

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

en

***Biología y Tecnología Aplicada a la
Reproducción Humana Asistida***

**UTILIDAD DE LAS CÉLULAS MADRE
PARA EL REJUVENECIMIENTO OVÁRICO
EN MUJERES BAJAS RESPONDEDORAS:
ESTADO ACTUAL Y FUTURO**

Autor: Lucía de las Heras Cano

Tutor: Beatriz Amoroch Llanos

Alcobendas, Septiembre 2025

ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS	10
MATERIALES Y MÉTODOS	11
RESULTADOS	12
OFFA	12
PRP	16
ASCOT	21
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES	28
AGRADECIMIENTOS	29
BIBLIOGRAFÍA	29

RESUMEN

El uso de las células madre ha revolucionado la medicina moderna gracias a sus propiedades regenerativas, y se ha planteado su utilidad para enfrentar uno de los grandes desafíos en la reproducción asistida: la baja respuesta a la estimulación ovárica (POR, del inglés *Poor Ovarian Response*). Estas pacientes cuentan con opciones terapéuticas muy limitadas y resultados muy desfavorables, por lo que el objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica crítica de la evidencia disponible sobre las principales estrategias de rejuvenecimiento ovárico: la fragmentación ovárica para la activación folicular (OFFA, del inglés *Ovarian Fragmentation for Follicular Activation*), el plasma rico en plaquetas (PRP) y el trasplante autólogo de células madre (ASCOT, del inglés *Autologous Stem Cells Ovarian Transplantation*). Se han analizado los parámetros de reserva ovárica, la respuesta a la estimulación, la tasa de fecundación, de embarazo y de recién nacido vivo. Este análisis muestra que las tres técnicas parecen mejorar los marcadores de reserva ovárica y aumentan la cantidad de óvulos recuperados, pero no hay evidencias sólidas sobre su verdadero impacto en los resultados reproductivos. Debido a la novedad de las estrategias, existen muy pocos estudios de alta calidad y hay una falta de estandarización en los protocolos y en la clasificación de las mujeres POR. En su conjunto, los resultados sugieren que OFFA es una técnica invasiva y compleja, haciéndola menos atractiva en comparación con las otras dos. Por otro lado, PRP es la más sencilla y ASCOT la que presenta un mayor potencial biológico, lo que justifica continuar por estas líneas de investigación, pudiendo ser el punto de partida de nuevos experimentos. Se debería unificar los criterios de inclusión de las pacientes, aumentar el tiempo de seguimiento y estandarizar los protocolos para superar la barrera de la baja respuesta ovárica, permitiendo a numerosas mujeres concebir con óvulos propios.

PALABRAS CLAVE

Células madre, fragmentación ovárica, plasma rico en plaquetas, células madre de médula ósea, recuperación ovocitaria, ovocito, activación folicular, estimulación de Akt, vía de señalización Hippo.

ABSTRACT

The use of stem cells has revolutionized modern medicine thanks to their regenerative properties, and their potential application has been proposed to address one of the greatest

challenges in assisted reproduction: Poor Ovarian Response (POR) to stimulation. These patients have very limited therapeutic options and unfavorable outcomes, which is why the aim of this work is to conduct a critical literature review of the available evidence on the main ovarian rejuvenation strategies: ovarian fragmentation for follicular activation (OFFA), platelet-rich plasma (PRP) and autologous stem cell ovarian transplantation (ASCOT). Parameters such as ovarian reserve, response to stimulation, fertilization rate, pregnancy rate and live birth rate have been analyzed. This analysis shows that all three techniques appear to improve ovarian reserve markers and increase the number of retrieved oocytes, but there is no solid evidence regarding their true impact on reproductive outcomes. Due to the novelty of these strategies, very few high-quality studies are available, and there is a lack of standardization in protocols and in the classification of POR women. Overall, the results suggest that OFFA is an invasive and complex technique, making it less attractive compared to the other two. On the other hand, PRP is the simplest, while ASCOT presents the greatest biological potential, which justifies further research along these lines and could serve as the starting point for new experiments. Inclusion criteria for patients should be unified, follow-up periods extended and protocols standardized in order to overcome the challenge of poor ovarian response, thereby enabling many women to conceive with their own oocytes.

KEY WORDS

Stem cells, ovarian fragmentation, platelet-rich plasm, bone marrow stem cells, oocyte rescue, oocyte, follicular activation, Akt stimulation, Hippo signaling.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha producido una tendencia a retrasar la maternidad por motivos socioeconómicos, aumentando el número de mujeres con problemas de fertilidad que desean ser madres (Buigues et al., 2021). Además, existen diferentes alteraciones ováricas que suponen un reto para la reproducción asistida y que actualmente están siendo objeto de investigación, como la insuficiencia ovárica primaria (POI, del inglés *Primary Ovarian Insufficiency*). Afecta a un 1% de las mujeres y está caracterizado por presentar anovulación antes de los 40 años y, en consecuencia, infertilidad. Algunas pacientes mantienen pequeños folículos ováricos residuales que no son capaces de producir suficiente estrógeno y progesterona y, por tanto, no se desarrollan. En muchas ocasiones,

la única opción es recurrir a un banco de ovocitos para poder concebir, con el impacto psicológico que esto puede suponer (Ferreri et al., 2021).

Otro desafío lo representan las mujeres POR, que no responden adecuadamente a la estimulación ovárica debido a la falta de folículos antrales estimulables (Buigues et al., 2023), como si se tratase de un envejecimiento acelerado. Los ciclos de estas mujeres tienen mayor probabilidad de ser cancelados o de resultar en un menor número de óvulos y embriones generados, reduciendo las tasas de embarazo. Para unificar este concepto, la Sociedad Europea para la Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) definieron los criterios de Bolonia, en los que se debe cumplir mínimo dos de los siguientes aspectos:

- i. Edad materna avanzada (≥ 40 años) o cualquier factor de riesgo asociado a una cantidad reducida de folículos.
- ii. Un ciclo previo de fecundación *in vitro* con ≤ 3 ovocitos recuperados mediante estimulación o un ciclo cancelado con el desarrollo de menos de 3 folículos.
- iii. Un resultado anormal en una prueba de reserva ovárica (presentar entre 5-7 folículos durante el recuento folicular o bajos niveles de la hormona antimülleriana, entre 0,5-1,1 ng/ml).

Posteriormente, se ha argumentado que bajo esta definición sigue existiendo una gran heterogeneidad en la población con baja respuesta ovárica, y es por esto que ha surgido la clasificación de POSEIDON, que distribuye a estas mujeres en cuatro grupos más homogéneos (Cakiroglu et al., 2022) teniendo en cuenta la edad, el recuento de folículos antrales (AFC, del inglés *Antral Follicle Count*), los niveles séricos de la AMH (del inglés *Anti-Müllerian Hormone*) y la respuesta a la estimulación ovárica (Díaz-García et al., 2022).

En este contexto, en los últimos años ha crecido el interés en el ámbito científico de conseguir el rejuvenecimiento ovárico, con el objetivo de restaurar la función ovárica y mejorar las tasas de recién nacido vivo con las técnicas de reproducción asistida.

Como alternativa prometedora para el tratamiento de mujeres POI o POR, ha surgido el uso de células madre, que tienen capacidad de división ilimitada y pueden mantenerse como células madre o diferenciarse en células de distintos órganos y tejidos. Las células madre pluripotente humanas (hPSC, del inglés *human Pluripotent Stem Cells*) incluyen principalmente las células madre embrionarias (hESC, del inglés *human Embryonic Stem*

Cells) e inducidas (células somáticas reprogramadas genéticamente). También se trabaja con células madre adultas que se encuentran en tejidos de individuos adultos como la médula ósea (BMSC, del inglés *Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells*), el cordón umbilical o el líquido amniótico. Las células madre adultas permiten la renovación celular para mantener los órganos tras una lesión o durante el envejecimiento (Tian et al., 2023). En estudios previos se ha descrito que el uso de células madre parece promover la reparación del tejido ovárico por la secreción de factores de crecimiento (como FGF-2, del inglés *Fibroblast Growth Factor-2* y THBS1, del inglés *thrombospondin-1*), citoquinas y quimioquinas, permitiendo recuperar folículos quiescentes residuales de ovarios dañados. Este envejecimiento tisular puede ser debido, en parte, por cambios en la composición de los factores circulantes en sangre, lo que hace pensar que podrían revertirse con las secreciones de las células madre (Buigues et al., 2021).

