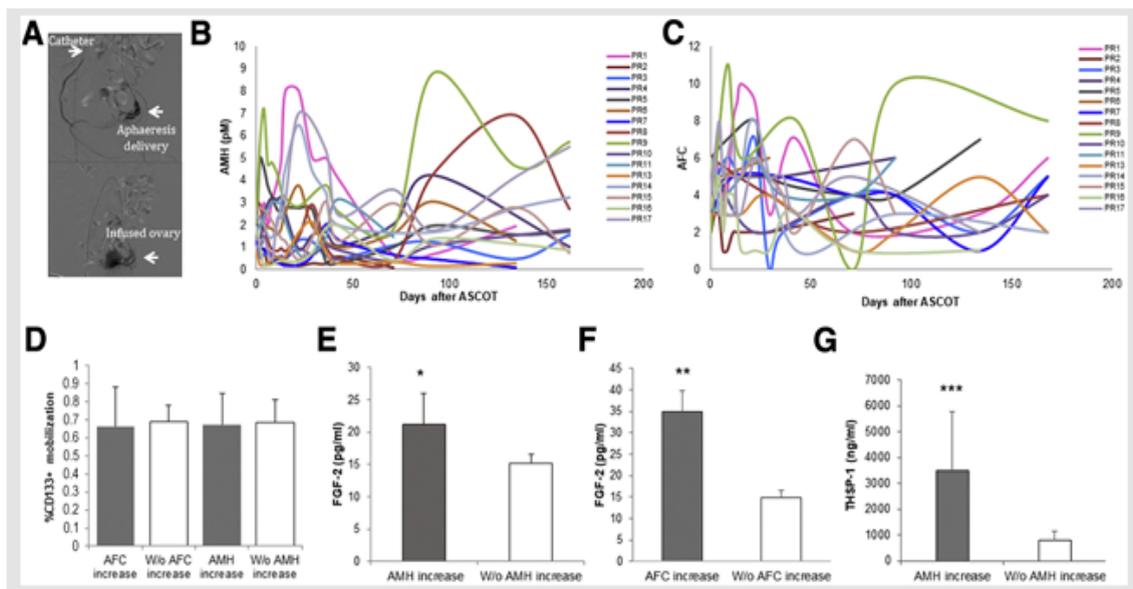


Figura 8: Procedimiento, seguimiento y composición del trasplante ovárico de células madre autólogas (ASCOT). (A) Pasos iniciales del procedimiento de cateterismo intraarterial mostrando aféresis (negro) siendo entregado en el ovario. (B) antimuleriana individual. Los patrones de progreso de la hormona lleriana (AMH) fueron altamente

heterogénea entre los pacientes. Los pacientes 1, 4, 5, 9, 11, 14 y 17 mostraron una mejora en los niveles de AMH muy pronto después del tratamiento (<22 días), pero no se detectaron diferencias significativas en general. (C)La respuesta ovárica fue muy variable entre pacientes y no se observaron diferencias estadísticamente significativas cuando se analizaron los resultados del recuento folicular antral total (AFC). (D)La tasa de movilización de CD133 no estaba relacionado con la optimización de la reserva ovárica por ASCOT. (MI)El factor de crecimiento de fibroblastos (FGF)-2 mostró una correlación positiva con AMH y fue mayor en los pacientes cuya AMH mejoró (\*PAG<sup>1/4</sup>.03). (F)La concentración de FGF-2 fue mayor en los pacientes en los que aumentó la AFC (\*\*PAG<sup>1/4</sup>.004). Se encontraron niveles más altos de trombospondina 1 en pacientes con aumento de AMH. Herráiz. Reserva ovárica después de la terapia con células madre. Fertility and Sterility 2018.

