

TRABAJO DE FIN DE MASTER
en
Biología y Tecnología Aplicada a la
Reproducción Humana Asistida

REJUVENECIMIENTO OVÁRICO

Autor: María José Nicolau Subires

Tutor: Cristina González Ravina

Villaviciosa de Odón, octubre 2021

Máster Universitario en Biología y Tecnología aplicada a la Reproducción Humana Asistida. Módulo VII: TRABAJO FIN DE MASTER

ÍNDICE

RESUMEN	1
SUMMARY	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Marco teórico	3
1.2. Hipótesis	10
1.3. Justificación	11
2. OBJETIVOS	12
3. MATERIAL Y MÉTODOS	13
4. RESULTADOS	14
4.1. Técnica basada en células madre	14
4.2. Técnica basada en plasma rico en plaquetas	19
4.3. Técnica IVA: In Vitro Activation. Activación de los folículos mediante fragmentación del tejido ovárico	22
4.4. Técnica OFFA: Ovarian Fragmentation for Follicular Activation. Activación de folículos primordiales mediante procedimiento IVA modificado	24
5. ARGUMENTACIÓN CRÍTICA	25
5.1. Rejuvenecimiento ovárico y euploidia	25
5.2. Conflictos éticos con el tratamiento de células madre	26
5.3. Edad y maternidad	27
5.4. Limitaciones de los estudios	27
5.5. Carga psicológica	28
6. CONCLUSIONES	29

LISTADO DE SIGLAS

AMH	Hormona antimülleriana
ASCOT	Autologous stem cell ovarian transplantation
ESHRE	Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología
FIV	Fecundación in vitro
FSH	Hormona foliculoestimulante
FOP	Fallo ovárico precoz
GnRH	Hormona liberadora de gonadotrofinas
hCG	Hormona coriónica humana
ICSI	Inyección Intracitoplasmática
IVA	Activación in vitro
MII	Metafase II
MSC	Células madre mesenquimales
OFFA	Fragmentación ovárica para la activación folicular
PRP	Tratamiento con Plasma Rico en Plaquetas
RA	Reproducción asistida
RFA	Recuento de folículos antrales
RO	Rejuvenecimiento ovárico
ROS	Síndrome de ovario resistente
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo explicar las diferentes técnicas de rejuvenecimiento ovárico, haciendo un recorrido por la fisiología reproductiva femenina y exponiendo los mecanismos involucrados en el envejecimiento del ovario. El declive de la fertilidad femenina evoluciona de forma compleja a lo largo del tiempo e implica cambios fisiológicos y morfológicos en el ovario. El resultado de este gradual deterioro implica una disminución cuantitativa y cualitativa de los ovocitos, lo cual afecta, en último término, a la óptima fertilidad humana. Estos cambios, sumados a la evolución socioeconómica de nuestra sociedad durante las últimas décadas, han hecho que el sector de la reproducción humana asistida vaya claramente en aumento.

Uno de los avances científicos más recientes en este campo ha sido el desarrollo de nuevas técnicas de rejuvenecimiento ovárico (RO), a través de las cuales se pretende mejorar y restaurar la función ovárica mediante la activación de folículos silentes de mujeres con mala y/o reducida calidad ovocitaria.

Las técnicas de RO que se analizarán en este proyecto son:

- Tratamiento basado en plasma rico en plaquetas (PRP): Consiste en la regeneración del ovario mediante la instilación de factores de crecimiento provenientes de células sanguíneas. Dichos factores son responsables del crecimiento y regeneración tisular.
- Técnica ASCOT (“Autologous stem cell ovarian transplantation”): Radica en el trasplante ovárico de células madre de la misma paciente provenientes de la médula ósea.
- Técnica IVA/ OFFA: Se basa en la extracción de corteza ovárica por vía laparoscópica, que posteriormente se cultiva y se reinstaura en el ovario, de tal modo que se produce la interrupción o activación de determinadas vías metabólicas.

SUMMARY

The aim of this paper is to explain the different techniques of ovarian rejuvenation by reviewing female reproductive physiology and explaining the mechanisms involved in ovarian aging.

The decline of female fertility evolves in a complex way overtime and involves physiological and morphological changes in the ovary. The result of this gradual deterioration involves a quantitative and qualitative decrease in oocytes, which ultimately affects optimal human fertility.

These changes, added to the socioeconomic evolution of our society during the last decades, have led to a clear increase in the assisted human reproduction sector.

One of the most recent scientific advances in this field has been the development of new ovarian rejuvenation (OR) techniques, through which it is intended to improve and restore ovarian function by activating silent follicles in women with poor and/or reduced oocyte quality.

The OR techniques to be analyzed in this project are:

- Mesenchymal stem cell-based therapeutics: Treatment based on platelet-rich plasma (PRP): Consists in the regeneration of the ovary through the instillation of growth factors from blood cells. These factors are responsible for tissue growth and regeneration.
- ASCOT Technique ("Autologous stem cell ovarian transplantation"): It is based on the ovarian transplantation of stem cells from the patient's own bone marrow.
- IVA/OFFA: This technique is based in the extraction of ovarian cortex with laparoscopic surgery, which will then be cultivated and reinstated in the ovary, to achieve the interruption or activation of certain metabolic pathways.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Marco teórico

1.1.1. Menopausia

La menopausia es el último escalón del envejecimiento ovárico. Los mecanismos involucrados en dicho envejecimiento están lejos de ser completamente entendidos. Sin embargo, el ámbito de la medicina reproductiva aspira a obtener un mejor conocimiento de esta senescencia con el objetivo de identificar pacientes con reserva ovárica disminuida y proporcionar herramientas para alargar su vida fértil.

La menopausia se entiende como la ausencia de menstruación diagnosticada de forma retrospectiva en un período de 12 meses. La edad promedio de aparición es de 51 años, asumiendo una variación de +/- 10 años, dependiendo de cada mujer.(1)

El inicio del envejecimiento ovárico pasa en la mayoría de los casos desapercibido pues es un proceso sutil donde no hay signos clínicos evidentes y perceptibles. Generalmente cuando las mujeres perciben irregularidades en su ciclo menstrual, el envejecimiento ovárico ya está en un estado avanzado. Con la edad hay una disminución del número de folículos que desajustan el ciclo menstrual y paralelamente existe un deterioro en la calidad ovocitaria, aumentando así la tasa de embriones aneuploides. Cabe destacar, que la pérdida continua de folículos y de la calidad ovocitaria contribuye a una disminución gradual de la fertilidad.

El envejecimiento ovárico también conlleva una serie de cambios endocrinos. Hay alteraciones en la coordinación del eje hipotálamo-pituitario, lo que provoca un desajuste en la retroalimentación ovárica y como consecuencia un cambio en las hormonas segregadas.