A través de los años han ido surgiendo diferentes estrategias con el uso de células madre para recuperar el tejido ovárico de mujeres POR, entre ellas las más destacadas son:

OFFA (del inglés *Ovarian Fragmentation for Follicular Activation*): Una de las primeras estrategias que surgió fue la activación de folículos primordiales mediante la fragmentación tisular y modulación de rutas de señalización celular. La activación folicular está regulada por diversas vías de señalización, destacando la vía PI₃K-Akt-FoxO₃ (regula el crecimiento, la supervivencia celular y la proliferación de los folículos en estado de latencia) y la vía Hippo (inhibe el crecimiento folicular mediante la regulación de la proliferación celular y la apoptosis). En la primera vía se encuentra PI₃K (fosfatidilinositol-3-cinasa), una enzima que se activa ante la presencia de factores de crecimiento o señales hormonales, lo que conlleva a la producción de segundos mensajeros, como PIP3 (fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato), que fosforilan y activan Akt (proteína quinasa B, PKB). Akt regula la proliferación, supervivencia y activación de los folículos ováricos. Por el contrario, FoxO₃ (factor de transcripción *Forkhead O3*), normalmente se encuentra activo en el núcleo de las células de los folículos primordiales, manteniéndolos en estado de latencia. Cuando Akt se activa, fosforila a FoxO₃, promoviendo su salida del núcleo y su degradación (Madsen & Toker, 2023) y da lugar a la activación y desarrollo del folículo. La relación de esta vía con la técnica OFFA se describe en la imagen 1. Primero, se realiza una biopsia de la corteza ovárica por laparoscopía en una paciente POI o POR y se fragmenta en porciones pequeñas,

aumentando la polimerización de actina, e interrumpiendo la vía Hippo, que resultará en una menor fosforilación de YAP (del inglés, *Yes-associated protein 1*), actuando como promotor de la transcripción de proteínas antiapoptóticas y factores de crecimiento. De esta forma, disminuirán los niveles de apoptosis y se promoverá la secreción de factores de crecimiento que conllevará una activación de folículos quiescentes (Díaz-García et al., 2022). En los primeros trabajos, este tejido ovárico se incubaba con moléculas estimulantes de Akt e inhibidores de la fosfatasa PTEN. A esta variación del protocolo se le llama IVA (del inglés *In Vitro Activation*). Los inhibidores de PTEN fomentan la vía PI₃K-Akt-FoxO₃ al activar PI₃K, que fosforila a Akt, entre otras moléculas, y esto conduce a la translocación nuclear de las proteínas FoxO₃ y, en consecuencia, se potencia el crecimiento folicular (Pellicer et al., 2023). Finalmente, los fragmentos se reinsertan en el ovario, se realiza un ciclo de FIV y se espera el recién nacido vivo (RNV). El seguimiento se realiza midiendo los niveles hormonales (FSH, del inglés *Follicle Stimulating Hormone*, y AMH), y realizando un AFC (Díaz-García et al., 2022).

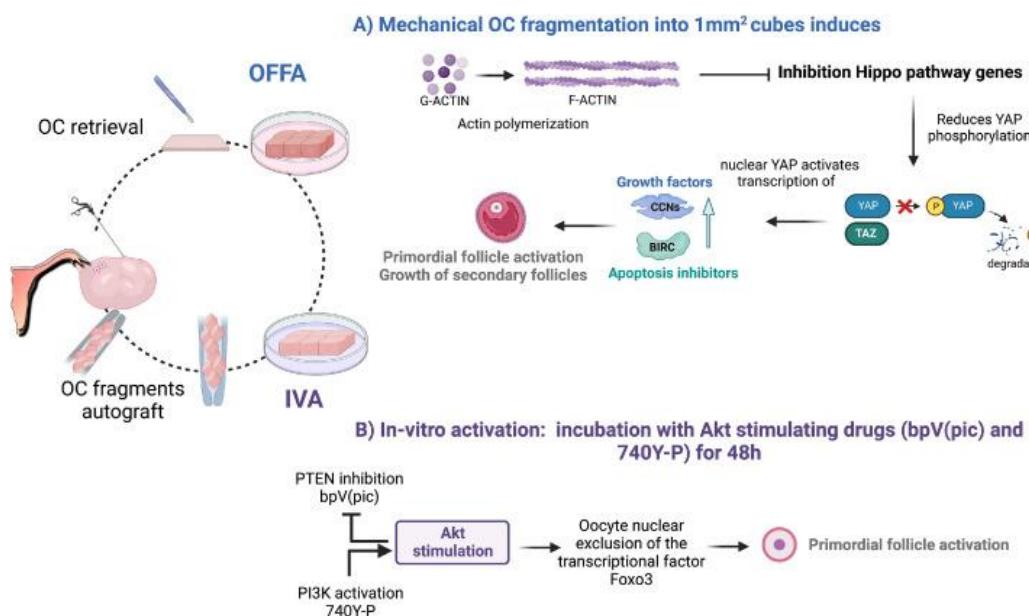


Imagen 1: Procedimiento de OFFA (Ovarian Fragmentation for Follicular Activation): Se realiza una biopsia ovárica en la paciente POR/POI y se fragmenta la corteza en cubos, induciendo la polimerización de actina y con ello la inhibición de la vía Hippo. Se promueve la reducción de la fosforilación de YAP, aumentando los niveles de factores de crecimiento e inhibidores apoptóticos, y dando lugar a la activación folicular. Por último, se trasplanta de nuevo en el ovario y se realiza un ciclo de FIV. Existe otra variación del protocolo llamado IVA (In-Vitro Activation), en el que se incuban los fragmentos de tejido con medicamentos para seguir promoviendo la activación folicular (con Akt e inhibidores de PTEN) (Pellicer et al., 2023).

Diferentes publicaciones informan de la obtención de recién nacidos vivos con la técnica OFFA en mujeres POR y POI, pero en porcentajes bajos (Pellicer et al., 2023), por lo que los beneficios de esta estrategia todavía es objeto de debate.

PRP (Plasma Rico en Plaquetas): La función principal de las plaquetas es la hemostasia, es decir, actúan como mecanismo de defensa ante una lesión en los vasos sanguíneos gracias a la adhesión, agregación, generación de trombina y formación de fibrina. También presentan otras funciones como regular la migración celular, la apoptosis y remodelar la matriz extracelular. Además, las plaquetas contienen gránulos alfa que, al activarse, liberan diversos factores de crecimiento y citoquinas. Los principales factores de crecimiento que presentan las plaquetas son:

- Factor de crecimiento transformante beta (TGF- β)
- Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)
- Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)
- Factor de crecimiento fibroblástico beta (FGF- β)
- Factor de crecimiento insulinoide (IGF-1)

Todos estos factores promueven la reparación de tejidos, la revascularización y la eliminación de células muertas. Por ejemplo, el VEGF y PDGF están implicados en el aumento de la vascularización desde la maduración folicular hasta la ovulación final. Por todo esto, se cree que la técnica con PRP podría ayudar a promover la foliculogénesis y la ovulación. Esta técnica comienza, como se muestra en la imagen 2, con la extracción de sangre periférica de la paciente. La muestra se somete a centrifugación para separar el PRP, obteniéndose una concentración hasta 10 veces mayor que la concentración circulante. Para activar las plaquetas, y que secretan los factores de crecimiento, se deben añadir diferentes sustancias como la trombina, el colágeno, el cloruro de calcio o una combinación de estas. A continuación, el PRP se administra, mediante inyección guiada por ultrasonido, en el ovario. Como resultado, se promueve la activación folicular y se espera obtener una mayor respuesta (Pellicer et al., 2023). Después de la aplicación del PRP, se monitoriza a la paciente a través de diferentes mediciones durante 3 meses, pudiéndose prolongar por indicación médica:

- Niveles de hormonas ováricas (FSH, AMH y E₂).

- Ecografía para evaluar cambios en la reserva folicular (AFC).
- Valoración del inicio de la estimulación ovárica: si se observa una mejora en los marcadores de reserva se podría considerar un tratamiento de estimulación ovárica (Éliás et al., 2024).

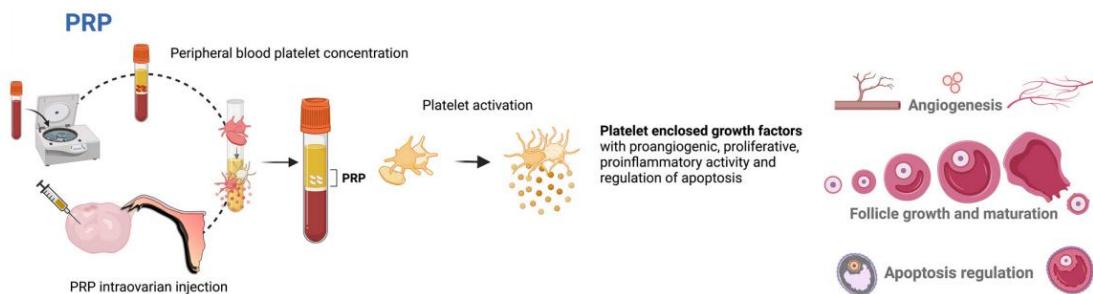


Imagen 2: Procedimiento de PRP (Plasma Rico en Plaquetas): Tras obtener el plasma altamente concentrado en plaquetas (mínimo 1 millón/mL) por centrifugación, se inyecta en el ovario y se promueve, gracias a los factores de crecimiento secretados por las plaquetas, la angiogénesis, la maduración y el crecimiento folicular, además de regular la apoptosis (Pellicer et al., 2023).

A pesar de la falta de ensayos controlados aleatorizados, los resultados alentadores del PRP la convierten en una alternativa en la reproducción asistida (Pellicer et al., 2023).

ASCOT (del inglés, *Autologous Stem Cell Ovarian Transplantation*): es una técnica novedosa que emplea células madre autólogas con capacidad de autorrenovación. Estas células se encargan de:

- Promover la proliferación de células estromales y reducir la muerte celular.
- Regular la angiogénesis, promoviendo una mejor irrigación sanguínea.
- Activar folículos residuales, mejorando la producción de ovocitos.
- Puede que esté implicado en la reparación tisular (Herraiz et al., 2018).

