

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

en

Biología y Tecnología Aplicada a la Reproducción Humana Asistida

POSIBLE USO TERAPÉUTICO DEL PRP (plasma rico en plaquetas) EN EL FACTOR MASCULINO

Autora: Paula Alonso Frías

Tutora: Marga Esbert Algam

Alcobendas, Septiembre 2023

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN	2
Definición e Historia del PRP.....	2
Procesado del PRP y dispositivos disponibles.....	3
Actual uso clínico del PRP	4
PRP y factor masculino.....	5
2. OBJETIVOS	6
3. METODOLOGÍA	7
4. RESULTADOS.....	7
□ Criopreservación Espermática.....	9
□ Estrés Oxidativo	12
□ Disfunción Eréctil	13
□ Células Madre Espermatogoniales	13
□ FCs y su efecto en los espermatozoides	15
5. DISCUSIÓN.....	17
6. CONCLUSIONES	22
7. BIBLIOGRAFÍA.....	23

RESUMEN

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) es una terapia regenerativa que ha ganado interés en los últimos años en el campo de la reproducción asistida, más recientemente en su posible aplicación en ciertos casos de factor masculino. Es una técnica sencilla que se basa en la extracción de una muestra de sangre del paciente y su posterior centrifugación para concentrar las plaquetas y así emplearlas según el tratamiento deseado. Las principales áreas de aplicación de este preparado biológico en la infertilidad masculina son: la criopreservación espermática, el estrés oxidativo, la disfunción eréctil, el cultivo de células madre espermátogonales y la azoospermia no obstructiva. Por ello, este trabajo se ha centrado en estudiar la literatura disponible acerca del uso del PRP en estos casos, con el fin de comprender si este producto pudiera tener un beneficio clínico real al emplearse para el tratamiento del factor masculino. Tras este estudio, se ha comprobado que el PRP muestra un potencial terapéutico en diversas áreas de la salud masculina, sin embargo, son necesarias más investigaciones con un mayor número muestral para definir sus protocolos, su eficacia y su completo alcance en la medicina reproductiva.

Palabras clave: plasma rico en plaquetas (PRP), infertilidad masculina, crioconservación espermática, disfunción eréctil, estrés oxidativo, cultivo de células espermátogonales.

1. INTRODUCCIÓN

Definición e Historia del PRP

El uso del plasma rico en plaquetas (PRP) se remonta al año 1970 dentro del campo de la hematología, cuando empezó a ser utilizado mediante transfusión en pacientes con trombocitopenia. En aquel momento, se definió el PRP como aquel plasma que contuviera una concentración de plaquetas mayor que la encontrada en sangre periférica [1].

Actualmente, al PRP también se le conoce como: concentrado de plaquetas, plasma rico en fibrina (PRF) o como factores de crecimiento plaquetarios (FCs) y es definido como la fracción de plasma con una concentración en plaquetas mayor que la de la sangre en una persona sana antes de su centrifugación. En general, esta concentración suele ser cinco veces mayor que la inicial, conteniendo como mínimo una concentración de $1 \times 10^6/\mu\text{L}$ [2].

Este PRF, debido su capacidad de adhesión de la fibrina, fue el que comenzó a utilizarse en cirugías maxilofaciales. A partir de ahí el uso del PRP se extendió sobre todo al tratamiento de lesiones musculoesqueléticas entre 1980 y 1990 [2,3]. En la actualidad su uso ha aumentado en la dermatología, la regeneración tisular y la alopecia y es de gran interés en otros campos médicos como: cirugías plásticas, cardíacas, pediátricas, oftalmología, ginecología y urología [1].

A lo largo de los años se han propuesto múltiples clasificaciones del PRP en base a diferentes parámetros como: la pureza del PRP obtenido, cantidad de plaquetas, contenido de leucocitos, activación exógena, porcentaje de neutrófilos, presencia de eritrocitos. La recomendación más reciente del Comité Científico de Estandarización es adoptar el sistema de la Sociedad Internacional en Trombosis y Hemostasis, el cual se basa en una serie de recomendaciones para estandarizar el uso de productos que contengan plaquetas dentro de la medicina regenerativa, es decir, es un intento de consensuar qué formulaciones de PRP utilizar para cada condición médica [3].