Finalmente, cabe destacar que, aunque el envejecimiento ovárico sea un fenómeno presente e ineludible en toda la población femenina y programado

desde el nacimiento, existe variabilidad entre mujeres tanto en el momento de su aparición como en la sintomatología manifestada. (2)

2.1.2. Fallo ovárico precoz

La insuficiencia ovárica prematura, también conocida como fallo ovárico precoz (FOP), se basa en un cese de la función ovárica precedido por una disminución en el número de folículos. A diferencia de la menopausia, la insuficiencia ovárica prematura se presenta antes de los 40 años. Si bien su prevalencia no es muy elevada, pues afecta al 1% de las mujeres (3), representa un importante volumen de mujeres que recurren a terapias de reproducción asistida con el propósito de alcanzar el embarazo.

El mecanismo por el cuál se produce esta interrupción de la función ovárica en mujeres jóvenes, es similar en algunos aspectos al envejecimiento natural del ovario producido por el paso de los años y que culmina con la menopausia. Las pacientes con FOP presentan hipogonadismo hipergonadotrópico ya que presentan niveles bajos de estrógenos y concentraciones elevadas de la hormona foliculoestimulante (FSH). Los valores de la hormona antimülleriana (AMH) no suelen superar los 0'5 ng/ml, lo que indica un número reducido de folículos preantrales y antrales. Además, la inhibina B, hormona indicativa de la reserva ovárica, también presenta valores disminuidos.(3)

En la mayoría de los casos suele producirse un diagnóstico tardío de esta condición de aproximadamente dos años, llegando a ser de 5 años en un 25% de los mismos. Las mujeres con FOP pueden presentar alteraciones a nivel menstrual como sintomatología inicial, por lo que se debe considerar este diagnóstico en mujeres con amenorrea secundaria en las que se haya descartado embarazo. Los criterios diagnósticos son: cuatro meses de amenorrea y dos determinaciones de FSH mayores a 40 mIU/ml durante más de un mes en mujeres menores de 40 años. (4)

Las mujeres con FOP presentan sintomatología diversa: se ha observado que el déficit de estrógenos ocasiona nerviosismo e irritabilidad, sequedad en piel y mucosas, sofocos, pérdida de la libido y disminución de la densidad ósea produciendo osteopenia u osteoporosis. Asimismo, los bajos niveles de

estrógeno se relacionan con trastornos metabólicos dando como resultado enfermedades cardiovasculares. Por todo esto, y ante los síntomas ocasionados por deficiencia de estrógenos, se recomienda el inicio de tratamiento hormonal.

Se han descrito dos patrones de FOP:

- FOP tipo I: se basa en el agotamiento íntegro de los folículos debido a la inexistencia o no desarrollo de las células germinales. Predomina en pacientes con malformación o falta de la gónada.
- FOP tipo II: A diferencia del anterior en este patrón, las pacientes conservan en sus ovarios un número residual de folículos o bien presentan varios folículos, sin embargo, éstos son resistentes a la estimulación hormonal, lo que se conoce como Síndrome de ovario resistente (ROS)(3). Hay estudios que afirman que aproximadamente en un 50% de los casos de FOP la función ovárica no cesa por completo, y las gónadas actúan de manera impredecible y variable durante varios años hasta la interrupción de su función. De ahí que un 5-10% de las mujeres con diagnóstico de FOP podrían quedar embarazadas debido a su función ovárica, sin recurrir a técnicas de reproducción asistida. (3)

Varios estudios afirman que existen diferentes causas que pueden desencadenar esta pérdida precoz de la función ovárica:

- Predisposición genética: Un ejemplo sería el síndrome de Turner o el síndrome de X frágil donde el gen afecto sería el FMR1.
- Autoinmune: En un proceso autoinmune se producen anticuerpos que atacan la gónada comprometiendo su funcionalidad. Entre las enfermedades autoinmunes que pueden afectar a la función reproductiva destacan: la enfermedad de Hashimoto, enfermedad de Addison, artritis reumatoide y celiaquía.
- Tratamientos oncológicos: el FOP también puede ser consecuencia de un tratamiento oncológico que implique quimio y/o radioterapia.
- Ambiental: Entre las causas ambientales destacan algunas infecciones virales y exposición a ciertos tóxicos tales como el tabaco.
- Idiopática: En una gran proporción de casos de FOP es difícil averiguar la causa.(3)

En resumen, el fallo ovárico precoz se trata de una condición con múltiples etiologías, variedad de sintomatología y que ocasiona gran impacto a nivel psíquico y físico. Es importante conocer sus criterios diagnósticos y sus posibles tratamientos y así poder ofrecer alternativas a las mujeres que la padecen. (4)

2.1.3 Envejecimiento ovárico

La Sociedad Española de Fertilidad diferencia el concepto de menopausia del de fallo ovárico precoz en función de la edad de aparición, si bien los síntomas y los mecanismos implicados en el cese ovárico son bastante similares.

El envejecimiento ovárico provoca una serie de cambios fisiológicos que afectan, en última instancia, a la capacidad reproductiva de la mujer. Uno de estos cambios implica la alteración de los niveles hormonales, produciéndose un aumento en la concentración de la hormona folículo estimulante (FSH). La secreción de esta sustancia está regulada, a su vez, por la inhibina B, otra hormona que se encuentra en los folículos antrales y preantrales y cuya disminución se asocia a la progresiva merma de la reserva ovárica de la mujer.(2)

En los ciclos menstruales normales de una mujer en edad reproductiva, se observan valores elevados de FSH en la fase folicular. Esta gonadotropina es la responsable de producir el reclutamiento de los folículos antrales y, en consecuencia, desencadenar la síntesis de estradiol e inhibina A y B. Sin embargo, en edades reproductivas más avanzadas no ocurre lo mismo. Los bajos niveles de inhibina asociados a la edad disminuyen la retroalimentación negativa sobre la gonadotropina hipofisiaria (FSH) y esta se ve notablemente aumentada.(2)

Cabe destacar, que estas alteraciones en los niveles de FSH e inhibina B tienen lugar cuando la mujer aún mantiene reglas regulares y hay ausencia de signos y síntomas presentes en la perimenopausia.

La hormona antimülleriana (AMH) es una glicoproteína derivada de las células de la granulosa de los folículos antrales y preantrales pequeños y por

consiguiente se utiliza como indicadora de la reserva ovárica. Los niveles de dicha hormona se mantienen estables en las diferentes etapas del ciclo. Sin embargo, la AMH, supeditada a la reserva ovárica, va disminuyendo a medida que avanza la edad de la mujer. No presenta un descenso demasiado brusco hasta llegada la tercera década, de modo que a partir de los 37 años se ha observado una disminución del 50% que sin embargo no se observa en los niveles de FSH. Por esta razón se estima que el primer cambio observado es la disminución de la AMH, seguido por la disminución de la inhibina B y el incremento en los niveles de FSH. (2)