Estas células madre pueden provenir de diferentes tejidos, aunque principalmente se obtienen de la médula ósea. Por ello, como se muestra en la imagen 3, el ASCOT comienza con la movilización de BMDSC (del inglés *Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells*) a sangre periférica mediante el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF, del inglés *Colony Stimulating Factor-G*), después se realiza una

extracción y centrifugación de la sangre, y se realiza la infusión en la arteria ovárica (Pellicer et al., 2023).

Al movilizar las BMDSC, circulan por sangre periférica, donde secretan factores de crecimiento paracrinos que son responsables de sus propiedades regenerativas. Esto ha dado lugar a pensar que el proteoma plasmático puede darnos información sobre el envejecimiento celular y tisular debido a las diferencias observadas entre personas de diferentes edades. Buigues et al., (2023) muestran que la sangre de individuos más jóvenes presenta altos niveles de factores de crecimiento y poca cantidad de citoquinas proinflamatorias, mientras que la sangre de individuos mayores contiene menos factores de crecimiento y abundancia de citoquinas proinflamatorias. Es interesante destacar que, en diversos artículos, se han encontrado cambios en el proteoma sanguíneo varios meses después de realizar ASCOT, lo que sugiere que en el ovario se producen variaciones sostenidas en el tiempo. De hecho, se han reportado casos de ondas de crecimiento folicular y embarazos hasta seis meses después (Buigues et al., 2023).

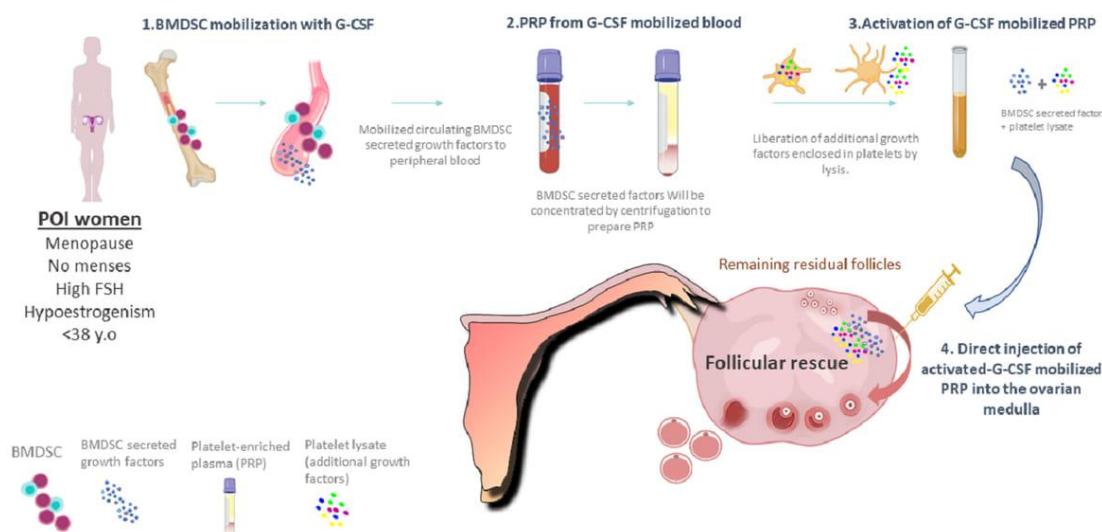


Imagen 3: Procedimiento de un ASCOT (Autologous Stem Cell Ovarian Transplantation) en 4 pasos:
Paso 1. Se realiza la movilización de BMDSC a sangre periférica mediante un factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). Paso 2. Extracción y centrifugación de una muestra de sangre. Paso 3. Activación de las plaquetas para liberar los factores al plasma. Paso 4. Inyección en el ovario (Pellicer et al., 2023).

En algunas investigaciones que buscan encontrar cuáles son las poblaciones celulares más indicadas, recolectan por aféresis las BMDSC y seleccionan, por citometría de flujo, la población CD133+, que se trata de células madre hematopoyéticas inmaduras. Es una

subpoblación específica que resultan prometedoras para su uso en la regeneración ovárica debido a su capacidad para promover la proliferación celular y neoangiogénesis (Acosta-Bueno et al., 2020).

El seguimiento de las pacientes tras realizar esta estrategia se realiza midiendo los niveles séricos de FSH y AMH, y realizando un AFC (Pellicer et al., 2023).

Para muchas mujeres es muy importante preservar su genética en la descendencia, y la imposibilidad de concebir con óvulos propios puede generar altos niveles de estrés y ansiedad. Por ello, el avance en terapias regenerativas ofrece una alternativa esperanzadora para aquellas que desean ser madres biológicas a pesar de presentar una función ovárica reducida. Estas nuevas técnicas para conseguir el rejuvenecimiento ovárico resultan prometedoras y en este trabajo se pretende comparar la eficacia de cada una de ellas, pudiendo sentar las bases para futuros experimentos que busquen caracterizar y comprender el funcionamiento ovárico.

OBJETIVOS

- **OBJETIVO PRINCIPAL**

Analizar el estado actual del uso de células madre para el rejuvenecimiento ovárico en mujeres que presentan una baja respuesta ovárica, evaluando su eficacia y capacidad para aumentar las tasas de recién nacido vivo.

- **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Comparar los resultados obtenidos en las diferentes técnicas en mujeres con baja respuesta ovárica en relación a la bibliografía revisada:
 - OFFA
 - PRP
 - ASCOT
- Valorar la eficacia de cada una, exponiendo los beneficios y limitaciones.
- Identificar posibles líneas de investigación futuras para lograr el rejuvenecimiento ovárico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica para comparar las diferentes estrategias emergentes del rejuvenecimiento ovárico, en concreto, las técnicas OFFA, PRP y ASCOT. La metodología ha consistido en buscar y hacer una lectura crítica de artículos científicos actuales. Para ello, se han seleccionado estudios comprendidos entre los años 2018-2025 y se han priorizado las publicaciones de revistas relevantes. Debido a la novedad de estas técnicas hay muy pocos estudios recientes y algunos no han sido publicados en revistas con un alto índice de impacto. Se han utilizado las siguientes bases de datos electrónicas:

- PubMed/MedLine
- Google Scholar
- Web of Science (WOS)

Los términos de búsqueda empleados se realizaron mediante combinaciones booleanas (AND/OR) de palabras clave como: *stem cells, ovarian fragmentation, platelet-rich plasm, bone marrow stem cells, ovarian rescue, follicular activation, Akt stimulation, Hippo signaling*.

Se han utilizado también, términos MeSH (del inglés, *Medical Subject Headings*) para hacer una búsqueda con mayor exactitud.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Artículos originales, estudios observacionales, revisiones sistemáticas y ensayos clínicos publicados en inglés o español.
- Publicaciones entre los años 2018 y 2025, priorizando los estudios más recientes.
- Estudios sobre el uso de OFFA, PRP o ASCOT en humanos o modelos animales.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Artículos duplicados o sin acceso al texto completo.
- Estudios que no aportan resultados relacionados con las técnicas mencionadas.

El procedimiento para la selección de los artículos iniciaba con una lectura del título y resumen. Si cumplían con los criterios de inclusión fueron leídos en su totalidad y se clasificaron según la técnica analizada (OFFA, PRP o ASCOT), teniendo en cuenta las posibles limitaciones. Por último, se ha realizado un registro del autor y fecha de publicación, la edad de las pacientes, recuperación ovocitaria, y la tasa de aborto, RNV y gestación.

RESULTADOS

Con el objetivo de analizar el estado actual del uso de células madre para el rejuvenecimiento ovárico en mujeres que presentan una baja respuesta ovárica, se ha realizado una búsqueda bibliográfica de estudios recientes que emplean las principales técnicas: OFFA, PRP y ASCOT. Para comparar los resultados obtenidos en cada una de ellas, se ha tenido en cuenta el número de pacientes que participan en el estudio, la edad media, la recuperación ovocitaria, tasas de fecundación, gestación, aborto y RNV.

OFFA

La técnica OFFA consiste en la fragmentación de la corteza ovárica para la interrupción de la vía Hippo y posterior autotrasplante, promoviendo el desarrollo folicular. Es una variación del protocolo de activación folicular *in-vitro* (IVA, del inglés *In-Vitro Activation*), en el que no se necesita vitrificar los fragmentos de corteza ovárica ni incubarlos con fármacos estimulantes del crecimiento folicular como Akt y PTEN. Esto presenta ventajas como la reducción de los tiempos, se evita la necesidad de una segunda intervención quirúrgica, y al no tener que crioconservarlos, se eliminan los posibles daños por la vitrificación (Pellicer et al., 2023).