Procesado del PRP y dispositivos disponibles

En términos generales la preparación del PRP comienza con una extracción de sangre utilizando un anticoagulante presente en el sistema de extracción o en la jeringa, normalmente una solución de citrato de sodio o citrato ácido dextrosa para evitar la activación plaquetaria antes de su uso. A partir de aquí hay dos formas posibles de obtener el PRP según se realicen una o dos centrifugaciones consecutivas [6]. (Fig. 1)

La primera centrifugación separa la sangre en tres capas, la inferior contiene células rojas sanguíneas (RBCs) con leucocitos justo encima, la capa intermedia se corresponde con el PRP y la capa superior se compone por plasma pobre en plaquetas (PPP). La capa inferior es desechada y se conservan las dos capas superiores que contendrán plasma con leucocitos. Para la preparación de PRP rico en leucocitos (L-PRP) se transferirían estas dos capas superiores y algunas de las RBCs remanentes. Si se realiza una segunda centrifugación se formará un pellet de plaquetas con algunas células rojas y el sobrenadante contendrá PPP que será retirado para resuspender los pellets con plasma y así obtener el PRP [1,2,6].

Por último, se puede añadir un agonista que active las plaquetas como la trombina, el colágeno o el cloruro de calcio [7,6]. Estas sustancias son capaces de inducir a los 10 minutos de su aplicación la agregación y la desgranulación de las plaquetas permitiendo liberar el 95% los FCs que contienen en una hora [1,6].

Una vez preparado puede aplicarse mediante infiltración local, intraarticular o en forma de gel de fibrina rica en plaquetas [8].

A pesar de los diferentes protocolos de obtención de PRP existentes, los requisitos básicos PRP que recomienda la literatura son: plaquetas en una concentración de 4 a 6 veces superior a la de la sangre, leucocitos ausentes o por debajo de 1000/mL y eritrocitos en cantidades iguales o menores de 100/mL. [2]. No se debe superar una concentración plaquetaria 6 veces superior a la de la línea base, puesto que podría tener un efecto inhibitorio en el tratamiento [6].

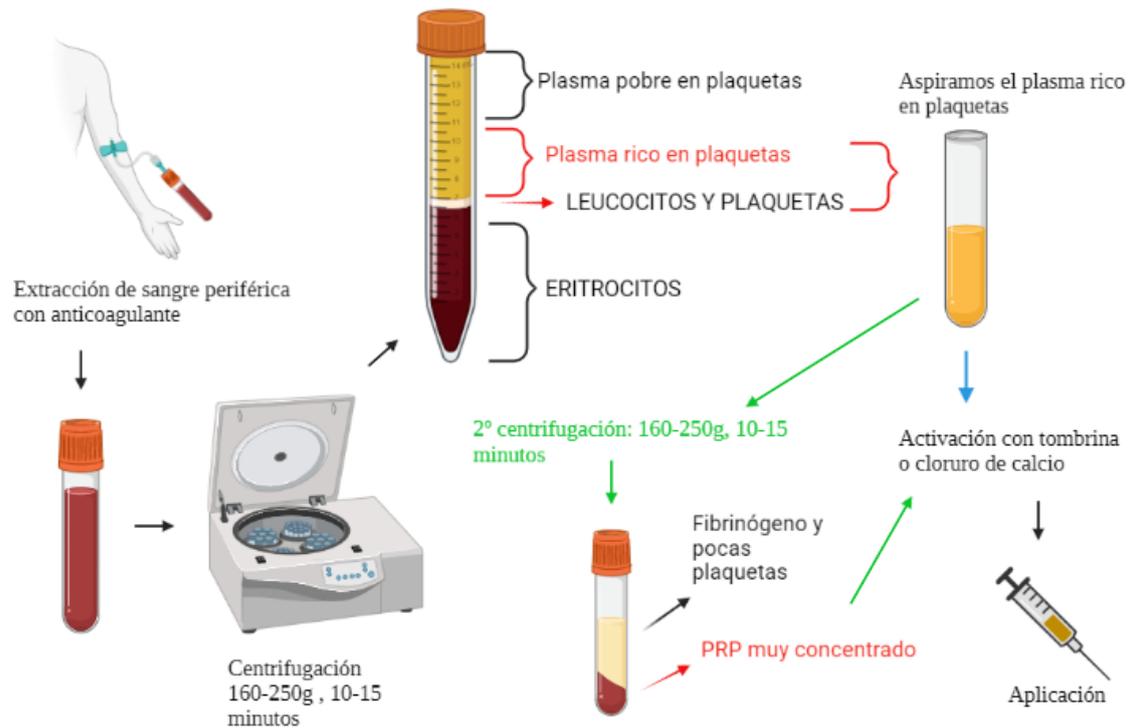


Figura 1. Esquema de obtención de PRP realizando una o dos centrifugaciones. La imagen representa los dos métodos de obtención de PRP desde la extracción hasta su aplicación. Elaboración propia creada con BioRender.com.