El paso de los años también afecta al ciclo menstrual. A partir de la etapa puberal, los folículos, en respuesta a diferentes señales se van desarrollando y activando con el objetivo de que el folículo dominante sea ovulado, el resto va a sufrir atresia. Como resultado, el número de ovocitos va decreciendo conforme avanza la vida reproductiva de la mujer hasta llegar a la menopausia. La pérdida de un gran número de folículos junto al incremento de los niveles de FSH desencadenan una reducción de la fase folicular, seguido de irregularidades en la periodicidad menstrual y finalmente la aparición de la menopausia, entendida como fallo ovárico. En este punto, la cantidad de folículos es de aproximadamente unos 1000, número insuficiente para garantizar la ciclicidad hormonal, indispensable para la menstruación. (2)

Por otro lado, diversos estudios epidemiológicos confirman la existencia de una relación positiva entre la edad materna avanzada y la presencia de anomalías cromosómicas en el óvulo. Como resultado, se produce una disminución en la posibilidad de lograr un embarazo, aumento de la probabilidad aborto y presencia de embriones aneuploides. (5)

Estudiando el por qué de estas anomalías cromosómicas se han planteado varias hipótesis. La primera de ellas se basa en el envejecimiento que sufre el óvulo detenido en profase I de la meiosis. Cuando la mujer nace, los ovocitos entran en un período de quiescencia celular hasta la menarquia, momento en el cuál se produce un reclutamiento de folículos dependientes de gonadotropinas y la ovulación. Durante todo este tiempo de espera, las características distintivas del óvulo se ven perjudicadas por su propio envejecimiento.(5)

Una vez se reanuda la meiosis y a medida que avanza la edad, puede darse un alineamiento equívoco de los cromosomas durante la metafase, así como una formación incorrecta del huso meiótico. Todo ello puede desencadenar una no disyunción cromosómica o bien una separación prematura de la cromátidas. Como consecuencia, los ovocitos pueden presentar un número incorrecto de cromosomas. Además, otro efecto conocido del envejecimiento ovárico es la disfunción mitocondrial. Las mitocondrias son orgánulos del ovocito que proporcionan una fuente de energía necesaria para el correcto desarrollo del embrión en etapas tempranas. A diferencia del esperma, el óvulo es el encargado de proporcionar mitocondrias al embrión. Si éstas no cumplen con su función de producción de energía en forma de ATP, esto puede desencadenar en una mala formación del huso meiótico, alterando el ciclo celular y la separación cromosómica, comprometiendo en última instancia la viabilidad embrionaria (5)

Las características que reflejan un envejecimiento mitocondrial y han sido observadas en pacientes mayores de 35 años son la presencia de mitocondrias morfológicamente alteradas, vacuolas y crestas mitocondriales modificadas. El ADNmt no dispone de histonas protectoras encargadas de la reparación del ADN. Como consecuencia, cuánto más tiempo transcurra hasta el momento de la ovulación, más probabilidad de encontrar mitocondrias dañadas. (5)

El acortamiento de telómeros es otra característica observada en los óvulos envejecidos. Los telómeros están presentes en los extremos del cromosoma y juegan un papel importante en la meiosis, concretamente en la profase I, donde facilitan la unión de los cromosomas a la membrana nuclear. Como resultado, los cromosomas homólogos pueden juntarse mediante puntos de unión llamados quiasmas y empezar la recombinación genética. Con ello, se asegura una correcta disyunción cromosómica. Sin embargo, el paso del tiempo y la pérdida de funcionalidad de la telomerasa provoca una reducción en las secuencias de ADN que constituyen los telómeros provocando posibles fallos durante la meiosis.

Finalmente, las dificultades vinculadas a la edad de la mujer que atañen a los telómeros pueden terminar con disfunciones semejantes en la actividad de las cohesinas. Las cohesinas son proteínas encargadas de formar la estructura bivalente, es decir, forman el complejo entre cromátidas hermanas posterior a su replicación. En un proceso normal, las cohesinas empiezan a desnaturalizarse en el momento de la anafase para dar lugar al desprendimiento de las cromátidas hermanas. Sin embargo, una variación de la función de la cohesina relacionada con la edad concluye en una segregación defectuosa o alterada en el ovocito, sobretodo en presencia o ausencia de una tasa de recombinación baja. (6)

En conclusión, la decadencia ovárica causada por la edad provoca un descenso progresivo de los folículos, así como la falta de capacidad de un óvulo paea transformarse en un posible embarazo tras la fecundación.

1.2. **Hipótesis**

Este trabajo intenta responder a la actualidad sobre las técnicas de reproducción asistida centradas en el rejuvenecimiento ovárico. Se intenta estudiar dichas técnicas para ofrecer alternativas a los procesos de reproducción asistida actuales y a la ovodonación.

1.3. Justificación

Si comparamos la reproducción humana con el resto de la mayoría de especies de mamíferos, la primera es mucho más compleja e ineficiente. El ovario es uno de los órganos clave en este proceso y también uno de los que primero envejece en el ser humano, lo que conlleva a una serie de dificultades a la hora de concebir. (7)

A partir de los 35 años la fertilidad disminuye bruscamente, debido al deterioro de la calidad del óvulo con el paso del tiempo. Un indicador del empeoramiento de la calidad ovocitaria es el aumento de alteraciones cromosómicas, que causan abortos espontáneos y enfermedades genéticas. Sin embargo, no solo se habla de calidad, sino también de cantidad, pues la reserva ovárica también disminuye con la edad. (8)

Hay múltiples causas por las que muchas mujeres deciden posponer su maternidad gracias a la disponibilidad de métodos anticonceptivos, entre ellas la búsqueda de estabilidad económica y las aspiraciones educativas y profesionales. Por este motivo, y aunque la edad más fértil de toda mujer sea la segunda década, la natalidad en países desarrollados sigue disminuyendo, siendo España el segundo país de la Unión Europea donde se tiene el primer hijo pasados ya los 30 años. (7) Por todo ello, se ha observado una necesidad creciente de recurrir a técnicas de reproducción asistida con el propósito de formar una familia. (9)

En esta coyuntura, la ciencia aspira a ir más allá y que la mujer tenga, aparte de la opción de vitrificar sus ovocitos, otras opciones para preservar su fertilidad y “atrasar su reloj biológico”. Esto es posible gracias a las técnicas que pretenden mejorar y/o restaurar la función ovárica y conseguir así óvulos de calidad en edades contextualmente consideradas tardías. Este rejuvenecimiento ovárico que tiene como finalidad preservar la fertilidad, puede realizarse mediante varias técnicas que incluyen: la activación in vitro (IVA/ OFFA), el trasplante ovárico de células madre (ASCOT) y el tratamiento con plasma rico en plaquetas (PRP). Aunque cada técnica tenga un mecanismo de acción característico, todas ellas persiguen mejorar la función reproductiva de pacientes con mal pronóstico.

Así pues, se ofrecen alternativas a procedimientos como la ovodonación, y se ofrecen avances en la salud reproductiva de la mujer.

2. OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objetivo principal explicar las distintas técnicas de rejuvenecimiento ovárico desarrolladas hasta la fecha y explicar cómo mediante estas técnicas se puede restaurar la función ovárica y obtener ovocitos propios capaces de ser fecundados.