En 2020, Kawamura et al., publicaron una serie de casos en los que siguieron la evolución de 11 mujeres sometidas a OFFA sin fármacos. Estas pacientes tenían entre 30-45 años y fueron diagnosticadas con POR y DOR (del inglés *Decrease Ovarian Reserve*) según los criterios de Bolonia. El protocolo consistió en la fragmentación ovárica de la corteza de uno o ambos ovarios, o el ovario completo en caso de ovarios encogidos, y a

continuación, reimplantaron los injertos siempre en el lado derecho. En algunos casos injertaron fragmentos ováricos adicionales debajo de la serosa de las trompas de Falopio. Después de una monitorización semanal, iniciaron la estimulación ovárica utilizando un agonista de GnRH (hormona liberadora de gonadotropina) y dosis elevadas de FSHr o FSH urinaria purificada (225-300 UI), debido a la escasa vascularización en la zona del injerto. Las dosis de hCG administradas para inducir la maduración del ovocito también fue superior a lo habitual con 10.000-20.000 UI. Prolongaron el seguimiento hasta un año y, en algunos casos, realizaron más de una estimulación ovárica en un mismo ciclo aprovechando las diferentes ondas foliculares. Todos los embriones generados por FIV se cultivaron hasta día 2 o día 3 y se criopreservaron. Decidieron no dejarlos en cultivo hasta blastocisto ya que las pacientes con POR generan un número limitado de embriones y el cultivo prolongado no mejora su calidad.

Los marcadores de reserva ovárica de las pacientes presentaron los siguientes valores antes del tratamiento:

- Mediana de AMH: 0,04 ng/mL (rango: 0-0,8) (muy bajo).
- Mediana de FSH: 47,3 mUI/mL (rango: 13,4-84,9) (elevado).
- Mediana de AFC: 1 (rango: 0-4) tras tratamientos previos con gonadotropinas.

Tras realizar el OFFA observaron un aumento del AFC por cada ciclo en 9 mujeres, mientras que los niveles de AMH no aumentaron en 4 de 5 mujeres que sí desarrollaron crecimiento folicular.

Según los resultados que obtuvieron, recuperaron ovocitos maduros en todas las pacientes y la mayoría mostró un incremento en el número de ovocitos por ciclo tras la intervención. Seis de las once pacientes lograron acumular más de diez ovocitos después del año de seguimiento. Un 56,9% de los ovocitos dieron lugar a embriones de buena calidad, alcanzando una tasa de fecundación del 68,7%. Atendiendo a las mujeres mayores de 40 años, dos pacientes de 45 años lograron acumular 39 y 10 ovocitos, con los que se desarrollaron cinco y dos embriones de buena calidad respectivamente. En cambio, una paciente de 44 años solo recuperó tres ovocitos, los cuales no evolucionaron a embriones de buena calidad. Realizaron 16 transferencias embrionarias en total entre 5 pacientes que resultaron en 4 embarazos. De estos, uno llegó a RNV, dos embarazos seguían en

progreso a la finalización del estudio y otro terminó en aborto espontáneo, aunque esta última mujer conservaba embriones criopreservados.

Díaz-García et al., (2022) evaluaron la eficacia de la técnica OFFA en la mejora de los marcadores de reserva ovárica y los resultados de FIV. Incluyeron a 34 mujeres infértils menores de 40 años diagnosticadas con POR según los criterios de Bolonia. De todas las pacientes, 13 habían estado previamente embarazadas.

Su protocolo consistió en distribuir a las pacientes en dos grupos aleatoriamente. El primer grupo estuvo formado por mujeres que no recibieron el tratamiento (grupo control), y el segundo por las mujeres que se sometieron al OFFA en un único ovario, manteniendo el otro ovario como control interno. Utilizaron entre 30 y 100 fragmentos de corteza ovárica que, tras la fragmentación, se reimplantaron en la corteza y la médula del ovario intervenido. El seguimiento duró seis meses y la estimulación ovárica se inició cuando el número de folículos antrales aumentó al menos el doble en comparación con el momento basal, siguiendo el protocolo corto con menotropina (300 UI/día) y acetato de cetrorelix.

Los resultados mostraron un aumento del AFC en el ovario intervenido en comparación con el ovario control, así como un incremento del AFC total en el grupo sometido a OFFA respecto al grupo control. Sin embargo, no observaron mejoras en los niveles séricos de AMH y FSH. En cuanto a los resultados de fecundación *in vitro*, no encontraron diferencias significativas entre los grupos. En el grupo control recuperaron 33 ovocitos maduros, se desarrollaron 28 embriones y realizaron 18 transferencias embrionarias. En el grupo OFFA obtuvieron 23 ovocitos maduros, se desarrollaron 12 embriones y realizaron 11 transferencias de embriones en etapa de segmentación. No se realizó un diagnóstico genético preimplantacional (PGT-A) en los embriones generados. Finalmente, en el grupo control registraron tres embarazos y cuatro nacidos vivos (debido a un embarazo gemelar), y en el grupo OFFA dos embarazos y un nacido vivo. Tres años después, volvieron a contactar con las pacientes y ninguna se había quedado embarazada de forma espontánea. Además, evaluaron la inhibición de la vía Hippo mediante la cuantificación de la fosforilación de la proteína YAP y la expresión génica de sus genes diana. Hubo una reducción del 18,8% en la relación fosfo-YAP/YAP, junto con la

sobreexpresión de los genes BIRC y CCN, lo que confirma que con esta intervención se promueve la activación de los folículos quiescentes.

Los resultados de los estudios mencionados anteriormente se encuentran resumidos en la Tabla 1.

TABLA 1: ESTUDIOS SOBRE LOS EFECTOS DE OFFA (*Ovarian Fragmentation for Follicular Activation*) EN MUJERES CON BAJA RESERVA OVÁRICA

Intervención	Edad y diagnóstico	Diseño del estudio	Resultados
<ul style="list-style-type: none"> Intervención en uno o ambos ovarios Más de una estimulación/ciclo Estimulación con dosis elevadas Seguimiento de 1 año <p>(Kawamura et al., 2020)</p>	34 años (30-45) POR y DOR según los criterios de Bolonia	Serie de casos (n=11)	<ul style="list-style-type: none"> Aumento de AFC tras la intervención Acumulación de 3-39 ovocitos por paciente en 1 año Tasa de fecundación: 68,7% 4 embarazos (1 aborto, 1 RNV, 1 embarazo en progreso, 1 embarazo natural en progreso)
<ul style="list-style-type: none"> Se intervino en el ovario con menor AFC y el otro se mantuvo como control interno Seguimiento de 6 meses <p>(Díaz-García et al., 2022)</p>	36 años (34-39) POR según los criterios de Bolonia	Ensayo controlado aleatorizado con asignación paralela (n=31)	<ul style="list-style-type: none"> Aumento del número de AFC tras la intervención Recuperación de 23 ovocitos MII tras OFFA y 33 ovocitos MII en el grupo control 12 embriones tras OFFA y 28 embriones en grupo control 2/15 embarazos tras OFFA vs 3/16 en grupo control Tasa de RNV 1/15 tras OFFA vs 3/16 en grupo control

*Tabla 1: Comparación de estudios que emplean la técnica OFFA (*Ovarian Fragmentation for Follicular Activation*).* Se detalla la intervención realizada, la media de edad de los pacientes y diagnóstico, el diseño de estudio y los principales resultados obtenidos. Elaboración propia.

PRP

Las plaquetas son células sanguíneas capaces de liberar factores de crecimiento que promueven la reparación de tejidos, la revascularización y la eliminación de células muertas. Gracias a esto se elaboró la técnica de Plasma Rico en Plaquetas, en la que se aumenta la concentración de plaquetas y se activan para promover la liberación de factores que den lugar a la foliculogénesis y ovulación (Pellicer et al., 2023).

En el estudio llevado a cabo por Cakiroglu et al., (2022) incluyeron a 510 mujeres con diagnóstico de baja reserva ovárica según los criterios de POSEIDON, con una edad media de $40,3 \pm 4,0$ años.

Acorde al protocolo, extrajeron 20mL de sangre periférica de la paciente y la centrifugaron para obtener el plasma rico en plaquetas utilizando un kit comercial. Iniciaron la hiperestimulación ovárica entre el día 2 y 3 del ciclo menstrual con 300 UI de FSH recombinante y 300 UI de hMG. Cuando el folículo dominante alcanzó los 14mm administraron un antagonista de la GnRH. La maduración final se indujo con 250mcg de rHCG cuando el folículo alcanzó 18mm, y la recuperación de ovocitos se realizó 34 horas después. Fecundaron los ovocitos maduros mediante ICSI. Por último, realizaron la transferencia embrionaria al día 3 ó 5 dependiendo de la decisión médica y preferencia de la paciente.