Actual uso clínico del PRP

El uso del PRP comenzó en pacientes con trombocitopenia, sin embargo, en la actualidad es principalmente utilizado en lesiones musculoesqueléticas de deportistas profesionales [1]. Las indicaciones con mayor historia y evidencia científica en este área son la epicondilitis y la osteoartritis de rodilla y las más recientes la tendinopatía del manguito de los rotadores, la del tendón rotuliano y la osteoartritis de cadera [2].

Otro campo con suficiente evidencia del uso del PRP como tratamiento es el de la dermatología. En este el PRP se emplea para la mejora de cicatrices debido a su capacidad de aumentar la síntesis de colágeno tipo I, activar fibroblastos y la formación nuevos vasos sanguíneos y de tejido adiposo. Otro uso del PRP es la cura de heridas recalcitrantes, las cuales poseen una microambiente proinflamatorio con alta actividad proteasa que disminuye la cantidad de FCs, por lo que el PRP contribuye a su tratamiento como fuente

de estos factores. Desde 2006 comenzó a estudiarse como un potencial tratamiento para la alopecia, a pesar de la falta de ensayos controlados aleatorios, numerosos estudios han comprobado que promueve el crecimiento capilar y que tiene un efecto positivo, sin embargo, se sigue considerando experimental [1].

Varios metaanálisis, revisiones sistemáticas y ensayos controlados aleatorios han mostrado la efectividad del PRP como tratamiento en otras áreas como: cirugía cardíaca, plástica, ortopédica, alteraciones espinales y para el manejo del dolor [3].

Todos estos campos mencionados cuentan con evidencia científica que justifica el uso clínico del PRP autólogo, sin embargo, en el ámbito de la medicina reproductiva la evidencia debe considerarse aún experimental. La mayoría de los estudios sobre la biotecnología del PRP se centran en el tratamiento de la infertilidad femenina originada por una baja reserva ovárica, un endometrio delgado o en mujeres con repetidos fallos de implantación. La literatura muestra que en mujeres con una baja reserva ovárica el PRP aumenta los niveles de hormona antimülleriana (AMH), disminuye la FSH y muestra una tendencia hacia el aumento de las tasas de nacido vivo [5]. Estos resultados también se encuentran en mujeres con fallo de implantación recurrente. En el caso de mujeres con un endometrio delgado, encontramos un aumento del grosor y de las tasas de embarazo clínico tras el tratamiento con PRP. Además, los estudios demuestran que el PRP podría mejorar los resultados reproductivos ya que regenera el endometrio, incrementa su receptividad, aumenta la foliculogénesis y mejora las adhesiones intrauterinas. Sin embargo, son necesarios ensayos controlados aleatorios con mayor tamaño muestral para que el PRP deje de ser considerado experimental en el tratamiento de la infertilidad femenina [7,9].

PRP y factor masculino

Los resultados positivos del PRP en diversos campos han contribuido a que crezca el interés de su posible uso terapéutico para el factor masculino, dado que es un producto bastante seguro al ser un preparado autólogo y bastante sencillo de obtener puesto que se basa en el método de centrifugación.

La literatura del PRP para su aplicación en el factor masculino es escasa y variada, se ha estudiado su uso como complemento del medio de criopreservación tanto en muestras animales como en humanas con resultados prometedores. El uso de PRP parece reducir los daños que se producen en los espermatozoides en los procesos de congelación y descongelación tales como la disminución de la movilidad y vitalidad, del potencial de la membrana mitocondrial y de la estabilidad genómica [9,10].

El efecto antioxidante del PRP también ha sido estudiado en espermatozoides humanos sometidos a estrés oxidativo, altos niveles de ROS se han asociado a infertilidad masculina y a peores resultados reproductivos, sin embargo, el uso del PRP parece revertir los efectos negativos de la oxidación [4].