Día después de ASCOT	AMH (pM)	CAF total	ovario de control AFC	Ovario infundido con AFC
Base	1,9 0,6 (2,0)	4,0 1,3 (4,0)	1,9 0,8 (2,0)	2,2 1,0 (2,0)
Día (D)p2	2,2 1,7 (2,0)	4,6 1,3 (4,0)	2,4 1,7 (2,0)	2,2 0,8 (2,0)
Dp4	2,1 1,8 (2,0)	4,9 1,7 (5,0)	2,1 1,2 (2,0)	2,7 1,4 (2,0)
Dp6	1,7 1,4 (1,4)	3,0 1,4 (3,0)	1,7 1,4 (1,5)	1,3 1,0 (1,0)
Dp8	1,7 1,5 (0,9)	5,2 2,7 (5,0)	2,7 1,8 (2,0)	2,5 1,6 (2,5)
Dp11	1,8 1,4 (1,6)	4,9 2,1 (5,0)	2,3 1,5 (2,0)	2,6 1,1 (2,0)
Dp13	1,9 1,5 (1,9)	4,7 2,4 (4,5)	2,0 2,1 (1,5)	2,7 1,2 (2,5)
Dp15	2,1 2,1 (1,7)	4,9 2,2 (5,0)	2,1 1,7 (2,0)	2,7 1,5 (2,5)
Dp22	2,4 2,6 (1,4)	6,0 2,7 (6,5)	2,6 2,1 (2,0)	3,3 1,5 (3,5)
Dp29	1,9 1,4 (1,6)	3,9 1,8 (4,5)	1,8 1,1 (2,0)	2,0 1,4 (1,5)
Dp36	2,0 1,6 (1,6)	4,3 1,3 (4,5)	2,4 1,3 (2,0)	1,8 0,8 (2,0)
Dp43	1,5 1,1 (1,2)	4,0 2,8 (3,0)	2,0 1,7 (1,5)	2,0 1,4 (2,0)
Dp71	1,0 0,7 (0,8)	3,4 1,7 (4,0)	1,7 1,0 (2,0)	1,8 1,0 (2,0)
Dp92	2,5 2,5 (1,6)	4,4 2,4 (4,0)	2,1 1,5 (2,0)	2,3 1,4 (2,0)
Dp134	2,2 2,6 (1,3)	3,3 2,3 (2,5)	1,2 0,8 (1,0)	2,2 1,7 (2,0)
Dp162	2,4 1,7 (1,8)	4,9 1,9 (5,0)	2,2 1,5 (1,5)	2,6 1,3 (2,0)

Tabla 4: Valores de Hormona Antimulleriana (AMH) y Recuento de Folículos Antrales (AFC). Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el AFC en D15 en comparación con los niveles basales. No se detectaron diferencias significativas entre el control y ovarios infundidos. Herráiz. Reserva ovárica después de la terapia con células madre. Fertility and Sterility 2018.

Antes del reclutamiento para ese estudio, las 15 respondedoras pobres comenzaron un total de 24 COS y sus resultados reproductivos se registran en la Tabla 5. Se realizó recogida de ovocitos en el 70,8%; Se obtuvieron ovocitos MII en el 54,2% y embriones en el 50% de las estimulaciones iniciadas, con una tasa de cancelación del 29,2%. Se obtuvieron un total de 35 ovocitos MII y 24 embriones. Trece embriones fueron considerados de buena calidad en base a criterios morfológicos, por lo que fueron transferidos; sin embargo, no se logró el embarazo en ninguna paciente.

Parámetro	Anterior (n [ 24)	Después de ASCOT (todos, n [ 28)	Después de ASCOT óptimo (n [ 4)	PAGvalor
Edad del paciente (años)	36 (34–37)	38 (36–38)	34 (33–37)	<.001
Edad de la pareja (y)	36 (35–40)	37 (36–44)	35 (34–38)	<.001
Años de infertilidad	3 (2–4)	4 (3–5)	3 (2–3)	<.001
Ciclos COS (n)	2,0 (1–2)	2 (2–3)	2 (1–2)	NS
1	7	5	1	
2	7	7	3	
R3	1	3	0	
IMC (%)	24 (23–25)	24 (21–25)	24 (18–25)	NS
FSH (UI/mL)	10,1 (9,3–14,5)	12,3 (9,7–21,5)		NS
AMH (pM)	1,0 (0,9–3,0)	2,8 (0,7–3,7)	2,9 (2,3–4,1)	<.001
Días de estimulación	10 (9–12)	9 (7–11)	9 (9–12)	NS
Dosis de gonadotropina	3937 (2475–4950)	4050 (3150–4612)	4100 (4050–4950)	NS
midía hGC	500 (385–1296)	585 (386–775)	661 (253–1416)	NS
Total AFC	3 (0–5)	5 (4–6)	8 (7–9)	.0008
Ovario de control	2 (2–3)	3 (2–3)	5 (4–5)	NS
ovario infundido	2 (1–3)	2 (1–3)	3 (2–3)	.02
Foliculos perforados	3 (1–6)	3 (1–4)	3 (2–4)	.035
Ovario de control	0 (0–1)	2 (0–2)	2 (2–2)	NS
ovario infundido	0 (0–1)	1 (0–2)	1 (0–2)	NS
ovocitos MII	2 (0–3)	2 (1–3)	2,5 (1–4)	NS
Ovario de control	0 (0–1,2)	1 (0–1)	1 (1–2)	
ovario infundido	0 (0–0,2)	1 (0–2)	0,5 (0–1)	
embriones	1 (0–2)	1 (0–2)	1 (0–4)	NS
Ovario de control	0 (0–0,5)	0 (0–1)	0,5 (0–2)	
ovario infundido	0 (0–0)	1 (0–1)	0,5 (0–1)	
Cancelación	7/24 (29,2%)	4/28 (14,2%)	0/4 (0)	<.001

Tabla 5: Características del paciente. Los valores se muestran como mediana (rango intercuartílico) o número (%). Se aplicó la prueba pareada no paramétrica de Wilcoxon para comparar el COS anterior, óptimo y posterior a ASCOT para cada paciente. Herráiz. Reserva ovárica después de la terapia con células madre. *Fertility and Sterility* 2018.