En cuanto a los resultados, se evidenció un aumento en el AFC, siendo inicialmente $2,6 \pm 1,3$ y tras el tratamiento $4,2 \pm 2,4$, al igual que en los niveles de AMH, que comenzó con $0,35 \pm 0,32$ y terminó con $0,53 \pm 0,39$. Sin embargo, hubo una disminución de FSH que pasó de $20,6 \pm 18,3$ a $16,4 \pm 14,0$. Durante el seguimiento perdieron a 14 participantes y 22 lograron un embarazo espontáneo, por tanto, fueron 474 mujeres las que iniciaron la estimulación ovárica. 50 pacientes (10,5%) no consiguieron recuperar ovocitos por fallo de estimulación o por una ovulación prematura. De las pacientes en las que sí se consiguió recuperar óvulos, 367 (86,6%) lograron obtener al menos un óvulo maduro. El número medio de ovocitos recuperados aumentó tras el tratamiento de PRP ($3,4 \pm 2,7$ con respecto a $2,2 \pm 1,9$). Asimismo, el número medio de embriones en etapa de segmentación y de blastocistos obtenidos también aumentó después del tratamiento (embriones en segmentación: $2,1 \pm 1,7$ con respecto a $1,3 \pm 1,2$; blastocistos: $2,3 \pm 1,6$ con respecto a

0,6 ± 0,9). Finalmente, 260 mujeres se sometieron a una transferencia embrionaria sin PGT-A. La tasa de embarazo fue del 18,5% en transferencias frescas y del 28,8% en transferencias de embriones criopreservados. Por otro lado, 48 mujeres optaron por realizar un PGT-A, y observaron un aumento en la tasa de euploidía tras el tratamiento con PRP (de un 11,7% a un 16,8%). Con respecto a la gestación, 22 mujeres (el 4,3%) lograron un embarazo espontáneo entre uno y siete ciclos después del procedimiento (media de 2,4 ± 1,6 ciclos). De estos embarazos, 10 se perdieron como abortos espontáneos, 4 continuaban en progreso al finalizar el estudio y 8 dieron lugar a nacidos vivos. En total, 83 de las 312 mujeres que desarrollaron embriones después del tratamiento (el 26,6%) lograron un embarazo, y 54 (el 17,3%) alcanzaron implantación sostenida o nacimiento vivo. Por último, cabe destacar que identificaron los 40 años como el punto de corte para la falta de respuesta ovárica al PRP, y las mujeres mayores de 38 años presentaron un mayor riesgo de aborto espontáneo. Sin embargo, el volumen de PRP inyectado y el número de punciones ováricas no alteraron los resultados.

Navali et al., (2023) evaluaron la eficacia del PRP en mujeres POR, siguiendo los criterios de Bolonia. Incluyeron a 35 mujeres con una edad media de 40,43 ± 0,26 años. El protocolo de estimulación ovárica consistió en una estimulación mínima con Letrozol a partir del segundo o tercer día del ciclo (5mg/kg al día), combinado con 255 UI de FSH recombinante desde el tercer día de la administración del Letrozol, y desde el cuarto día administraron la hMG (75mg/kg diarios). Cuando los folículos alcanzaron un tamaño de 14mm, usaron un antagonista de GnRH para prevenir la ovulación prematura, y finalmente emplearon 10.000UI de hCG para inducir la maduración ovocitaria y posterior recuperación. Prepararon el PRP a partir de 20mL de sangre extraída de la propia paciente, utilizando un kit comercial. Centrifugaron la sangre a 830g durante 8 minutos e inyectaron 2mL en la corteza de ambos ovarios. Todos los embriones generados en el primer ciclo se vitrificaron, y dos meses después, o tras la tercera menstruación posterior a la inyección de PRP, realizaron una nueva estimulación ovárica. No realizaron PGT-A en los embriones generados.

No encontraron diferencias en los niveles de FSH, siendo inicialmente 12,2 ± 0,31, y 12,51 ± 0,28 tras el tratamiento. Asimismo, los niveles de AMH permanecieron estables con una media de 0,39 ± 0,04 antes del tratamiento, y 0,38 ± 0,039 después de éste. Sin embargo, se evidenció un incremento en los niveles de estradiol tras la inyección de PRP

siendo de $237,7 \pm 13,14$ antes y $404,1 \pm 16,76$ después. Con respecto a los resultados de FIV, lograron un aumento en el número de ovocitos recuperados tras la inyección del PRP. Antes del tratamiento, la media de ovocitos recuperados era de $2,22 \pm 0,13$ (un total de 77 ovocitos), mientras que después del PRP aumentó a 3,68 ovocitos por ciclo (112 ovocitos en total). El promedio de ovocitos tras el tratamiento de PRP fue $2,5 \pm 2,1$. Por último, registraron tres casos de embarazo espontáneo en un plazo de cuatro meses posteriores a la aplicación de PRP, y también aumentó el número de embriones generados después del tratamiento con una media de $3,17 \pm 0,14$ embriones.

Barrenetxea et al., (2024) elaboraron un estudio prospectivo en el que se incluyeron 60 mujeres POR pertenecientes a los grupos III (<35 años y $AFC<5$ o $AMH<1,5\text{ng/mL}$) y IV (≥ 35 años y $AFC<5$ o $AMH<1,5\text{ng/mL}$) de la clasificación POSEIDON, con edades comprendidas entre los 18 y 42 años (edad media: $37,59 \pm 0,41$ años).

Las pacientes fueron aleatorizadas en dos grupos: un grupo control y un grupo de tratamiento con PRP. En el grupo tratamiento, el PRP se preparó siguiendo un protocolo de doble centrifugación para concentrar las plaquetas. Activaron las plaquetas añadiendo cloruro de calcio e inyectaron 4mL en cada ovario, distribuidos entre la médula y la subcápsula ovárica. Después, hicieron tres estimulaciones en los ciclos consecutivos para acumular los óvulos y realizar un ICSI con PGT-A. Utilizaron el protocolo corto con antagonista de GnRH para la estimulación ovárica, suministrando Corifolitropina alfa en el segundo día del ciclo, seguida de la administración de FSHr. Introdujeron el antagonista cuando al menos un folículo alcanzaba los 18mm de diámetro.

Como resultado, acumularon más ovocitos maduros en el grupo PRP ($10,45 \pm 0,41$) en comparación con el grupo control ($8,91 \pm 0,39$). Además, se observó un aumento progresivo en la cantidad de ovocitos maduros recuperados a lo largo de las tres punciones en ambos grupos, siendo este incremento mayor en el grupo PRP. En cuanto a la fecundación, las tasas fueron similares entre ovocitos frescos (76%) y vitrificados (72%), sin diferencias relevantes entre grupo control y grupo tratamiento. No se detectaron diferencias significativas en el desarrollo embrionario ni en el porcentaje de formación de blastocitos euploides. El número medio de blastocitos desarrollados y biopsiados fue $2,43 \pm 0,60$ en el grupo control y de $1,90 \pm 0,32$ en el grupo PRP. El 53% de los pacientes del grupo control tuvieron blastocitos euploides, y en el grupo tratamiento fueron el 43%.

La tasa de embarazo fue del 43% (26 de 60 pacientes), sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Asimismo, no se encontraron diferencias en el tipo de parto ni en el sexo de los recién nacidos entre los dos grupos.

En la literatura revisada, el trabajo publicado por Herlihy et al., (2024) es uno de los pocos ensayos clínicos aleatorizados que evalúan esta intervención, donde agruparon a mujeres <38 años con POR, según la clasificación de POSEIDON, en un grupo de tratamiento con PRP (39 mujeres) y un grupo control (37 mujeres). Emplearon 4mL para la inyección intraovárica en cada ovario, y comenzaron la estimulación con la posterior menstruación. Los ovocitos recuperados fueron fecundados con ICSI.

El AFC aumentó tras el tratamiento tanto en el grupo PRP como en el control, mientras que la AMH sólo mejoró en el grupo control. No observaron diferencias en la media de ovocitos maduros obtenidos, que fue de $3,1 \pm 3,3$ en el grupo PRP y de $2,8 \pm 2,4$ en el grupo control. Tampoco difirieron en el número de blastocistos o en blastocistos euploides entre los grupos, ni en la tasa de embarazo entre grupos.

Molinaro et al., (2025) evaluaron los efectos de la inyección intraovárica bilateral de PRP en 207 mujeres POR según los criterios de Bolonia con una edad ≤ 45 años. La mayor parte de las mujeres recibieron el PRP durante la fase folicular pero un 17,9% lo hizo durante la fase lútea.

Describieron una mejora del AFC total en ambos ovarios durante todo el período de seguimiento alcanzando su punto máximo en la primera visita, y también se produjo un aumento de los niveles de AMH en el primer seguimiento. Un 48,9% presentó un incremento únicamente en los niveles de AMH, mientras que el 22,9% tuvo un aumento sólo del AFC y un 13,5% tanto en el AFC como en los niveles de AMH. No encontraron diferencias en los marcadores de reserva entre las mujeres que recibieron el tratamiento en la fase folicular y las que lo recibieron en la fase lútea. Aunque no encontraron diferencias en la producción de ovocitos maduros, informaron de una correlación positiva no significativa entre la administración del PRP y la recuperación de ovocitos. Sí observaron una mejora en la tasa de maduración de ovocitos, la tasa de fecundación y la segmentación de embrión por ovocito MII. En cuanto a las tasas de implantación, de embarazo y de RNV, se produjo una mejora, pero no alcanzaron la significancia

estadística. Registraron 23 embarazos clínicos (6 de ellos por concepción natural y el resto por transferencia embrionaria), resultando en 7 RNV. De forma adicional, analizaron los resultados de la FIV por grupos de edad y las tasas de embarazo disminuían al aumentar la edad.