Otro posible uso del PRP que encontramos en la literatura es en casos de disfunción eréctil. Por el momento se han llevado a cabo estudios en animales a los cuales se les indujo daño en el nervio cavernoso, desapareciendo su función eréctil y con el PRP se ha visto que se incrementaba significativamente la recuperación de esta función [11,12].

Un último uso del PRP en casos de infertilidad masculina, sería el de utilizarlo como suplemento del medio de cultivo de células madre espermatogoniales (SSCs), esto beneficiaría a pacientes de cáncer prepuberales los cuales deben crioconservar estas células antes de someterse a tratamientos citotóxicos, además también sería positivo en hombres con azoospermia no obstructiva, puesto que los estudios muestran en ambos casos un incremento del número de estas células al cultivarse in vitro con PRP [13,14].

Por tanto, el PRP parece tener diferentes opciones como posible uso terapéutico en el factor masculino, sin embargo, hay pocos estudios en cada caso y con números de muestras muy limitados. Dado que se trata de un preparado sencillo de obtener, de bajo coste y seguro, es interesante analizar las posibilidades que tiene como tratamiento de la fertilidad masculina, así como promover su estudio mediante ensayos controlados aleatorizados y la estandarización de los protocolos de preparación.

2. OBJETIVOS

El presente trabajo trata de analizar la literatura disponible sobre el posible uso terapéutico del PRP (platelet-rich plasma) en el factor masculino, para ello los objetivos fueron:

- Comprender y detallar el origen y la obtención del PRP, así como su actual uso clínico en diferentes campos médicos.
- Recopilar la información acerca del uso del PRP en el factor masculino.
- Analizar y comparar los resultados de diferentes estudios publicados sobre los efectos del PRP en diferentes casos de infertilidad masculina.

3. METODOLOGÍA

En la realización de este trabajo de revisión bibliográfica sobre el posible uso del PRP para el tratamiento del factor masculino se llevó a cabo una búsqueda de artículos y revisiones en las bases de datos de Pubmed y MEDLINE, publicados entre los años 2018 y 2023, en algunos casos se ha incluido literatura anterior bien por la importancia de esta o por la falta de información más reciente. Se utilizaron palabras clave como “PRP y fertilidad”, “PRP y espermatozoides” y “PRP e infertilidad masculina”. Los artículos y revisiones citadas en este trabajo se seleccionaron en función de su relevancia en el tema a tratar.

4. RESULTADOS

Para comprender el posible uso del PRP para el tratamiento de la infertilidad masculina debe conocerse su mecanismo de acción, que es llevado a cabo por su principal componente, las plaquetas. Las plaquetas son células sanguíneas nucleadas cuya principal función es mantener la homeostasis mediante tres procesos: adhesión, activación y agregación. Esto lo consiguen gracias a la secreción de los gránulos α que contienen en su interior y que liberan FCs y citoquinas. Entre los factores que son más relevantes para la función plaquetaria encontramos: el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factores de crecimiento insulínicos 1 y 2 (IGF-1, IGF-2), el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), el zinc (Zn) y la enzima superóxido dismutasa (SOD) [1,4]. La función del PRP reside en estos factores que al administrarse de manera local en el tejido dañado permiten su reparación, es por esto por lo que es empleado en

ligamentos o tendones, ya que presentan poco aporte sanguíneo y recambio celular, por ello el PRP mediante el aporte de estos factores acelera su mejora [2].

Sin embargo, el contenido de plaquetas y FCs en el PRP varía atendiendo al método de obtención el cual puede ser de una o dos centrifugaciones y en el que se puede realizar o no la activación plaquetaria antes de su administración. Las revisiones que comparan distintos métodos de centrifugación apuntan a que los protocolos con dos centrifugaciones, con mayores tiempos de centrifugación y en los que se extrae la capa leucocitaria presentan plaquetas y FCs en mejores condiciones y más funcionales. Aun así, ha de tenerse en cuenta que ningún dispositivo en el mercado es capaz de obtener un 90% de plaquetas en el PRP en comparación con el porcentaje de células rojas y leucocitos. Las RBCs son inevitablemente transferidas y en el segundo pellet de estas células encontramos hasta un 20% de plaquetas que no son recuperadas. Además, estas células rojas sanguíneas podrían tener un efecto clínico negativo al poder ser una fuente de especies reactivas de oxígeno [6,8].