Durante el estudio observacional descriptivo, se iniciaron un total de 28 COS en 78 días (31–109 días) después de ASCOT, los resultados de la FIV se registran en Tabla 5. En comparación con los ciclos anteriores, mejoraron las siguientes variables: la recogida de ovocitos se realizó con éxito en el 85,7 % (24 de 28) de los ciclos iniciados, se obtuvieron ovocitos MII en el 82,1 % y embriones en el 67,8 % (19 de 28). La tasa de cancelación también se redujo significativamente al 14,2% (4 de 28). Después de ASCOT, se recuperaron un total de 51 ovocitos MII y se obtuvieron 36 embriones después de ICSI. De esos, el 60% fueron embriones de calidad A/B por criterios morfológicos. Treinta y uno alcanzaron la etapa de blastocisto y se sometieron a un análisis comparativo de hibridación genómica. Cinco fueron euploides y luego transferidas en un único TE/Resultaron dos embarazos clínicos, pero uno terminó en aborto espontáneo. Los resultados individuales de FIV se muestran en la Tabla 6. Se lograron cinco embarazos durante el período de seguimiento y tres bebés sanos nacieron de 15 mujeres que respondieron mal, logrando un tratamiento PR de 33.3%. Una paciente dio a luz dos veces, otra paciente dio a luz una vez y una tercera paciente tuvo dos abortos espontáneos en las semanas 10 y 8 de embarazo. Tres de los cinco

embarazos informados en el presente estudio se lograron por concepción natural. (Herráiz et al., 2018).

Características	Anterior		Después FULAR		PAGValor
Dosis de FSH (UI)	3.623	1.444	4.201	1.342	NS
Días de estimulación	10,5	2,7	9,9	3,8	NS
mizdía hCG administración	1.079,4	736,5	720,7	512,2	NS
Foliculos antrales (total)	4	1.9	5.8	1.7	.036
Ovario de control	2.5	1.0	2,8	1,5	NS
ovario infundido	1,9	0,7	2,9	1,4	.026
Foliculos >16 mm (total)	2.6	1.8	2.9	1.2	.05
Ovario de control	1.2	1.0	1.5	1.1	NS
ovario infundido	1.2	1.5	1.5	1.2	NS
Foliculos perforados (total)	4.0	3.1	4.7	1.9	NS
Ovario de control	2	2.1	1.9	1.0	NS
ovario infundido	1.5	1.8	2.1	1.7	NS
MII recuperado (total)	2.3	2.0	2.6	1.6	NS
0	4		2		
1	4		10		
2	1		4		
3	5		5		
R4	3		3		
Sin recogida de ovocitos	7		3		
MII recuperado (ovario de control)	0.5	1.0	1.4	1.0	NS
MII recuperado (ovario infundido)	0.3	0.5	1.2	1.0	NS
Embriones totales por ciclo	1.7	1.5	2.1	1.6	NS
0	4		4		
1	5		12		
2	4		2		
R3	3		5		
embriones (ovario de control)	—		1.0	1.2	
embriones (ovario infundido)	—		1.1	0.9	
Clase de servicio controlada	4/15 (26,6%)		1/15 (6,6%)		NS

Tabla 6: Resultados reproductivos antes y después del trasplante autólogo de ovario con células madre. Los valores se muestran como media. Datos de lateralidad de los embriones obtenidos en anteriores ciclos no estaba disponible en todos los casos y, por lo tanto, se omitió. Se utilizó la prueba pareada no paramétrica de Wilcoxon para comparar los resultados del mejor COS antes y después de ASCOT. FULAR trasplante de ovario autólogo de células madre; porque estimulación ovárica controlada; MII ovocitos en metafase II; NS insignificante. Se refiere solo a COS con recuperación de ovocitos. Herráiz. Reserva ovárica después de la terapia con células madre. Fertility and Sterility 2018.