A lo largo del trabajo se pretende crear un mapa conceptual donde se responde de forma exhaustiva a preguntas como: ¿Cuál es el funcionamiento del ovario en condiciones normales? ¿Cómo afecta la edad al ovario? ¿Cuántas técnicas existen en relación al rejuvenecimiento ovárico? ¿En qué consiste cada una de ellas y cuál es su evidencia clínica?

Mi meta con esta revisión bibliográfica es crear una herramienta que ayude a la comprensión de todos los aspectos relacionados con el rejuvenecimiento ovárico.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la creación del presente trabajo sobre el rejuvenecimiento ovárico se ha realizado un análisis exhaustivo de distintas fuentes bibliográficas utilizando una variedad de artículos, libros y publicaciones diversas encontradas mayoritariamente en la base de datos “PubMed”, utilizando palabras clave como: “*ovarian rejuvenation*”, “*stem cells AND ovarian rejuvenation*”, “*platelet rich in plasma*”, “*ovarian tissue transplantation*”, “*poor responder*” seleccionando entre los artículos publicados en los últimos años escritos en inglés y español. Se han tenido en cuenta las publicaciones más recientes y con mayor factor de impacto. Además, también se han usado: libros, fuentes online, páginas web, conferencias y videos online.

Todas las fuentes bibliográficas son de actualidad clínica con el fin de proporcionar información relevante y vigente.

4. RESULTADOS

Hasta el momento, las terapias de reproducción asistida se han centrado en el proceso de estimulación para conseguir un mayor número de ovocitos. Con este fin, se han examinado diversos protocolos de estimulación ovárica controlada (COS). Sin embargo, es complicado superar una respuesta escasa sólo con el tratamiento hormonal.

Con el fin de dar respuesta a esta limitación han surgido nuevos enfoques terapéuticos centrados en activar los folículos restantes de pacientes menopáusicas o que presentan fallo ovárico precoz.(10)

A continuación, se van a exponer dichas técnicas.

4.1. Técnica basada en células madre

Células madre

Las células madre son aquellas células que constituyen la materia prima del cuerpo, son células precursoras presentes en los organismos pluricelulares. Estas células poseen la capacidad de dividirse de manera ilimitada y asimétricamente dando como resultado dos células hijas, una de ellas mantiene las mismas propiedades que la célula madre original y la otra adquiere la capacidad de distinguirse en función de las señales recibidas y el entorno que la rodea.

Por consiguiente, las células madre se caracterizan por su capacidad de **autorrenovación** (mediante el proceso de mitosis) y **diferenciación** morfológica y funcional a distintos tipos celulares especializados.(11)

Existen varios tipos de células madre que se pueden clasificar atendiendo a su origen y a su potencial de diferenciación:

1. Las **Células madre embrionarias humanas** se extraen de la masa celular interna del embrión entre el día 4 y 7 de edad. En esta etapa, el embrión recibe el nombre de blastocisto.

Las células madre embrionarias extraídas del blastocisto son pluripotentes lo que significa que tienen la capacidad para distinguirse a cualquier tipo de célula humana y formar tejidos procedentes de las tres capas embrionarias (ectodermo, endodermo y mesodermo). Sin embargo, las células que forman el cigoto o la mórula son células madre totipotentes.(11) (12)

2. Las **Células madre adultas** se encuentran en una gran variedad de tejidos y órganos, siendo las más estudiadas las ubicadas en la sangre periférica, músculo y piel.

Inicialmente, se pensó que este tipo de células madre, a diferencia de las embrionarias, presentaban una capacidad reducida de diferenciación, pero constantemente se está corroborando su versatilidad ya que pueden generar tejidos derivados de otras capas embrionarias. Un claro ejemplo de ello es la capacidad de conversión de las células madre hematopoyéticas en hepatocitos, músculo cardíaco o endotelio.(11)

3. Las **Células madre adultas inducidas** fueron descubiertas por el japonés Shinya Yamanaka en el año 2006 y desde entonces son varios los estudios que demuestran su interés debido al gran potencial que presentan. Son células maduras presentes en el organismo humano que han sufrido un proceso de transformación con el objetivo de transportarlas a su origen neutro. Se disipa su identidad convirtiéndolas en células con características similares a las embrionarias. De esta manera, se pierde la necesidad de tener que recurrir a blastocistos.

El proceso por el cuál una célula adulta se convierte en una célula madre se denomina reprogramación. Este transcurso radica en la expresión ectópica de varios genes de transcripción tales como: Sox 2, Klf4, Myc y Oct4. (12)

4. Las **Células madre mesenquimales** (también conocidas como células estromales o MSC de su traducción al inglés "*mesenchymal stem cells*") son un tipo de células madre que en un primer momento se aislaron de

la médula ósea. Sin embargo, en la actualidad también se pueden extraer de diferentes tejidos como el tejido adiposo, la placenta, el cordón umbilical, el líquido amniótico e incluso de la sangre menstrual.

Las MSC son las células madre más utilizadas en medicina regenerativa debido a su gran versatilidad y a su obtención mediante procedimientos mínimamente invasivos.(11)

Trasplante de células madre

El tipo de células madre utilizadas en este tipo de tratamiento son las células madre mesenquimales (MSC).

El trasplante de MSC ha sido probado de manera exitosa en modelos animales con el objetivo de comprobar y verificar la capacidad restauradora de estas células en la función ovárica. Para llevar a cabo el estudio, en primer lugar, se alteró la función normal del ovario del roedor de manera artificial mediante la administración de fármacos (busulfán y ciclofosfamida) con tal de imitar la situación de pacientes que presentaban su función ovárica alterada como consecuencia de tratamientos de quimioterapia. Posteriormente se realizó una infusión intraovárica de células madre mesenquimales humanas y se valoró la respuesta a través de diferentes aspectos de la función ovárica: el desarrollo folicular, la apoptosis de células de la granulosa, la neoangiogénesis del tejido ovárico, los niveles hormonales (AMH, FSH y estradiol) y lo más valioso: el número de embarazos logrados.

La foliculogénesis y la restauración de niveles hormonales han sido factibles después del tratamiento con MSC extraídas de la médula ósea, sangre periférica, tejido adiposo y líquido amniótico.

Los mecanismos subyacentes por los cuales el trasplante de MSC promueve la función ovárica no están claros y necesitan ser investigados de manera más extensa.(13)

Las hipótesis que se barajan en la actualidad sobre el beneficio de dichas células residen en los siguientes puntos:

- La segregación de varios factores de crecimiento por parte de las células madre mesenquimales. Se ha postulado que estos factores de crecimiento pueden restablecer el entorno del nicho ovárico dando como

resultado una mejora en la foliculogénesis. Además, el gen anti-apoptótico linfoma 2 de células B (también conocido como Bcl-2) es el encargado de regular unas citoquinas que a su vez impiden la apoptosis de las células de granulosa.(13)

- Las células madre mesenquimales excretan unas vesículas que reciben el nombre de exosomas. Estos exosomas son unas microesferas extracelulares encargadas de la comunicación intracelular. Esta interlocución es viable gracias a su contenido en ARN complejo, proteínas y otras sustancias. Además, estas vesículas se encargan del transporte de datos genéticos, llevando información de un lado a otro para que cada célula cumpla con su función en el momento adecuado. Se ha descubierto que los exosomas derivados de las MSC expresan el gen miR-17-5p encargado de mejorar la proliferación folicular y la inhibición de la apoptosis de las células de la granulosa. Es por ello, que se afirma que los exosomas son vitales para una buena comunicación intracelular y regeneración tisular.(13)
- Se ha valorado que la infusión de células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea refuerce la proliferación del estroma ovárico y el desarrollo de vasos sanguíneos, lo que aumenta la posibilidad de promover la angiogénesis. La mejora en la vascularización local mejora el nicho ovárico y permite que los folículos preantrales crezcan, se desarrollen y sean ovulados.