En cuanto a la activación plaquetaria no hay un consenso acerca de si debe producirse antes de la aplicación del PRP ni sobre qué agonista utilizar [7,6]. Lo único que está demostrado es que la activación no es necesaria cuando se utiliza en el tratamiento de tejidos blandos, puesto que se produce de forma natural en contacto con el colágeno tendinoso o con el fibrilar [2].

En el mercado hay disponibles una gran variedad de kits comerciales para la preparación de PRP, sin embargo, cada uno tiene su propio tiempo de recolección, fuerza de centrifugación y volumen de muestra, lo que da lugar a diferentes formulaciones de PRP en función de qué kit haya sido empleado. Esto da lugar a diferentes variantes del PRP que tendrán diversas aplicaciones, ya que no solo discernirán en la concentración de plaquetas, sino también de leucocitos y en los tipos de factores de crecimiento que encontraremos [1,7].

Todo esto hace difícil el determinar qué kit es mejor o peor, podríamos dividirlos en dos grupos en función de la concentración de plaquetas que obtengan: los que consiguen una concentración de 2,5 a 3 veces superior a la de partida y los que consiguen una de 5 a 9 veces superior. Se ha establecido que los kits de centrifugación que obtienen una mayor concentración de plaquetas son aquellos que realizan dos centrifugaciones consecutivas a velocidades de entre 160 y 250 xg durante de 10 a 15 minutos y entre los más utilizados

encontramos el Magellan Autologous Platelet Separator System (Arteriocyte®) y los kits de centrifugación GPS (Biomet®), ambos del segundo grupo [2].

Por lo tanto, una de las desventajas del uso del PRP es la falta de estandarización de los protocolos y de consenso en los sistemas de clasificación [3]. A pesar de no haber una clasificación de referencia, la más popular es la de Dohan Ehrenfest et al (2009), que divide el PRP en cuatro clases en función de su contenido de plaquetas, leucocitos y fibrina en: 1) plasma puro rico en plaquetas (P-PRP), 2) plasma rico en leucocitos y plaquetas (LR-PRP), 3) fibrina pura rica en plaquetas (P-PRF) y 4) fibrina rica en leucocitos y plaquetas (L-PRF) [3,5]. En concreto, en el área de la ortobiología se han realizado avances en este aspecto y se ha identificado la formulación LR-PRP como la de mayor eficacia para los tratamientos de las articulaciones [3].

El PRP en el tratamiento de la infertilidad masculina es un campo aún experimental, hay diversos estudios que han valorado las propiedades espermáticas tras el uso del PRP como suplemento en la crioconservación, su efecto sobre los espermatozoides sometidos a estrés oxidativo, su eficacia en casos de disfunción eréctil y sus efectos sobre células madre espermátogonales.

- **Criopreservación Espermática**

La crioconservación espermática es una técnica de rutina en los laboratorios de reproducción asistida, gracias a esta se conserva el material seminal para utilizarlo en los tratamientos de inseminación artificial o fecundación in vitro y también permite preservar la fertilidad en pacientes de cáncer que necesitan radioterapia o quimioterapia, estrategias terapéuticas inmunosupresoras, enfermedad autoinmune o antes de una vasectomía [9,10].

Durante los procesos de congelación y descongelación se producen importantes cambios en el ambiente intra- y extracelular debido a la adición de crioprotectores y a la formación de cristales de hielo por el shock térmico [15]. Esto supone un estrés osmótico para los espermatozoides el cual daña la estructura y la fluidez de la membrana e inhibe la glicólisis, lo que conlleva una reducción del ATP celular y por tanto una disminución de la movilidad y vitalidad de los espermatozoides. Además, se reducen el potencial de la membrana mitocondrial y la estabilidad genómica debido a que el estrés oxidativo contribuye a la peroxidación lipídica, la descondensación de la cromatina, modificaciones en las histonas y a la fragmentación del DNA [9,16].

Todos estos efectos negativos en la movilidad, vitalidad, capacidad fecundante e integridad genómica y de la membrana espermática, hacen que el intentar reducir los daños producidos en la congelación y descongelación espermática sea de gran interés, lo que ha propiciado la elaboración de varios estudios en los que se utilizan distintos suplementos junto al crioprotector para valorar los efectos que tienen en los parámetros seminales. Entre los diferentes agentes utilizados se encuentra el PRP, el cual ha sido probado tanto en animales como en humanos con buenos resultados.