TABLA 2: ESTUDIOS SOBRE LOS EFECTOS DE PRP (Plasma Rico en Plaquetas) EN MUJERES CON BAJA RESERVA OVÁRICA

Intervención	Edad y diagnóstico	Diseño del estudio	Resultados
▪ Inyección de 4-8ml de PRP en al menos uno de los dos ovarios (Cakiroglu et al., 2022)	40,3 años \pm 4,0 POR según los criterios de POSEIDON	Estudio observacional prospectivo (n=510)	▪ Aumento del AFC ▪ Recuperación de ovocitos: $3,4 \pm 2,7$ ▪ Media de blastocistos generados: $2,3 \pm 1,6$ ▪ 22 embarazos espontáneos ▪ 83 embarazos tras tratamientos de RA
▪ Inyección de 2 mL de PRP en ambos ovarios (Navali et al., 2023)	40,43 años \pm 0,26 años POR según los criterios de Bolonia	Ensayo clínico (n=49)	▪ Recuperación de ovocitos por ciclo: 3,68 ▪ 77 ovocitos antes del PRP ▪ 112 ovocitos después del PRP ▪ Aumento en el nº embriones: $3,17 \pm 0,14$ ▪ 3/30 embarazos espontáneos
▪ Inyección de 4mL de PRP en cada ovario (Barrenetxea et al., 2024)	37,59 años \pm 0,41 POR o POI según los criterios de POSEIDON	Estudio prospectivo, aleatorizado, doble ciego y controlado (n=60)	▪ Recuperación de ovocitos: $10,45 \pm 0,41$ en grupo PRP $8,91 \pm 0,39$ en grupo control ▪ Tasa de fecundación en óvulos frescos: 76% ▪ Tasa de fecundación en óvulos vitrificados: 72% ▪ 26/60 embarazos sin diferencias significativas entre ambos grupos
▪ Inyección de 4mL de PRP en cada ovario (Herlihy et al., 2024)	▪ Control: 34,7 años \pm 2,1 ▪ PRP: 34,4 años \pm 2,8	Ensayo controlado aleatorio multicéntrico (ECA)	▪ Aumento de AFC en grupo PRP y control ▪ Aumento de AMH en grupo control

	POR según los criterios de POSEIDON	(n=76)	<ul style="list-style-type: none"> ■ Ovocitos maduros obtenidos: $3,1 \pm 3,3$ en el grupo PRP y $2,8 \pm 2,4$ en el grupo control ■ Número de blastocistos con PRP: $1,3 \pm 2,1$ ■ Blastocistos euploides en PRP: $0,9 \pm 1,6$ ■ Tasa de implantación con PRP: 25.6% ■ Tasa de embarazo en PRP: 29%
<ul style="list-style-type: none"> ■ Inyección de 2mL de PRP en cada ovario (Molinaro et al., 2025) 	<p>39,7 años \pm 2,9</p> <p>POR o POI según los criterios de Bolonia</p>	<p>Estudio de cohorte observacional, retrospectivo y multicéntrico. (n=207)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ■ Aumento del AFC y AMH tras el tratamiento ■ Recuperación de ovocitos después del PRP: $3,0 \pm 3,2$ ■ Recuperación de ovocitos MII tras PRP: $3,0 \pm 3,4$ ■ Tasa de fecundación tras PRP: $75,8 \pm 27,0$ ■ Blastocistos: $0,6 \pm 1,1$ ■ Tasa de embarazo: 41,5% ■ Tasa de RNV: 17,6%

Tabla 2: Comparación de estudios que emplean la técnica PRP (Plasma Rico en Plaquetas). Se detalla la intervención realizada, la media de edad de los pacientes y diagnóstico, el diseño de estudio y los principales resultados obtenidos. Elaboración propia.

ASCOT

Esta técnica emplea G-CSF para la movilización de BMDSC a sangre periférica, posteriormente se recolectan estas células por aféresis y se infunden en la arteria ovárica. Esto permite que las BMDSC secreten en el ovario factores de crecimiento que promueven la activación folicular (Buigues et al., 2023).

Tras la búsqueda bibliográfica, únicamente el trabajo elaborado por Herraiz et al., (2018) evaluaron directamente los resultados reproductivos tras la aplicación de ASCOT en mujeres POR. Fueron incluidas 17 pacientes con baja respuesta ovárica según los criterios de ESHRE (Bolonia). Administraron 10 μ g/kg/día de G-CSF durante 5 días, recolectaron las células madre por aféresis, y las administraron de forma aleatoria en una de las arterias ováricas manteniendo el otro ovario como control. Obtuvieron las células madre cuando

se alcanzó el umbral de ≥ 10 células CD34+/ μ L, y recogieron un volumen de aféresis de 50×10^{-1} células CD133+ para su infusión. El $97.9\% \pm 1.4\%$ de las células CD133+ coexpresaban CD34, mientras que las células más similares a células madre, aquellas que eran CD133+CD34-, solo representaron el $2.1\% \pm 1.4\%$. Asimismo, la mayoría de las células CD133+ presentaron una débil expresión del antígeno leucocitario común CD45+, lo que da lugar a un fenotipo inmaduro, sin diferenciación a la línea leucocitaria.

Según el protocolo, en la mayoría de las pacientes, administraron 300 UI de FSH recombinante y 150 UI de hMG diariamente. Introdujeron un antagonista de GnRH cuando el folículo principal alcanzó 13-14 mm o el estradiol sérico alcanzó 400 pg/mL. La maduración final de los ovocitos se desencadenó con hCG cuando los folículos principales fueron ≥ 18 mm. Los ovocitos recolectados se sometieron a un ICSI, y los embriones desarrollados fueron biopsiados para realizar un PGT-A y descartar aneuploidías.

En cuanto a los resultados, el AFC total aumentó después del ASCOT, sin embargo, no detectaron diferencias entre el ovario tratado y el ovario control. Globalmente no hubo cambios significativos en los niveles de AMH, no obstante, la reserva ovárica mejoró en 13 de las 16 pacientes (81,3%), manteniéndose en algunos casos hasta 4 meses después del tratamiento. No observaron una asociación entre la cantidad total de células CD133+ viables movilizadas y los resultados del ASCOT. Al valorar los factores de crecimiento, sí que reportaron una asociación: aquellas mujeres que mostraron mejoría en el AFC y en los niveles de AMH, también tuvieron valores más altos de FGF-2 y THSP-1. Sin embargo, no detectaron una correlación significativa con los niveles de IGF-1 y PDGF-BB. Tras la punción recuperaron ovocitos en 24 de 28 pacientes (85,7%), obteniendo ovocitos maduros en el 82,1% de los casos, y embriones en el 67,8%. Se redujo la tasa de cancelación al 14,2%. En total, recuperaron 51 ovocitos maduros y generaron 36 embriones. El 60% de estos embriones fue de calidad A/B según los criterios morfológicos, y a los 31 embriones que se desarrollaron hasta blastocisto se les realizó un PGT-A, de los cuales sólo 5 fueron euploides. Éstos dieron lugar a 2 embarazos (uno terminado en aborto), y se lograron tres embarazos adicionales por concepción natural (uno de ellos terminado en aborto), dando lugar a tres RNV. La tasa de éxito acumulada fue del 33,3%.

TABLA 3: ESTUDIO SOBRE LOS EFECTOS DE ASCOT (*Autologous Stem Cell Ovarian Transplantation*) EN MUJERES CON BAJA RESERVA OVÁRICA

RESULTADOS (n=17)	
Recuperación de ovocitos	51 ovocitos maduros (82,1%)
Embriones generados	36
Embriones euploides	5
Embarazos clínicos	2 por técnicas de RA 3 por concepción natural
Nacidos vivos	3
Tasa de éxito acumulada	33,63%

Tabla 3: Resultados del estudio de Herraiz et al. (2018).

DISCUSIÓN

A consecuencia de la edad, el ovario pierde su funcionalidad por los requisitos altamente exigentes necesarios para su rendimiento. Esto supone un problema debido a la tendencia actual a retrasar la maternidad, y si además presentan otras afecciones como POI, DOR o POR, se dificulta aún más la concepción. Es por ello que existe un creciente interés por conseguir un rejuvenecimiento ovárico que permita recuperar su funcionalidad (Buigues et al., 2021). Así, en este trabajo se pretende comparar las técnicas disponibles para la prolongación de la función ovárica en mujeres con POR, señalando sus limitaciones y ventajas.

La técnica OFFA parece aumentar el AFC, pero no los resultados reproductivos

OFFA o *drug free*-IVA surgió como una variación mejorada de la técnica IVA en 2020 por Kawamura et al., en mujeres POR, y se ha planteado en los últimos años como una estrategia innovadora para tratar de mejorar el pronóstico reproductivo de estas mujeres.

Actualmente, los estudios clínicos que investigan la técnica OFFA en mujeres POR son limitados y los resultados obtenidos son heterogéneos, basándose en tamaños muestrales muy pequeños, con pacientes con más de un diagnóstico de infertilidad o sin la elaboración de un grupo control, por tanto, la evidencia aún es experimental. El ensayo controlado aleatorizado publicado por Díaz-García et al., (2022) constituye uno de los

pocos estudios de alta calidad metodológica. A pesar de haber obtenido un aumento en el AFC en comparación con el grupo control tras realizar el OFFA, no lograron mejoras en la recuperación de ovocitos, tasas de fecundación ni de embarazos. Esto sugiere que la técnica no genera ningún impacto en la calidad de los ovocitos y, por tanto, se cuestiona su eficacia. Como no parece que OFFA disminuya la cantidad de ovocitos aneuploides asociados a la edad, quienes podrían beneficiarse serían mujeres POR jóvenes o mujeres mayores que posean ovocitos euploides (Kawamura et al., 2020).