Con el propósito de maximizar el rendimiento de esta técnica, se ha investigado la capacidad del colágeno para fijar las células mesenquimales en el ovario durante un período más prolongado. El principal beneficio de esta retención son la mejora en la unión celular, la proliferación y la diferenciación de células madre. En ensayos clínicos probados en animales con fallo ovárico se ha mostrado, además, un aumento en la fertilidad y una activación en la foliculogénesis. El uso de células madre derivadas del cordón umbilical junto al colágeno han logrado la activación del folículo primordial por medio de la fosforilación de proteínas de la familia FOX (FOXO3A y FOXO1).

Con el fin de obtener unas conclusiones más sólidas se llevó a cabo un ensayo clínico en el cuál había dos grupos. El primero estaba compuesto por 6

pacientes diagnosticadas con FOP, que fueron sometidas a un trasplante de células madre mesenquimales provenientes del cordón umbilical. Estas células fueron inyectadas directamente en el ovario mediante una ecografía vaginal. El segundo grupo, compuesto por 8 pacientes también diagnosticadas con FOP, fue sometido al mismo trasplante, pero, a diferencia del primer grupo, las células madre iban acompañadas de colágeno.

Dos pacientes del primer grupo decidieron abandonar el estudio, de las cuatro mujeres restantes una desarrolló estructuras foliculares que fueron visualizadas mediante ultrasonido y otra mujer se quedó embarazada de manera natural dentro del primer año posterior al tratamiento.

Respecto al segundo grupo, en el cuál las células madre se acompañaron de colágeno, cinco de las 8 mujeres presentaron signos foliculares y también una quedó embarazada.

A diferencia de los resultados obtenidos en modelos animales, en este discreto ensayo clínico extrapolado a humanos, la adición de colágeno no manifestó tener un beneficio claro.(13)

Existe otro estudio prospectivo observacional sobre el trasplante autólogo de células madre. Realizado en un hospital universitario, incluyó a 17 pacientes definidas como bajo respondedoras acorde a los criterios de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE).

El estudio fue planteado de la siguiente manera, se trasladaron las células madre derivadas de la médula ósea hasta la sangre periférica mediante el factor G-CSF, que estimula la médula ósea para que produzca más colonias de glóbulos blancos y circulen por el torrente sanguíneo. Posteriormente, estas células madre fueron rescatadas mediante un procedimiento de aféresis de flujo continuo en un separador de células. La paciente fue sometida a una intervención radiológica con el fin de introducir las células, previamente extraídas, en la arteria ovárica de un solo ovario mediante un catéter intraarterial, es por ello que cada paciente resultó control de si misma ya que se cateterizó solo un ovario.

Los criterios de evaluación a tener en cuenta después del tratamiento fueron los niveles de AMH, el recuento de folículos antrales (RFA) y el número de

ovocitos obtenidos en Metafase II (MII) tras procedimientos de estimulación ovárica.

Los resultados de este estudio sugieren que es factible aumentar el potencial reproductivo mediante la trasfusión de células madre en pacientes con una respuesta ovárica deficiente. La justificación reside en aumento de folículos antrales, mejora de la función ovárica y lo más importante: los 5 embarazos conseguidos; siendo dos de ellos el resultado de un proceso de tratamiento de reproducción asistida y tres de ellos concepciones naturales.(10)

4.2. Técnica basada en plasma rico en plaquetas

Esta técnica se inició en 1970 y se ha ido implementando en varias ramas de la práctica clínica (dermatología, cirugía plástica, odontología, etc.) como agente curativo y regenerativo.

Se basa en el uso de material biológico formado por plasma rico en células sanguíneas, las plaquetas, que son fuente de factores de crecimiento. Es un material autólogo, ya que proviene de la sangre de la misma paciente.

En medicina reproductiva, se ha iniciado el uso de esta preparación tras la necesidad de hacer frente a la infertilidad y dificultades reproductivas en pacientes con insuficiencia ovárica, buscando una alternativa a las técnicas reproductivas ya implementadas.

El plasma rico en plaquetas permite la aparición de proteínas, hormonas y factores de crecimiento favorecidos por la activación de las plaquetas.

Si nos centramos en los factores de crecimiento, es importante mencionar los que tienen un papel vital: factor de crecimiento endotelial (VEGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformador beta (TGF- β), factor de crecimiento insulínico tipo 1 y 2 (IGF-1, IGF-2). (1) Juegan un papel esencial en la selección folicular y en su desarrollo. Favorecen la migración celular, diferenciación celular y promueven procesos implicados en la regeneración tisular, procesos antiinflamatorios, neovasculares y de angiogénesis.

Otro elemento a destacar son las citocinas, también producidas por la activación plaquetaria y responsables de una buena comunicación intercelular.

A nivel procedimental, no es una técnica que requiera elevada complejidad. En primer lugar, se extrae la sangre de la paciente por venopunción. Esta sangre es procesada en el laboratorio, donde se realiza una centrifugación, proceso en el cual se separan los diferentes componentes de la sangre. Se consigue una concentración de plaquetas de tres a cinco veces mayor que el nivel basal. Posteriormente, se realiza una punción intraovárica vía transvaginal mediante guía ecográfica de esta preparación. Se administran aproximadamente 4ml de plasma rico en plaquetas en cada uno de los ovarios. Es una intervención corta, de una duración media de cinco a diez minutos, bajo sedación. Luego se procede a la monitorización de la paciente para evaluar los posibles cambios clínicos y el nivel de mejoría que favorezca un posible embarazo. Los parámetros que indican que el tratamiento ha sido eficaz son: la recuperación de la menstruación, la disminución de la FSH, la elevación de la AMH y la aparición o incremento de los folículos antrales.

Revisando los artículos disponibles sobre esta técnica, la mayoría son estudios observacionales y descripción de casos clínicos. Inicialmente, se estudió en modelos animales, en los que se administró factores de crecimiento, en concreto, el factor de crecimiento endotelial (VEGF). Como resultados, se observó una mejora en la vascularización y en el desarrollo de folículos preantrales regulados mediante la acción hormonal (14). Más adelante, Sills et al., realizó un estudio piloto en pacientes de más de 35 años con infertilidad de más de un año de evolución y/o amenorrea de más de tres meses o ciclos fallidos de FIV. Se administró PRP intraovárico y se evidenció mejoría en la función ovárica.(15) Posteriormente, se han escrito varios estudios de casos clínicos que evidencian los resultados después del tratamiento con PRP en pacientes con diferentes características clínicas.