En animales Hossam et al (2022) realizaron un estudio en el cual se añadieron concentraciones de PRP autólogo del 0%, 2%, 5% y 10% en 8 muestras de semen de búfalos diferentes antes de su congelación y compararon las diferencias en diversos parámetros seminales tras su descongelación. Los resultados mostraron que las muestras crioconservadas con un 5% de PRP presentaron mejor calidad espermática tras su descongelación que el resto de las concentraciones, con una mayor movilidad progresiva, vitalidad e integridad de membrana y un descenso en los defectos acrosómicos y en el total de anomalías. Además, las muestras con un 5% de PRP tenían una actividad mayor de la enzima superóxido dismutasa (SOD), mayor capacidad antioxidante y menores niveles de peroxidación lipídica. Por último, los ovocitos inseminados con muestras con un 5% de PRP presentaron tasas más altas de fecundación, división embrionaria, llegada a blastocistos y valores menores de polispermia que los controles. En resumen, la crioconservación de semen de búfalo con un 5% de PRP mejoró tanto la calidad espermática como el potencial fecundante de las muestras [15].

En el caso del estudio elaborado también en búfalos por Almadaly et al (2022) se utilizaron concentraciones del PRP del 0%, 5%, 10%, 15%, 20% y del 25% para congelar diferentes muestras semen y evaluar su calidad tras la descongelación. Esta vez clasificaron a los animales en fértiles y subfértiles al comenzar el estudio. El resultado que obtuvieron fue que en el 15% de PRP era la concentración con la que mejoraban más la calidad, velocidad, capacidad antioxidante y capacidad fertilizadora del semen del búfalo. En este trabajo al obtener las muestras de PRP midieron los niveles de IGF-1 en los búfalos subfértiles y fértiles, este es un componente principal del PRP que se ha visto que por sí solo mejora la integridad de la membrana espermática y acrosómica, la estabilidad del DNA y la movilidad de los espermatozoides [17]. Encontraron valores más bajos de IGF-1 en el grupo subfértil que en el fértil, sugiriendo que la concentración de este factor en el PRP podría estar relacionada con la fertilidad masculina en este animal.

Este estudio, como los dos anteriores, sigue mostrando que el PRP tiene un efecto positivo en la calidad espermática y en la capacidad fértil a la hora de la criopreservación de las muestras seminales, aunque la concentración a la que se consiguen los mejores resultados continúe variando entre estudios [18].

El uso del PRP para la criopreservación seminal, no se ha estudiado solo mediante su combinación con el medio de congelación, sino que también se ha aplicado mediante inyección intratesticular en conejos y se han medido los valores de movilidad y de expresión de genes implicados en esta y de otros genes encargados de regular la espermatogénesis y asociados a regular el estrés celular, los cuales disminuyen su expresión tras la crioconservación. Dichos autores observaron que la movilidad total, la movilidad progresiva, la hiperactivación y viabilidad eran superiores en el grupo de PRP que en el control. Además, el grupo de PRP presentaba menores valores de fragmentación de DNA y los niveles de expresión de los genes comentados mejoraban alcanzando incluso los valores de antes de la congelación. Estos resultados ayudan a confirmar el efecto protector del PRP autólogo sobre la estabilidad genómica a la hora de crioconservar muestras seminales [19].

En humanos el número de trabajos recientes es menor y también incluyen un número reducido de sujetos. En el estudio de Yan et al (2021) recolectaron 12 muestras normozoospermicas y las dividieron en 4 alícuotas a las que se añadieron concentraciones del 0%, 2%, 5% y 10% de PRP autólogo antes de la congelación. Tras su descongelación midieron valores de movilidad, vitalidad, integridad de membrana, fragmentación del DNA, niveles de ROS y el potencial de membrana mitocondrial. Los resultados fueron que el 5% de PRP incrementaba significativamente los niveles de movilidad, vitalidad e integridad de membrana en comparación con el grupo control. La mejora significativa en la integridad de membrana al suplementar el medio con PRP a pesar del shock térmico, puede deberse a que el componente proteico del PRP por si solo es capaz de proteger de los cambios mecánicos resultados de la cristalización y del calentamiento asociados a este proceso de criopreservación. En el caso de la fragmentación del DNA, los niveles de ROS y el potencial de membrana mitocondrial el 5% de PRP mostró resultado positivos tras la congelación, pero estos no fueron significativos [9].