El estudio de Aagaard Lunding et. al. del 2019 titulado 'Biopsia, Fragmentación y autotrasplante de tejido cortical ovárico fresco en mujeres infértiles con reserva ovárica

disminuida, es un estudio clínico de cohorte prospectivo que incluyó a 20 mujeres con DOR tratadas en la clínica de fertilidad, Rigshospitalet, Dinamarca, entre abril de 2016 y diciembre de 2017. Las pacientes no embarazadas fueron seguidas en promedio durante 280 días (rango 118 -408), mientras que las mujeres que concibieron fueron seguidas hasta el parto. El seguimiento del estudio de pacientes no embarazadas finalizó en septiembre de 2018.

Ese estudio incluyó a mujeres infértiles de 30 a 39 años con ciclos menstruales preservados, indicación de FIV/ICSI y mediciones séricas repetidas de hormona antimülleriana (AMH)  $\leq 5$  pmol/L. Los pacientes fueron asignados al azar para que se les tomarán cuatro biopsias del ovario izquierdo o derecho mediante laparoscopia, seguidas de una fragmentación del tejido cortical hasta un tamaño aproximado de 1 mm<sup>3</sup> y se autotrasplantaran a una bolsa peritoneal. El otro ovario sirvió de control. Las pacientes fueron seguidas semanalmente durante 10 semanas con registro del perfil hormonal, recuento de folículos antrales (AFC), volumen ovárico y evaluación del crecimiento de folículos ectópicos. Después de 10 semanas, se inició un ciclo de FIV/ICSI con estimulación ovárica máxima.

No se observaron diferencias en el número de folículos maduros después de la estimulación ovárica 10 semanas después del procedimiento en los ovarios biopsiados versus los de control (1,0 vs 0,7 folículos,  $P = 0,35$ ). Sólo en tres pacientes se detectó crecimiento de cuatro folículos en el lugar del injerto entre 24 y 268 días después del procedimiento. De uno de estos folículos, se recuperó y fecundó un ovocito en metafase II (MII), pero el desarrollo embrionario fracasó. Los niveles generales de AMH no cambiaron significativamente después del procedimiento ( $P = 0,2$ ). El AFC aumentó en 0,14 (IC del 95 %: 0,06; 0,21) por semana ( $P < 0,005$ ), y el ovario biopsiado tenía en promedio 0,6 (IC del 95 %: 0,3; -0,88) folículos menos que el ovario de control ( $P = 0,01$ ). Los niveles séricos de androstenediona y testosterona aumentaron significativamente en 0,63 nmol/L (IC del 95%: 0,21;1,04) y 0,11 nmol/L (IC del 95%: 0,01;0,21) 1 semana después del procedimiento, respectivamente, y la testosterona aumentó consecutivamente durante las 10 semanas en 0,0095 nmol/L (IC del 95 %: 0,0002; 0,0188) por semana ( $P = 0,045$ ). En 7 de los 20 pacientes, hubo una elevación de AMH sérica entre 5 y 8 semanas después del procedimiento. En este grupo, la AMH media aumentó de 2,08 pmol/L (rango 1,74-2,34) a 3,94 pmol/L (rango 3,66-4,29) de

las semanas 1 a 4 a las semanas 5 a 8. Se obtuvo un embarazo clínico en 12 de las 20 (60%) pacientes con y sin tratamientos de reproducción médicamente asistida (MAR). Informaron una tasa acumulada de nacidos vivos por ciclo de FIV/ICSI iniciado del 18,4% (Aagaard Lunding et. al.,2019).

## 5. DISCUSIÓN

El PRP contiene una serie de sustancias activas. Sin embargo, los mecanismos de acción del PRP en general, y sus efectos en el ovario en particular, siguen siendo en gran parte desconocidos. En ese contexto, el estudio de Cakiroglu et al. 2020, aporta información relevante. Primero, entre las mujeres que desarrollaron al menos un folículo antral después de la inyección de PRP pudieron someterse a FIV en su estudio, el 64 % comenzó dentro de los primeros tres ciclos y otro 21 % en el cuarto ciclo. Se estima que la progresión de los folículos humanos desde un folículo primario hasta la ovulación requiere aproximadamente 85 días. Este desarrollo ocurre en fases independientes y dependientes de gonadotropinas. Sus hallazgos sugieren que cualquier tipo de folículo presente en el ovario puede verse directamente afectado por el PRP. Además, también son posibles los efectos indirectos a través de la acción sobre el compartimento somático. Segundo, encontraron que las mujeres que no tenían un folículo antral en el momento de la inyección de PRP tenían menos probabilidades de responder al tratamiento en comparación con aquellas que tenían uno o dos folículos antrales. Del mismo modo, las mujeres en los niveles más bajos cuartil para la AMH sérica y el más alto para la FSH sérica, tenían menos probabilidades de responder. En conjunto, sus hallazgos sugieren que el PRP ayuda a activar los folículos preantrales y/o antrales tempranos existentes, y que la cantidad de folículos restantes en los ovarios de las mujeres con IOP probablemente determina el alcance de su respuesta.