Pantos et al., en 2019(1), presenta tres casos clínicos: mujeres con diagnóstico de menopausia, con niveles elevados de FSH y amenorrea de un año de evolución, en las que se descartó cualquier alteración uterina mediante histeroscopia.

El primer caso es una mujer de 46 años, con amenorrea de 12 meses de evolución, diagnóstico de menopausia, en la que se realizó el tratamiento con PRP. El recuento de folículos antrales previo al procedimiento era nulo para ambos ovarios. En la ecografía transvaginal post-PRP al mes de la técnica, se

observaron cuatro folículos en total de unos 5mm de media. Mejoró el perfil hormonal de la paciente en el control del segundo mes. Pudo conseguir gestación espontánea a los dos meses, como resultado a la mejoría a nivel del nicho ovárico.

El segundo caso presentado explica la experiencia de una mujer de 40 años, con diagnóstico de menopausia en la que después del procedimiento se reinstauró su función ovárica y se recuperó la menstruación, por lo que pudo concebir de manera espontánea.

A diferencia de los casos anteriores, el tercero presenta a una paciente de 27 años con diagnóstico de insuficiencia ovárica precoz que, tras el tratamiento, tuvo una mejoría a nivel hormonal, por lo que fue posible una concepción sin ser sometida a otras técnicas de reproducción. (1)

Sfakinoudis et al., en 2019 plantearon varios casos en pacientes con baja respuesta ovárica, en los que el uso de esta técnica permitió una mejora a nivel hormonal e incluso gestación espontánea.(14)

Los buenos resultados obtenidos del trasplante de células madre y de la infusión de plasma rico en plaquetas aplicados de manera individual, han impulsado a un grupo de investigadores a estudiar el efecto sinérgico de ambas técnicas. Se ha evaluado mediante un estudio piloto la eficacia y seguridad del uso combinado de células madre autólogas derivadas de la médula ósea y el PRP en pacientes con baja respuesta ovárica.

Los parámetros utilizados para evaluar los resultados de la instilación intraovárica de células madre combinadas con PRP fueron el recuento de folículos antrales, los ovocitos en MII obtenidos tras estimulación hormonal, las variaciones en los niveles de AMH y el número de embriones obtenidos.

Veinte mujeres participaron en dicho estudio y se sometieron a la instilación del preparado por vía transvaginal o por vía laparoscópica en función del volumen ovárico y su accesibilidad. El procedimiento se llevó a cabo bajo anestesia general.

Una vez realizada la instilación se realizó un seguimiento continuo de las pacientes para evitar cualquier tipo de efecto adverso o complicación. Al cabo de 6 semanas se reevaluaron los niveles de la AMH y el recuento de folículos antrales.

Ninguna paciente presentó complicaciones atribuibles a la instilación y los resultados fueron prometedores ya que se observó una respuesta ovárica positiva: el recuento de folículos antrales aumentó después del tratamiento. Esto derivó, a su vez, en una mayor recuperación de ovocitos en MII.

Los niveles de AMH también incrementaron en algunas pacientes. Sin embargo, cuando se analizó el conjunto de mujeres este aumento no fue estadísticamente significativo.

Aunque con este primer trabajo se concluyó que la instilación intraovárica movilizó y restauró la reserva ovárica preexistente, es necesaria la realización de más estudios para validar los resultados en una población más grande y homogénea.(16)

4.3. Técnica IVA: In Vitro Activation. Activación de los folículos mediante fragmentación del tejido ovárico.

Esta técnica parte de la premisa de que los órganos deben mantener un continuo equilibrio de proliferación y apoptosis celular.

En el caso del desarrollo folicular, aunque se desconocen una gran parte de los mecanismos moleculares involucrados, existen múltiples moléculas y vías implicadas en el proceso. Diversos estudios confirman que la delección del gen PTEN y Foxo3 en el tejido ovárico desencadena una activación del desarrollo folicular, así como también lo hacen los activadores Akt y la inhibición de la proteína MST2. Esta última proteína activa la vía Hippo, imprescindible en la homeostasis del crecimiento orgánico. Ha sido ampliamente estudiada en *Drosophila*, y se ha confirmado que interviene en la proliferación y en la estabilidad de las células madre somáticas, además juega un papel importante en la ovogénesis. (13)

La vía Hippo, también conocida como vía de señalización Salvador / Warts / Hippo está formada por una cascada de proteín-quinazas. Favorece la fosforilación de la proteína Yes Associated Protein (YAP), antagonizando su

función. Como resultado, ya que la proteína YAP favorece el crecimiento, al antagonizar la función de ésta se suprime el desarrollo celular.

Ocurre lo contrario al fragmentarse el tejido (en nuestro caso, ovárico), cuando se favorece la polimerización de G-actina a F-actina. La concentración de F-actina inhibe la vía Hippo, y desencadena una mayor concentración intranuclear de YAP, cosa que aumenta los factores de crecimiento y favorece el desarrollo folicular.

Estas rutas metabólicas fueron usadas por primera vez por el grupo de Kawamura basándose en la hipótesis de “despertar” folículos silentes activando e inhibiendo vías metabólicas mediante medios químicos o mecánicos.(17) El procedimiento de la técnica IVA ha ido evolucionando a lo largo del tiempo. Consiste en realizar una ooforectomía vía laparoscópica y posterior vitrificación de la corteza ovárica. Inicialmente, este tejido se trataba de forma mecánica, fragmentándose y también cultivándose a partir de varios fármacos, en una incubación con inhibidores de PTEN y activadores de Akt. Posteriormente, se reimplantaba el tejido, observándose crecimiento folicular.

Analizaron un total de 27 pacientes con fallo ovárico precoz, en las que se realizó esta técnica. Tras el estudio de las muestras histológicas ováricas, en 13 de las 27 pacientes se observaron folículos silentes. Estas muestras de tejido fueron cultivadas en el laboratorio durante dos días con el activador Akt, para su posterior trasplante. Se realizó un seguimiento mediante ecografía semanalmente. 8 de las 13 pacientes presentaban folículos en desarrollo, y posteriormente se les realizó estimulación hormonal hasta conseguir folículos de 16mm de diámetro. Fue entonces cuando se administró hCG para desencadenar la ovulación y poder realizar la punción en las 36 horas posteriores a la administración del fármaco. En 5 de las 13 pacientes se pudo realizar ICSI y los resultados fueron:

1. En la paciente 1 se pudo realizar la transferencia, pero no culminó en embarazo.
2. La paciente 3 era una mujer de 29 años, que desde los 25 presentaba amenorrea, tras dos años de ciclos menstruales irregulares. Se sometió a diversos estudios sin determinar la causa de su condición. Tras realizar la técnica IVA se obtuvieron 4 embriones, dos de los cuales fueron transferidos. Finalmente, se produjo un embarazo único.