Una limitación muy importante es que no existe un protocolo estandarizado, de forma que no se ha establecido cuál es el lugar óptimo para depositar el injerto, ni cuál es el tamaño que genera los mejores resultados. Como sugieren Kawamura et al., (2020) sólo ensayos controlados aleatorizados que comparen diferentes procedimientos podrían demostrar de forma concluyente la eficacia de la fragmentación de la corteza ovárica en pacientes con POR. Además, proponen que algunas pacientes pueden quedarse embarazadas de forma natural si se coloca el injerto de nuevo en su sitio original, por lo que no se necesitaría hacer una recuperación de óvulos ni transferencia de embriones. Asimismo, la mayoría de los trabajos carecen de un seguimiento a largo plazo, dificultando la evaluación del impacto real que supone esta técnica en la función ovárica.

Las revisiones sistemáticas y metaanálisis más recientes coinciden en señalar que, si bien OFFA puede mejorar los marcadores de la reserva ovárica, la evidencia disponible no demuestra un beneficio claro en los resultados reproductivos, como la tasa de embarazo o la de nacido vivo. En este sentido, la utilidad de la técnica continúa siendo objeto de debate.

Para futuras investigaciones, deberían realizarse ensayos clínicos aleatorizados (ECA) con un mayor tamaño muestral y un seguimiento prolongado, así como priorizar la medición de la tasa de RNV frente a resultados intermedios. También es importante definir la población que más podría beneficiarse, siendo la clasificación de POSEIDON la que divide a las mujeres por grupos de edad y en bajas respondedoras previsibles y no previsibles (Esteves et al., 2018). Por otro lado, sería interesante la combinación de estrategias para comprobar si los efectos de OFFA se potenciarían, por ejemplo, con PRP o ASCOT.

El PRP aumenta el número de ovocitos recuperados

El PRP ya se utiliza como agente rejuvenecedor de forma habitual en muchos campos de la medicina como en ortopedia, cirugía plástica, dermatología y odontología (Cakiroglu et al., 2022). Una vez confirmada su eficacia en estas áreas, se pretende comprobar su funcionalidad para el rejuvenecimiento ovárico.

Varios autores, como Cakiroglu et al., (2022) y Molinaro et al., (2025) afirman que el PRP mejora la respuesta a la estimulación en mujeres POR, aumentando los niveles de AMH, AFC y el número de ovocitos recuperados. Navalí et al., (2023) no encontraron diferencias en los niveles de AMH, pero sí en los niveles de estradiol y en el número de ovocitos recuperados. Aunque todos estos estudios lograron embarazos espontáneos tras la intervención, las tasas de embarazo y RNV no aumentaron de forma relevante, lo que pudiera ser consecuencia de la disminución de la calidad de los óvulos por la edad de la paciente.

La mayoría de las publicaciones presentan limitaciones metodológicas debido a un tamaño muestral reducido, ausencia de grupo control, heterogeneidad en los criterios de inclusión y variabilidad en los protocolos de preparación e inyección del PRP. Esto dificulta la extrapolación de los hallazgos y genera una falta de evidencia sólida. Además, en aquellos artículos que se reportan embarazos clínicos y RNV, la tasa de éxito no es muy elevada, como en el trabajo de Barrenetxea et al., (2024), que es uno de los pocos ensayos clínicos aleatorizados publicados, y aunque registraron una mayor recuperación de ovocitos, no observaron diferencias en las tasas de fecundación ni de embarazo. De hecho, la tasa de embrión euploide fue ligeramente mayor en el grupo control y, por tanto, no parece que el PRP mejore el aumento de embriones aneuploides relacionados con la edad. Por otro lado, el aumento de la recuperación de ovocitos se produce tanto en el grupo control como en el grupo tratamiento (siendo más pronunciado en este último grupo), lo que podría indicar que existe un efecto mecánico además de los factores de crecimiento liberados por las plaquetas, que influye en la reactivación folicular y que puede estar relacionado con la interrupción de las vías de señalización de HIPPO. Asimismo, la acción mecánica sobre los ovarios (fragmentación, incisión, perforación, resección en cuña o punción, como en esta técnica) pueden inducir cambios bioquímicos que promueven el crecimiento folicular en pacientes de baja respuesta, obteniendo así ovocitos maduros. Otra posible explicación es el impacto de las estimulaciones con

gonadotropina durante el primer y segundo ciclo, lo que podría conducir a un aumento de folículos sensibles a la gonadotropina. Por último, las tasas de embarazo fueron más bajas en el grupo de tratamiento, así que el PRP parece que produce una activación folicular, pero no un rejuvenecimiento ovárico.

Una revisión sistemática reciente (Sadeghpour et al., 2025) coincide en que existe un efecto beneficioso de la inyección intraovárica de PRP en el AFC, niveles de AMH, número de ovocitos recuperados y de ovocitos MII en mujeres con POR, y sugieren que esta técnica recupera el tejido ovárico a nivel funcional y hormonal, promoviendo un mayor desarrollo folicular y un posible aumento de ovocitos, pero que simplemente aumentar la cantidad de ovocitos no conduce directamente a una mejor calidad éstos, un desarrollo embrionario superior o tasas de embarazo altas. Además, mencionan que aquellos estudios donde se inyectó el PRP durante la fase folicular hubo una elevación en los niveles de AMH y una reducción en los niveles de LH, por lo que ese podría ser el mejor momento para realizarlo.

Las futuras líneas de investigación deberían estar enfocadas en estandarizar protocolos determinando el método óptimo de la preparación del PRP (como la velocidad y duración de la centrifugación) y el mejor momento para la inyección. Nuevamente, será necesario utilizar una única definición de POR y realizar ECAs. Sería interesante profundizar en los factores de crecimiento liberados por las plaquetas, y averiguar cuáles son más favorables para el desarrollo ovocitario. Por ejemplo, Navalí et al., (2023) definen el factor de diferenciación de crecimiento 9 (GDF-9) como una proteína derivada de ovocitos presente en el PRP, que resulta fundamental en la maduración de los ovocitos y se asocia con un aumento en el número de folículos primarios y preantrales.

ASCOT mejora la función ovárica

El trasplante autólogo de células madre ováricas es una de las técnicas más novedosas en el tratamiento de mujeres bajas respondedoras. Esta estrategia se basa en la capacidad de las células madre mesenquimales de secretar factores paracrinos que favorecen la angiogénesis, reducen la muerte celular y promueven la regeneración tisular. De este modo podrían facilitar el desarrollo y reclutamiento de folículos latentes (Herraiz et al., 2018).

Debido a la novedad de esta técnica, los estudios en mujeres bajas respondedoras son aún muy limitados. Los resultados de Herraiz et al., (2018) son esperanzadores al reportar un aumento del AFC así como del número de ovocitos recuperados. Apuntaron que el aumento de AFC se produjo en mayor medida en el ovario tratado, pero también hubo un cierto incremento en el ovario control, lo que sugiere que las células madre podrían ejercer un efecto sistémico al liberar los factores de crecimiento a la circulación sanguínea. La función ovárica mejoró en el 81% de las pacientes, reduciéndose la tasa de cancelación, y se logró la recolección de ovocitos en el 85,7% de los ciclos. La expresión de FGF-2 se correlacionó con la mejora de los biomarcadores de reserva, acorde a su función promoviendo el desarrollo folicular y la neoangiogénesis. De forma similar, THSP-1 también mostró esta asociación, siendo este un mediador importante de la angiogénesis y foliculogénesis ovárica. Por lo tanto, la presencia de FGF-2 y THSP-1 circulantes después de la movilización de BMDSC podría explicar la mejora del AFC en ambos ovarios en algunos pacientes. La presencia de células madre en los ovarios permite una secreción continua de estas moléculas, generando efectos más sostenidos en el tiempo y específicos en el ovario tratado. Ni la composición celular de la aféresis, ni la tasa de movilización de CD133 se correlacionaban con el éxito de ASCOT en pacientes POR. Cabe destacar que en este estudio estandarizaron la cantidad de células inyectadas en todas las pacientes, independientemente del número de células movilizadas, lo que abre la posibilidad a futuras investigaciones para determinar si con la simple movilización de células es suficiente, sin tener que aumentar la cantidad para alcanzar los ovarios, o si es necesaria su administración directa. Con respecto a los resultados reproductivos, se generaron embriones en el 67,8% de los ciclos, siendo un total de 36 embriones, pero no aumentó el número de embriones euploides. Por último, la mitad de los embarazos fueron concepciones naturales, lo que justifica realizar más investigaciones para tener una evidencia sólida sobre su utilidad.

Algo destacable de ASCOT es su posible efecto a nivel sistémico a largo plazo, ya que no solo mejora la reserva ovárica en mujeres POR, sino que también induce cambios en el proteoma sanguíneo (Buigues et al., 2023).