Ese estudio tiene un número de limitaciones. Primero, las tasas de embarazo después de la transferencia de embriones no pudieron establecerse de manera concluyente ya que algunas de las mujeres concibieron espontáneamente y otras optaron por almacenar embriones criopreservados. En segundo lugar, compararon los resultados de los pacientes con su estado previo al tratamiento. Por lo tanto, ese estudio no incluye un grupo de control independiente y no es aleatorizado (Cakiroglu et al., 2020).

Basado en el trabajo de Kawamura et al.2019, en este estudio se cuestionan si el efecto observado del PRP podría ser principalmente mecánico.

Informan que la administración clínica de células o productos celulares al ovario (directamente o a través de la arteria ovárica) puede tener sus efectos debido a la inyección o debido a los efectos del vehículo, y no a las biomoléculas o células. Hasta que se identifiquen moléculas específicas que tengan efectos reproducibles, dicho mecanismo para el efecto del PRP debe considerarse como una posibilidad (Cakiroglu et al., 2020).

La inducción de las causas histológicas de torsión/detorsión PRP es un enfoque terapéutico valioso en la infertilidad por factor femenino. En el estudio de Nazli Navali, et al, 2022, la administración única de PRP intraovárico aumentó significativamente el número de ovocitos y embriones en las mujeres con POR.

Sills et al. 2018, examinaron el efecto de la inyección intraovárica de PRP en mujeres con una edad media de  $42 \pm 4$  años. Descubrieron que la administración de PRP mejoró la función ovárica dos meses después de la inyección autóloga transvaginal de PRP activada con gluconato de calcio en todos los casos. Han informado que las tasas de crecimiento y supervivencia de los folículos en la suplementación de los medios con PRP fue significativamente mayor que aquellos sin PRP, lo que indica que el PRP puede ser un enfoque práctico para inducir el desarrollo folicular.

En el estudio de Navali et al. 2022, mostró una cantidad de ovocitos y embriones después de una sola inyección de PRP, que puede ser un enfoque rentable y lento. Cakiroglu et al. demostraron que la inyección intraovárica de PRP autólogo en mujeres con insuficiencia ovárica primaria o precoz no tuvo un efecto significativo sobre los niveles de FSH y, además, se asoció con una mejora mínima en los niveles de AMH. Aunque, Aflatoonian et al. no observaron una diferencia significativa en el perfil hormonal LH y FSH de mujeres con POR o insuficiencia ovárica primaria después de la inyección de PRP. Estudios previos mostraron una elevación en el nivel de estradiol, luego del tratamiento con PRP intraovárico. Se observó una disminución significativa en los niveles de FSH seis semanas después de la terapia con PRP autólogo. Por otro lado, Cakiroglu et al. informaron que el tratamiento con PRP aumenta el nivel de AMH y AFC en mujeres con insuficiencia ovárica primaria.

La inyección simultánea de PRP y la cirugía de punción ovárica hicieron del estudio de Navali et al. 2022, la principal novedad. Dieron como resultado una reducción drástica

de los costos de la terapia, y también, agrandamiento del ovario que facilita la inyección de PRP en estos pacientes. Esa investigación fue un estudio de antes y después, y no encontraron un estudio anterior similar hasta ese momento. Otro punto fuerte de ese estudio fue una sola inyección de PRP, en una dosis baja, mientras que estudios anteriores repitieron la inyección de PRP más veces. Ese estudio tuvo sus propias limitaciones, como una población de estudio pequeña con una edad media de 40 años, por lo que se recomendó realizar en una población más grande y con mayor variedad en la edad.

En el estudio de Keikha F. et al. 2022, la AFC aumentó después de la inyección intraovárica de PRP en el ovario derecho, en comparación con el grupo de control del ovario izquierdo. Hubo un aumento significativo en la cantidad de ovocitos del ovario derecho, que era el grupo de intervención, en comparación con el ovario izquierdo que fue el grupo de control después de la PRP, pero no hubo una diferencia significativa en la cantidad de ovocitos en el ovario derecho antes y después de la intervención. El número de ovocitos, el nivel de FSH y AMH no tuvieron cambios estadísticamente significativos antes y después de la intervención.

Melo et al., 2020, realizó un estudio de intervención no aleatorizado (PRP frente a ninguna inyección). Sus resultados mostraron un aumento en AMH y AFC después del tratamiento comparado con los no intervenidos, una disminución en el nivel de FSH, un aumento en el número de óvulos recolectados y un mayor grado de embriones resultantes.

La diferencia en el resultado observado entre el estudio de Keikha F. et al. 2022, y otros estudios pueden deberse a factores biológicos y temporales naturales que pueden afectar el proceso de estimulación de la ovulación.