3. En la paciente 5 se determinaron niveles altos de hCG tras la transferencia, indicativo de embarazo.(17)

Más adelante, se realizó una modificación con el objetivo de mejorar la técnica IVA, conocido como técnica OFFA.

4.4. **Técnica OFFA: Ovarian Fragmentation for Follicular Activation. Activación de folículos primordiales mediante procedimiento IVA modificado.**

Mediante laparoscopia se extirpa la corteza ovárica y en el laboratorio se procede a la fragmentación y posterior reinstauración del tejido en el mismo ovario en una zona bien vascularizada, mejorando la posibilidad de conseguir un embarazo. La diferencia radica en que ya no se necesita congelar el tejido para tratarlo ya que se piensa que la congelación podría producir apoptosis del tejido. Por tanto, esta diferencia condiciona la ausencia de incubación del tejido en sustancias como los inhibidores de PTEN, que tienen un efecto potencialmente oncogénico. Además, al no incubarse el tejido el procedimiento se puede realizar en un único tiempo, haciendo que sea menos complejo. (18) Asimismo, ya no es necesaria la vitrificación del ovario, hecho beneficioso ya que el ovario es susceptible a las variaciones de temperatura, y podría sufrir daños en el proceso tanto de congelación como de descongelación.

Por otro lado, se han estudiado varias zonas de reimplante del tejido, como el peritoneo pélvico, sin mucho éxito. Sigue siendo el ovario el lugar de reimplantación que demuestra mejor resultado. (18)(19)

5. ARGUMENTACIÓN CRÍTICA

5.1. Rejuvenecimiento ovárico y euploidia

La idea de “rejuvenecimiento ovárico” supone un tema de gran interés en el mundo de la medicina reproductiva. Cabe destacar que, aunque en la actualidad no exista un tratamiento totalmente eficaz contra la insuficiencia ovárica, los avances actuales en RO han hecho factible el progreso de métodos terapéuticos dignos de estudio.

Sin embargo, la posibilidad de activación de folículos silentes y recuperación ovárica, incluso de ser posible, no mejora la calidad ovocitaria. Dicha calidad se entiende como la capacidad del óvulo para ser fecundado y evolucionar en la etapa embrionaria. El éxito de la reproducción humana independientemente de si es de manera natural o con la ayuda de terapias de reproducción asistida, depende en buena parte de la edad de la mujer. En el ámbito de la reproducción, se habla de edad materna avanzada cuando la mujer alcanza los 35 años. Es entonces cuando el factor edad se relaciona de manera no lineal con la tasa de euploidia. Es decir, a medida que aumenta la edad materna aumenta también la tasa de alteraciones cromosómicas hasta llegar a un 70% de aneuplodías en mujeres mayores de 40 años.(5)

Es importante destacar que con las técnicas de RO se pretenden obtener más ovocitos y así aumentar las posibilidades de concepción, no obstante, no se aspira a mejorar determinadas situaciones ligadas a la edad de la mujer, así como el cariotipo del embrión. En este caso, No es posible aumentar la proporción de embriones euploides. Ello queda reflejado en un estudio dónde se realizó un trasplante autólogo de células madre derivadas de la médula ósea, de las 17 pacientes que participaron de manera voluntaria, solo el 16'1% de los embriones eran euploides.(10)

Por otro lado, cabe mencionar que estas técnicas van dirigidas principalmente a dos tipos de pacientes: mujeres menopaúsicas y mujeres con fallo ovárico precoz. En ambos perfiles ya ha cesado en gran parte la función ovárica, pero

un factor determinante para el éxito de las técnicas de RO es el tiempo que ha transcurrido desde del cese ovárico al inicio del tratamiento. A mayor tiempo, más improbable es encontrar folículos susceptibles de ser activados.

Una vez se realiza el tratamiento, los resultados se observan entre los tres - cuatro ciclos posteriores, dependiendo del caso de cada paciente. Posterior a estos meses, ya no cabe esperar un posible efecto. Ello significa que estos procedimientos de regeneración ovárica no presentan unos efectos de larga duración ni mucho menos indefinidos.

5.2. Conflictos éticos con el tratamiento de células madre

Estas técnicas de rejuvenecimiento ovárico están invariablemente sujetas a innumerables conflictos éticos, uno de los motivos por los que no se utilizan células madre embrionarias. Estas serían, *a priori*, las más adecuadas para las terapias regenerativas debido a su potencial de diferenciación, ya que son capaces de convertirse en cualquier célula especializada del cuerpo, pero el hecho de que necesitan ser extraídas de la masa interna del blastocisto los convierten, *de facto*, en éticamente reprobables.

Esto se soluciona, en principio, mediante el uso de las células madre mesenquimales, más aceptadas deontológicamente, obtenibles a partir de procedimientos mínimamente invasivos y altamente reproducibles en el laboratorio. Estas técnicas se encuentran todavía en su fase inicial y, aunque hasta ahora están generando muchas expectativas debido a sus buenos resultados, será necesaria la realización de más ensayos clínicos en humanos antes de proceder a su aplicación rutinaria. Hay que tener en cuenta que, hasta ahora, la mayoría de estudios han sido realizados en animales, lo que dificulta la translación de resultados. Por una parte, existen diferencias entre nuestros sistemas inmunológicos y, por la otra, el daño ovárico natural de los pacientes puede no asemejarse al producido en los animales mediante sustancias químicas.(13)

5.3. Edad y maternidad

Otro posible conflicto que podemos encontrar al implementar estas nuevas técnicas es el de la edad máxima permitida para la mujer que se ve sometida a ellas.

La Sociedad Española de Fertilidad (SEF) establece un máximo de edad de 50 años para poder acceder a los tratamientos de RA. Los motivos de esta limitación son tanto éticos como también basados en garantizar la viabilidad y éxito de la técnica a aplicar. Sin embargo, si obviamos el aumento de la probabilidad de complicaciones durante el embarazo a medida que la edad de la gestante aumenta, la aplicación de las técnicas de rejuvenecimiento ovárico podría abrir nuevamente el debate de cuál debe ser la edad máxima de la candidata.

En el caso de las mujeres menopáusicas, uno de los grupos objetivo de la aplicación de estas técnicas, la resolución de su principal problema reproductivo podría verse confrontado por unas limitaciones bioéticas formuladas tiempo atrás, cuando no existían tales avances tecnológicos. Por este motivo, la edad máxima de la mujer cada vez podría tener menos relevancia frente a su derecho a la reproducción. (1)

5.4. Limitaciones de los estudios

Actualmente existen una serie de factores que limitan la homogeneización de los estudios clínicos sobre RO y de los resultados que podemos extraer de ellos. Aunque, como ya hemos indicado, se trata de una línea de investigación muy prometedora, en muchos casos el número de participantes en estos estudios es muy escaso y, a veces, los estudios carecen de un grupo control. Además, no están todavía muy claros cuáles son los mecanismos moleculares implicados en este proceso, por lo que es todavía pronto para llegar a una conclusión firme sobre su eficacia aplicada a gran escala.(13)

5.5. Carga psicológica

Por último, cabe destacar que la mayoría de participantes seleccionadas para este tipo de estudios han pasado ya por múltiples intentos de embarazo, muchos de ellos mediante técnicas de reproducción asistida. Ello conlleva, invariablemente, una carga psicológica que puede llegar a condicionar el desarrollo normal del estudio clínico en cuestión (abandono de la medicación hormonal, por ejemplo).