A pesar de los resultados positivos iniciales, la evidencia disponible es muy limitada, por lo que es necesario realizar ECAs con mujeres POR claramente definidas según unos criterios estandarizados que permitan ver su verdadero impacto en los resultados reproductivos. Asimismo, será necesario definir un protocolo que establezca cuáles son

las poblaciones celulares y secreciones de plaquetas más eficaces que garanticen seguridad y reproducibilidad.

Comparación entre OFFA, PRP y ASCOT

Los estudios disponibles muestran que tanto PRP como ASCOT producen un aumento en los parámetros de reserva ovárica, especialmente AFC y AMH, lo que se traduce en una mayor obtención de ovocitos en algunos casos. PRP destaca por su simplicidad técnica, bajo coste y seguridad, pudiendo producir una mejora en la función ovárica según los resultados reportados. No obstante, no hay muchos estudios que muestren un gran impacto en la tasa de embarazo o RNV. Por otro lado, ASCOT, aunque es semiinvasiva y algo más compleja, parece una técnica con gran potencial biológico por sus efectos sistémicos que podrían ser más duraderos en el tiempo. Son necesarios ECAs para determinar el impacto real en los resultados reproductivos. En comparación, OFFA, al tratarse de una técnica quirúrgica que requiere laparoscopia y sin unos resultados sólidos sobre su eficacia, su uso en clínica resulta menos atractiva frente a PRP o ASCOT.

CONCLUSIONES

En este trabajo se ha realizado una búsqueda bibliográfica sobre las principales estrategias para el rejuvenecimiento ovárico en mujeres POR cuyas opciones terapéuticas son muy limitadas. Las conclusiones obtenidas han sido:

- La baja respuesta ovárica continúa siendo un desafío para la reproducción asistida y es necesario establecer una definición estricta que permita clasificar a estas mujeres correctamente para no enmascarar resultados por la presencia de otras patologías o factores de confusión.
- OFFA es una técnica invasiva que mejora los marcadores de reserva ovárica en mujeres POR, pero no produce un gran impacto en las tasas de embarazo ni RNV.
- El PRP destaca por su sencillez, bajo coste y procedimiento seguro. Parece aumentar tanto el AFC, como los niveles de AMH, el número de ovocitos y el número de ovocitos MII, pero no mejora la calidad ovocitaria ni embrionaria, lo que puede explicar que no haya grandes mejoras en las tasas de embarazo ni RNV.

- ASCOT podría ser la estrategia con mayor potencial biológico debido a que parece mejorar los marcadores de reserva ovárica y la recuperación de óvulos a través de las secreciones de las células madre, modificando el proteoma sanguíneo y haciendo su efecto más duradero.
- Las tres técnicas comparten limitaciones importantes: la falta de evidencia científica con un tamaño muestral adecuado, con un grupo control y homogeneidad en la metodología.
- Las estrategias de rejuvenecimiento ovárico son aún emergentes y son necesarios estudios de alta calidad (ECA) para obtener una evidencia sólida en las técnicas OFFA, PRP y ASCOT.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a mi tutora, Beatriz Amorochó Llanos, por toda su dedicación y apoyo, habiéndome guiado durante la elaboración de este trabajo. También agradecer a mi familia y amigos por su paciencia. Su confianza en mí y su ánimo constante han sido fundamentales para conseguir este objetivo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acosta-Bueno, C., Cejudo-Román, A., Salazar-Vera, A., & Quiroga-Gil, R. (2020). Estrategias de mejora de la fertilidad: Preservación, rejuvenecimiento y células madre. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica*, 7(1), 33-49. <https://doi.org/10.1016/j.medre.2020.02.004>
2. Barrenetxea, G., Celis, R., Barrenetxea, J., Martínez, E., De Las Heras, M., Gómez, O., & Aguirre, O. (2024). Intraovarian platelet-rich plasma injection and IVF outcomes in patients with poor ovarian response: A double-blind randomized controlled trial. *Human Reproduction*, 39(4), 760-769. <https://doi.org/10.1093/humrep/deae038>
3. Buigues, A., Marchante, M., De Miguel-Gómez, L., Martinez, J., Cervelló, I., Pellicer, A., & Herraiz, S. (2021). Stem cell–secreted factor therapy regenerates

the ovarian niche and rescues follicles. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 225(1), 65.e1-65.e14. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.01.023>

4. Buigues, A., Ramírez-Martin, N., Martínez, J., Pellicer, N., Meseguer, M., Pellicer, A., & Herraiz, S. (2023). Systemic changes induced by autologous stem cell ovarian transplant in plasma proteome of women with impaired ovarian reserves. *Aging*, 15(24), 14553-14573. <https://doi.org/10.18632/aging.205400>
5. Cakiroglu, Y., Yuceturk, A., Karaosmanoglu, O., Kopuk, S. Y., Korun, Z. E. U., Herlihy, N., Scott, R. T., Tiras, B., & Seli, E. (2022). Ovarian reserve parameters and IVF outcomes in 510 women with poor ovarian response (POR) treated with intraovarian injection of autologous platelet rich plasma (PRP). *Aging*, 14(6), 2513-2523. <https://doi.org/10.18632/aging.203972>
6. Díaz-García, C., Herraiz, S., Pamplona, L., Subirá, J., Soriano, M. J., Simon, C., Seli, E., & Pellicer, A. (2022). Follicular activation in women previously diagnosed with poor ovarian response: A randomized, controlled trial. *Fertility and Sterility*, 117(4), 747-755. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.12.034>
7. Éliás, M., Kónya, M., Kekk, Z., Turan, C., Das Virgens, I. P. A., Tóth, R., Keszthelyi, M., Hegyi, P., Várbiró, S., & Sipos, M. (2024). Platelet-rich plasma (PRP) treatment of the ovaries significantly improves fertility parameters and reproductive outcomes in diminished ovarian reserve patients: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Ovarian Research*, 17(1), 104. <https://doi.org/10.1186/s13048-024-01423-2>
8. Esteves, S. C., Roque, M., Bedoschi, G. M., Conforti, A., Humaidan, P., & Alaviggi, C. (2018). Defining Low Prognosis Patients Undergoing Assisted Reproductive Technology: POSEIDON Criteria—The Why. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 461. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00461>
9. Ferreri, J., Méndez, M., Calafell, J. M., & Fábregues, F. (2021). Long-term outcome of ovarian function after drug-free in vitro activation (IVA) in primary ovarian insufficiency patient. *JBRA Assisted Reproduction*, 25(2). <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20200093>
10. Herraiz, S., Romeu, M., Buigues, A., Martínez, S., Díaz-García, C., Gómez-Seguí, I., Martínez, J., Pellicer, N., & Pellicer, A. (2018). Autologous stem cell ovarian

transplantation to increase reproductive potential in patients who are poor responders. *Fertility and Sterility*, 110(3), 496-505.e1.

<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.04.025>

11. Kawamura, K., Ishizuka, B., & Hsueh, A. J. W. (2020). Drug-free in-vitro activation of follicles for infertility treatment in poor ovarian response patients with decreased ovarian reserve. *Reproductive BioMedicine Online*, 40(2), 245-253. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.09.007>
12. Madsen, R. R., & Toker, A. (2023). PI3K signaling through a biochemical systems lens. *Journal of Biological Chemistry*, 299(10), 105224. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105224>
13. Molinaro, P., Ballester, A., Garcia-Velasco, J. A., Muñoz, M., & Herraiz, S. (2025). Impact of bilateral intraovarian platelet-rich plasma in women with poor ovarian response or primary ovarian insufficiency: A retrospective study. *Fertility and Sterility*, S0015028225004315. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2025.05.143>
14. Navalı, N., Sadeghi, L., Farzadi, L., Ghasemzadeh, A., Hamdi, K., Hakimi, P., & Niknafs, B. (2023). Intraovarian Injection of Autologous Platelet-Rich Plasma Improves Therapeutic Approaches in The Patients with Poor Ovarian Response: A before-after Study. *International Journal of Fertility and Sterility*, 17(2). <https://doi.org/10.22074/ijfs.2023.701928>
15. Herlihy, N. S., Cakiroglu, Y., Whitehead, C., Reig, A., Tiras, B., Scott, R. T., & Seli, E. (2024). Effect of intraovarian platelet-rich plasma injection on IVF outcomes in women with poor ovarian response: The PROVA randomized controlled trial. *Human Reproduction*, 39(7), 1495-1503. <https://doi.org/10.1093/humrep/deae093>
16. Pellicer, N., Cozzolino, M., Diaz-García, C., Galliano, D., Cobo, A., Pellicer, A., & Herraiz, S. (2023). Ovarian rescue in women with premature ovarian insufficiency: Facts and fiction. *Reproductive BioMedicine Online*, 46(3), 543-565. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2022.12.011>
17. Sadeghpour, S., Maleki, F., Hajizadeh-Sharafabad, F., & Ghasemnejad-Berenji, H. (2025). Evaluation of intraovarian injection of platelet-rich plasma for enhanced ovarian function and reproductive success in women with POI and

POR: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Medical Research*, 30(1), 610. <https://doi.org/10.1186/s40001-025-02854-3>

18. Tian, Z., Yu, T., Liu, J., Wang, T., & Higuchi, A. (2023). Introduction to stem cells. En *Progress in Molecular Biology and Translational Science* (Vol. 199, pp. 3-32). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2023.02.012>