En el estudio de Navali et al., 2022, se ha indicado que una sola inyección intraovárica de PRP está asociada con una elevación significativa en el número de ovocitos y embriones, así como en los niveles de estradiol. Parvanov et al. en un estudio reveló que el uso de PRP ovárico autólogo en respondedores deficientes puede estar asociado con una mejora significativa en la calidad de los ovocitos y embriones. Además, en otro estudio se demostró que después de la infusión intraovárica de PRP se produjo una mejora significativa en el perfil hormonal y el estado de reserva ovárica de las

pacientes. Sin embargo, los resultados de un estudio en Turquía mostraron que la inyección intraovárica de PRP no aumenta las tasas de nacidos vivos, ni las tasas de embarazo en mujeres que responden mal o en aquellas con insuficiencia ovárica prematura. El estudio de Keikha F. et al. 2022, tiene algunas limitaciones, una de ellas fue el pequeño tamaño de la muestra. Además, no evaluaron la seguridad y eficacia de ese método terapéutico, sus efectos secundarios a corto y largo plazo, y las tasas de embarazo y nacidos vivos.

Herráiz et al., 2022, comenta que en su estudio la inyección de PRGF aumentó los niveles de la hormona antimülleriana (AMH) y el recuento de folículos antrales (AFC) desde el primer seguimiento después del tratamiento, lo que permitió el inicio de ciclos de estimulación ovárica en una población de pacientes con mal pronóstico y reserva ovárica disminuida. También apreciaron que los efectos persistieron durante varios meses después del tratamiento.

Expusieron que sus resultados fueron alentadores, pero que se necesita una gran cohorte de pacientes con un período de seguimiento más prolongado para establecer la eficacia y la duración de los efectos ováricos positivos del PRGF. Además. Aún se requiere una comparación adecuada con un grupo de control con las mismas características y sin intervención del PRGF (Herráiz et al., 2022).

En el estudio piloto de Herráiz et. al. del 2018, se usó una nueva terapia basada en BMDSC para tratar a 15 mujeres, que respondían mal, que tenían un pronóstico muy malo y que se sometieron a 24 ciclos de FIV previos después de haber sido diagnosticadas como baja respondedoras. A pesar de ello con ese enfoque, se lograron cinco embarazos.

Esos hallazgos representaron un enfoque completamente nuevo, ya que la ausencia de folículos antrales estimulables dependientes de las gonadotropinas se ha considerado la principal limitación en el tratamiento de las pacientes que responden mal, dieron como resultado que esas malas respondedoras lograran una tasa de cancelación del 14,2 %, similar a la tasa (13,3 %) prevista para pacientes con buen pronóstico. El ASCOT supera estas preocupaciones y permitió la recogida exitosa de ovocitos en el 85,7 % de los ciclos iniciados (Herráiz et al., 2018).

La relación entre la respuesta positiva y la presencia de factores de crecimiento solubles secretados por las BMDSC circulantes en el plasma se estableció como un efecto paracrino, que se ha propuesto que juega un papel clave en la regeneración tisular inducida por células madre adultas.

La mejora de la vascularización local se ha descrito como un efecto principal de la infusión de BMDSC en tejidos ováricos humanos y de ratón, simulando condiciones de POI y respuesta deficiente inducidas por quimioterapia. Sus resultados sugirieron que las células madre y los factores solubles pueden mejorar el nicho y permitir que esos folículos preantrales crezcan y ovulen. Por otro lado, ASCOT permitió la generación de embriones en el 67,8% de los ciclos iniciales y generaron un total de 36 embriones sin aumentar la cantidad de gonadotropinas ni los días de estimulación. Sin embargo, se dieron cuenta de que, aunque tiene efectos positivos, la infusión de células madre no modificó la euploidía embrionaria, que ya era una preocupación en su grupo de edad de pacientes con mala respuesta. Sólo el 16,1% de los embriones fueron euploides. A pesar de esto, lograron una RP del 33,3% en mujeres con mal pronóstico, donde la donación de ovocitos era la única opción práctica después de varios intentos de FIV y años de infertilidad. La mitad de los embarazos fueron concepciones naturales durante el período de seguimiento, incluidos dos segundos embarazos. Por lo tanto, la restauración del nicho ovárico para mantener el desarrollo del folículo podría ser un efecto a medio plazo. (Herráiz et al., 2018).

Aun así, los autores de este estudio comprendieron que se necesitan más trabajo para validar los resultados en una población más grande y homogénea, así como para hacer un seguimiento de los resultados reproductivos, antes de considerar a ASCOT como una alternativa real para el manejo de pacientes con función ovárica alterada.