Otro estudio que muestra un efecto positivo del PRP en la calidad del semen tras la vitrificación es el realizado por Nabavinia et al (2022) en el cual tomaron 20 muestras de semen de hombres normozoospermicos sanos de 20 a 30 años, las cuales diluyeron con

una concentración de 1×10^5 μL de PRP. Las muestras tratadas con esta concentración mostraron significativamente mejor movilidad y viabilidad y menor porcentaje de espermatozoides no progresivos e inmóviles en comparación con el control. Además, una menor concentración de PRP se correlacionaba con un mayor radio de espermatozoides anormales y una menor cantidad de protaminas y la fragmentación del DNA aumentaba cuando se reducía el contenido de plaquetas [10].

- **Estrés Oxidativo**

No solo se han evaluado diferentes parámetros seminales tras la crioconservación seminal con PRP, también se ha investigado el efecto del PRP en la concentración, movilidad, morfología, vitalidad, fragmentación DNA y niveles de ROS en muestras espermáticas sometidas a estrés oxidativo.

Bader et al (2019) incubaron 30 muestras seminales con dosis de H_2O_2 de entre 0 y 100 μL . Tras establecer una curva de dosis-respuesta al efecto del H_2O_2 se estableció la concentración y el periodo de tiempo de incubación necesarios para inducir estrés oxidativo en los espermatozoides. A continuación, utilizaron concentraciones crecientes de PRP (0%, 2%, 5% y 10%) para tratar las muestras expuestas y no expuestas a H_2O_2 . La concentración de 2% de PRP logró un mayor efecto positivo sobre los parámetros seminales en ambos grupos, consiguiendo un incremento en movilidad progresiva y total, un descenso en el número de células ROS positivas, en la vacuolización, en la fragmentación del DNA y en el número de células muertas [4].

El estrés oxidativo, definido como el desequilibrio entre la cantidad de ROS y la capacidad antioxidante en el cuerpo, es un importante motivo de infertilidad masculina. Las consecuencias del estrés oxidativo son el daño en el DNA del espermatozoide y la alteración estructural de su membrana. Dichas alteraciones pueden resultar en una baja fecundación, bajo desarrollo embrionario e incluso pérdida del embarazo. Una excesiva producción de ROS induce activación de las caspasas y apoptosis, peroxidación lipídica y pérdida de fluidez en la membrana espermática y por tanto reduce la motilidad espermática y su capacidad de fusión con el ovocito. Con el fin de reducir el impacto del estrés oxidativo en la infertilidad se han propuesto muchos antioxidantes para tratar de mejorar la espermatogénesis y aumentar la posibilidad de embarazo y otra aproximación en estos casos sería el uso de PRP, puesto que contiene gran cantidad de sustancias bioactivas capaces de mitigar este estrés oxidativo [4].

Por lo que parece que el PRP autólogo mejora la calidad del semen, más aún ante la presencia de estrés oxidativo inducido por H_2O_2 , gracias esto muestras de pacientes infértiles con altos niveles de estrés oxidativo podrán beneficiarse de un tratamiento 24h PRP que aumentaría la movilidad y en consecuencia la funcionalidad y cualidad de sus espermatozoides, sin embargo, deberían llevarse a cabo más investigaciones con un mayor número de muestras y que valorasen un mayor número de parámetros.