Por otra parte, las últimas opciones para las mujeres que no han tenido éxito después de las diferentes técnicas reproductivas son la donación de óvulos, la gestación subrogada (en los países donde la ley lo permita) y la adopción. Todos ellos son procesos que, sin duda, pueden llegar a convertirse en una fuente de preocupación importante ya que los hijos dispondrán de un material genético distinto al de la futura madre. Esto supone otro gran motivo para seguir investigando las técnicas de RO, donde los padres sí pueden tener hijos con su propio material genético.(20)

6. CONCLUSIONES

- En la cultura occidental la maternidad se ha retrasado de manera considerable durante las últimas décadas. La edad media de las madres primogénitas se sitúa actualmente entre la tercera y cuarta década de vida.
- El retraso de la maternidad se asocia directamente con una disminución de la fertilidad en la mujer, ya que un sistema reproductor envejecido comporta frecuentemente una alteración y/o disrupción de su función ovárica. La fase menopáusica resultante es, hasta el día de hoy, irreversible.
- La posibilidad de rejuvenecer el ovario supone un descubrimiento en el campo de la medicina reproductiva ya que brinda la oportunidad a mujeres con fallo ovárico o edad avanzada de conseguir un embarazo con su mismo material genético.
- El rejuvenecimiento ovárico representa una posible alternativa a la ovodonación en determinados casos.
- Las técnicas de rejuvenecimiento ovárico van encaminadas a mejorar el resultado reproductivo mediante la activación de folículos silentes. Sin embargo, cuando no hay folículos disponibles estas técnicas no resultan factibles. Motivo por el cuál es imprescindible estudiar el caso de cada paciente de manera individualizada.
- La menopausia o el fallo ovárico precoz no conllevan una pérdida total de los folículos, se sabe que alrededor de 1000 folículos permanecen en la corteza ovárica de la mayoría de estas pacientes.

- Aunque con estas técnicas se puede lograr una mayor recuperación de ovocitos, no se puede modificar la tasa de embriones aneuploides asociada a la edad de la paciente.
- Los efectos de los procedimientos de RO se pueden observar en los tres o cuatro ciclos posteriores al tratamiento, más tarde de los seis meses no cabe esperar mejoría. Ello nos confirma que estas técnicas no actúan de manera indefinida.
- Aunque las cifras sean discretas, con dichas técnicas no sólo se han producido embarazos con terapias de RA, sino también se ha producido la concepción natural.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Pantos K, Simopoulou M, Pantou A, Rapani A, Tsioulou P, Nitsos N, et al. A Case Series on Natural Conceptions Resulting in Ongoing Pregnancies in Menopausal and Prematurely Menopausal Women Following Platelet-Rich Plasma Treatment. *Cell Transplant.* 2019;28(9–10):1333–40.
2. Vantman D, Vega M. Reproductive Physiology and evolutive changes with women age. *Rev Med Clin Condes.* 2010;
3. Jankowska K. Premature ovarian failure. Review Paper. *Menopause Rev.* 2017;16(2):51–6.
4. Nippita TA, Baber RJ. Premature ovarian failure: A review. *Climacteric.* 2007;10(1):11–22.
5. Cimadomo D, Fabozzi G, Vaiarelli A, Ubaldi N, Ubaldi FM, Rienzi L. Impact of maternal age on oocyte and embryo competence. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9(JUL).
6. Polonio AM, Chico-Sordo L, Córdova-Oriz I, Medrano M, García-Velasco JA, Varela E. Impact of ovarian aging in reproduction: From telomeres and mice models to ovarian rejuvenation. *Yale J Biol Med.* 2020;93(4):561–9.
7. Niederberger C, Pellicer A, Cohen J, Gardner DK, Palermo GD, O'Neill CL, et al. Forty years of IVF. *Fertil Steril.* 2018;110(2):185-324.e5.
8. Fett R. *It Starts with the egg.* 2019.
9. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: Mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev.* 2009;30(5):465–93.
10. Herraiz S, Romeu M, Buigues A, Martínez S, Díaz-García C, Gómez-Seguí I, et al. Autologous stem cell ovarian transplantation to increase reproductive potential in patients who are poor responders. *Fertil Steril.* 2018;110(3):496-505.e1.
11. Prósper F, Verfaillie CM. Células madre adultas. *An Sist Sanit*

- Navar. 2003;26(3):345–56.
12. Ota KI. Fuel Cells: Past, Present and Future. *IEEJ Trans Fundam Mater.* 2008;128(5):329–32.
 13. Rosario R, Anderson RA. Novel approaches to fertility restoration in women with premature ovarian insufficiency. *Climacteric* [Internet]. 2021;0(0):1–13. Available from: <https://doi.org/10.1080/13697137.2020.1856806>
 14. Sfakianoudis K, Rapani A, Grigoriadis S, Retsina D, Maziotis E, Tsioulou P, et al. Novel Approaches in Addressing Ovarian Insufficiency in 2019: Are We There Yet? *Cell Transplant.* 2020;29:1–21.
 15. Sills ES, Rickers NS, Li X, Palermo GD. First data on in vitro fertilization and blastocyst formation after intraovarian injection of calcium gluconate-activated autologous platelet rich plasma. *Gynecol Endocrinol* [Internet]. 2018;34(9):756–60. Available from: <https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1445219>
 16. Tandulwadkar S, Ms K. Combined Use of Autologous Bone Marrow derived Stem Cells and Platelet-rich Plasma for Ovarian Rejuvenation in Poor Responders. *J Hum Reprod Sci.* 2020;(13):184–90.
 17. Kawamura K, Cheng Y, Suzuki N, Deguchi M, Sato Y, Takae S, et al. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(43):17474–9.
 18. Kim SS, Yang HW, Kang HG, Lee HH, Lee HC, Ko DS, et al. Quantitative assessment of ischemic tissue damage in ovarian cortical tissue with or without antioxidant (ascorbic acid) treatment. *Fertil Steril.* 2004;82(3):679–85.
 19. Daz-Garca C, Milenkovic M, Groth K, Dahm-Khler P, Olausson M, Brnnstrm M. Ovarian cortex transplantation in the baboon: Comparison of four different intra-abdominal transplantation sites.

- Hum Reprod. 2011;26(12):3303–11.
20. Farimani M, Heshmati S, Poorolajal J, Bahmanzadeh M. A report on three live births in women with poor ovarian response following intra-ovarian injection of platelet-rich plasma (PRP). *Mol Biol Rep* [Internet]. 2019;46(2):1611–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-019-04609-w>