Las mujeres infértiles con DOR constituyen un grupo de pacientes con malos resultados reproductivos debido principalmente al bajo número de ovocitos maduros disponibles para FIV/ICSI. Algunos estudios han demostrado que la activación in vitro de folículos latentes residuales mediante tratamiento químico y fragmentación de tejido ha dado como resultado el retorno de los ciclos menstruales y los embarazos en una fracción de mujeres amenorreicas con insuficiencia ovárica prematura, es por ello por lo que Aagaard Lunding et. al. en el 2019 publicó un estudio clínico de cohorte prospectivo.

Las limitaciones de ese estudio fueron el número de pacientes incluidos y la falta de un grupo de control no operado. Además, 9 de las 20 mujeres no tenían pareja masculina en el momento de la inclusión y fueron tratadas con esperma de donante, pero cada una de estas mujeres tuvo un promedio de 6,8 (rango 4-9) tratamientos MAR fallidos con esperma de donante antes de la inclusión (Aagaard Lunding et. al.,2019).

Aunque 12 de 20 pacientes quedaron embarazadas durante el período de seguimiento, el estudio no indicó que la biopsia, la fragmentación y el autotrasplante de tejido cortical ovárico aumentaran el número de folículos reclutables para FIV/ICSI después de 10 semanas. Sin embargo, una proporción de los pacientes puede tener una respuesta folicular en las semanas 5 a 8 después del procedimiento. Por lo tanto, podría ser relevante realizar un estudio futuro sobre los posibles efectos de la biopsia que incluya estimulación para FIV/ICSI antes de la semana 10 (Aagaard Lunding et. al.,2019).

## 6. CONCLUSIÓN

A lo largo de esta revisión bibliográfica hemos podido apreciar que todas las técnicas, dígase: PRP, ASCOT y OFFA, generan la esperanza de que las mujeres con una baja reserva ovárica puedan concebir a través de sus propios óvulos. Sin embargo, son necesarios más estudios futuros con mayor tamaño de muestra y diseño de estudio prospectivo aleatorizado para evaluar el impacto en los resultados de embarazo en mujeres infértiles, a través de la concepción espontánea y/o la reproducción asistida.

Hemos podido apreciar el trabajo magnífico que está logrando el PRP en el mundo de la fertilidad, como sus propiedades y su manera poco invasivas ha logrado en los últimos año mejorar los resultados en la obtención de cantidad de ovocitos que posteriormente están dando como resultado embarazos que culminan con niños vivos. Sabemos que se necesitan más investigaciones y estudios en una mayor población, pero hasta el momento los resultados han sido alentadores tanto para el personal sanitario como para las mismas pacientes.

Debemos tomar en cuenta, que los diferentes métodos o técnicas, los protocolos de estimulación de la ovulación, los tiempos de seguimiento, las diferencias en la cantidad de material utilizado en el caso del PRP y del ASCOT, las diferencias en el operador y el equipo de ultrasonido, pueden afectar los resultados, es por ello también la importancia de seguir investigando al respecto y realizar más estudios con un tamaño de muestra mayor, para así poder brindar a las pacientes lo que ellas realmente necesitan según su situación con un mejor resultado.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Adolfo de Prados Alfonso. 11 febrero 2023|Blog, Tratamiento rejuvenecimiento Ovárico
- Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, da Cruz Pacheco I, Corrêa do Amaral RJ, Granjeiro JM, et al.Preparation of platelet-rich plasma for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther.* 2013; 4(3): 67.
- Ana Fuentes. 2023|Blog, Tratamiento rejuvenecimiento Ovárico. Instituto Bernabeu
- Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev.* 2009; 30(5): 465-493.
- Fatemeh Keikha, Saeideh Shahsavari, Yalda Salari, et al.One-Sided Ovarian Rejuvenation: A Quasi-Experimental Study of the Effect of Autologous Platelet Rich Plasma in IVF Poor Ovarian Responders. *Etíope J Health Sci.*2022;32(6):1133
- Focus on spanish society | Mayo 2023.
- Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA.Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Soy J Sports Med.* 2009; 37:2259–72.
- Fritz R, Jindal S. Envejecimiento reproductivo y preservación electiva de la fertilidad. *Res. ovárica J.* 2018; 11(1): 66.
- Herraiz S, Romeu M, Buigues A, Martínez S, Díaz-García C, Gómez-Seguí I, Martínez J, Pellicer N, Pellicer A.Autonomous ovarian transplantation with stem cells to increase reproductive potential in patients with poor response. *Fertility and Sterility.* 2018; 110:496–505.e1.
- Herraiz S., P. Ruiz, N. Garrido, A. Ballestee, V. Vergara, M. Cruza, A. Requena, JA Gartía-Velasc, M. Muñoz.Intraovarian injection of plasma rich in growth factors improves ovarian reserve and reproductive outcomes in women with decreased ovarian reserve. Reunión Anual Híbrida de la ESHRE, Milán - Italia, 3-6 de julio de 2022. ID de cita del resumen: deac 104.058, P-796.

- Holcomb JB, Tilley BC, Baraniuk S, Fox EE, Wade CE, Podbielski JM, del Junco DJ, Brasel KJ, Bulger EM, Callcut RA, et al. Transfusion of plasma, platelets and red blood cells in a ratio of 1:1:1 versus 1:1:2 and mortality in patients with severe trauma: the randomized clinical trial. PROPPR. JAMA. 2015;313(5): 471–82.
- Hosseini L, Shirazi A, Naderi MM, Shams-Esfandabadi N, Borjian Boroujeni S, Sarvari A, Sadeghnia S, Behzadi B, Akhondi MM. Platelet-rich plasma promotes the development of isolated human primary and primordial follicles to the preantral stage. *Reprod Biomed en línea*. 2017; 35:343–50.
- Informe Nacional Resumido- SART. <https://www.cdc.gov/art/artdata/index.html>
- Kawamura K, Ishizuka B, Hsueh AJW. Drug-free in-vitro activation of follicles for infertility treatment in poor ovarian response patients with decreased ovarian reserve. *Reprod Biomed Online*. 2020 Feb;40(2):245-253. doi: 10.1016/j.rbmo.2019.09.007.
- Navali N, Sadeghi L, Farzadi L, Ghasemzadeh A, Hamdi K, Hakimi P, Niknafs B. Intraovarian Injection of Autologous Platelet-Rich Plasma Improves Therapeutic Approaches in Patients with Poor Ovarian Response: A Before and After Study. *Int J Sterility and fertility*. 2022; 16(2): 90-94. doi: 10.22074/
- Melo P, Navarro C, Jones C, Coward K, Coleman L. The use of autologous platelet-rich plasma (PRP) versus no intervention in women with low ovarian reserve undergoing fertility treatment: a non-randomized intervention study. *J Ayudar a Reprod Genet*. 2020; 37(4): 855-863.
- Özcan P, Fıçıcıoğlu C, Kizilkale O, Yesiladali M, Tok OE, Ozkan F, et al. Can Coenzyme Q10 supplementation protect ovarian reserve against oxidative damage? *J Ayudar a Reprod Genet*. 2016; 33(9): 1223-1230.
- Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet-rich plasma: biology and new technologies. *J Craniofac Surg*. 2005; 16:1043–54.
- Seli E. Ovarian aging. *Semin Reprod Med*. 2015; 33:375–76.
- Serín Seckin, Hadi Ramadán, Marco Mouanness, Michelle Kohansieh, Zaher Merhi. Ovarian response to intraovarian administration of platelet-rich plasma. *Journal of assisted reproduction and genetics* (2022) 39: 37–61

- Sfakianoudis K, Simopoulou M, Nitsos N, Rapani A, Pappas A, Pantou A, Chronopoulou M, Deligeoroglou E, Koutsilieris M, Pantos K. Treatment with autologous platelet-rich plasma allows pregnancy in a woman with premature menopause. *J Clin Med*. 2018; 8:1.
- Sills ES, Rickers NS, Li X, Palermo GD. First data on in vitro fertilization and blastocyst formation after intraovarian injection of autologous platelet-rich plasma activated with calcium gluconate. *Gynecol Endocrinol*. 2018; 34:756–60.
- Sills ES, Wood SH: Autologous injection of activated platelet-rich plasma into adult human ovarian tissue: molecular mechanism, analysis and discussion of the reproductive response. *Representative Biosci* 2019, 39 (6).
- Stine Aagaard Lunding, Susanne Elisabeth Pors, Kristensen Stine Gry, Selma Kloeve Landersoe, Janni Vikkelsø Jeppesen, Esben Meulengracht Flachs, Anja Pinborg, Kirsten Tryde Macklon, Anette Tønnes Pedersen, Claus Yding Andersen, Anders Nyboe Andersen. Biopsy, fragmentation and autotransplantation of fresh ovarian cortical tissue in infertile women with decreased ovarian reserve. *Hum Reproducción*. 2 de octubre de 2019; 34 (10): 1853-1854.
- Yigit Cakiroglu, Ayse Saltik, Aysén Yuceturk, Ozge Karaosmanoglu, Sule Yildirim Kopuk, Richard T.Scott Jr., Bulent Tiras, Emre Seli. primary ovarian insufficiency, platelet-rich plasma, PRP, fecundación in vitro. *Aging* 2020, vol. 12, núm. 11.