- **Disfunción Eréctil**

El uso del PRP en caso de disfunción eréctil es aún experimental y con poca evidencia, pero los estudios llevados a cabo muestran un posible potencial terapéutico mediante la regeneración del tejido muscular liso, el endotelio y el tejido conectivo e incluso mejorando la mielinización de los axones del cuerpo cavernoso y reduciendo los niveles de marcadores apoptóticos [5]. Esto es de gran importancia en los casos de adenocarcinoma prostático, puesto que el mejor tratamiento para esta enfermedad continúa siendo la prostatectomía, la cual suele conducir a una pérdida de función eréctil ocasionada por el daño que se produce en los nervios cavernosos. Para recuperar la función eréctil es necesaria la regeneración axonal del tejido neural, el cual es un proceso lento en el cual el PRP parece tener buen resultado. En este sentido se han llevado a cabo dos estudios en ratones a los cuales se les ha dañado el nervio cavernoso mediante cirugía y después se les ha inyectado PRP en el mismo sitio. En estos ratones se ha visto que el tratamiento con PRP incrementaba significativamente la recuperación de la función fértil, la cantidad de fibras nerviosas, así como la preservación del número de axones mielinizados del nervio cavernoso y reducía el índice de apoptosis y de fibrosis en comparación con el grupo control [11,12]. De momento se desconoce el mecanismo por el cual se produce esta regeneración, se piensa que es debido a los factores de crecimiento que son liberados por las plaquetas y que acelerarían el proceso de recuperación mediante su actividad neuromoduladora.

- **Células Madre Espermatogoniales**

Los pacientes de cáncer que han de someterse a tratamientos de quimioterapia o radioterapia a una edad temprana ven comprometida su fertilidad futura debido a que las células madre espermatogoniales (SSCs) son muy sensibles a estos tratamientos. Es por esto por lo que a los pacientes de cáncer prepuberales se les recomienda la crioconservación de tejido testicular antes de comenzar estas terapias citotóxicas. El

número de estas células es limitado y por tanto es de vital importancia su proliferación *in vitro* antes de su autotransplante, tanto en pacientes con cáncer como para los hombres que presentan azoospermia no obstructiva. El cultivo en 3D parece ser la forma en la que mejor se organizan y se diferencian estas células al implementar el transporte de nutrientes [13].

En este sentido se ha estudiado el uso del PRP como complemento en el cultivo celular 2D y 3D de SSCs, puesto que la interacción entre el PRP y las células potencia la supervivencia de estas. Khadivi et al (2020) aislaron y cultivaron muestras de testículo de 4 donantes con muerte cerebral y las cultivaron con diferentes concentraciones de PRP: 1%, 2.5%, 5% y 10% y así comprobaron que la mayor proliferación y viabilidad de las SSCs se daba con un 5% de PRP e interesantemente con un 10% de PRP las colonias adquirían el aspecto de colonias de células madre embrionarias. Una vez determinada la concentración óptima de PRP procesaron las muestras dividiéndolas en 3 grupos diferentes: cultivo 2D sin PRP, cultivo 2D con PRP y cultivo en 3D con PRP. Después evaluaron la proliferación celular, la morfología de las colonias y la expresión relativa de genes implicados en mantener un estado indiferenciado. El cultivo en 3D con un 5% de PRP mostró una proliferación y viabilidad significativamente mayor que el control, incrementándose con el tiempo de cultivo y también una expresión significativamente mayor de los genes implicados en ello, dado que permite crear una estructura que potencia la migración celular y que se asemeja más a la microestructura natural del nicho de las SSCs. El diámetro de las colonias fue mayor en el cultivo 2D con PRP, esto puede explicarse porque el número de estas colonias en el cultivo 3D con PRP era significativamente mayor [13]. Estos resultados sugieren que sería interesante realizar más estudios para el uso del PRP en el tratamiento de la infertilidad y en el cultivo de las SSCs.

Dehgani et al (2018) comprobaron que la inyección de PRP en la testis de 32 ratones a los que se les indujo infertilidad mediante busulfán, el cual es un fármaco utilizado para el tratamiento de algunos cánceres infantiles, aumentaba el número de células madre espermatogoniales, la movilidad y longitud de la cola de los espermatozoides y los niveles de testosterona en comparación con el grupo control. Al aumentar el número células madre espermatogoniales se incrementaba el número de células de todo el linaje: espermatogonias A y B, espermocitos y espermátidas [14]. Por lo que el uso del PRP mediante inyección podría ayudar a tratar la infertilidad producida por la apoptosis severa

de células espermáticas que se produce con la edad y que se incrementa ante factores como estrés oxidativo o sustancias tóxicas, sin embargo, son necesarios más estudios que corroboren el efecto del PRP sobre estas células y que aclaren las relaciones entre estos procesos.

Otro estudio sobre el posible uso del PRP para el tratamiento de la azoospermia no obstructiva es el de Cakiroglu et al (2022) en el cual investigaron el efecto de la inyección intratesticular de PRP en las tasas de recuperación de espermatozoides y en los resultados de FIV en 135 hombres con azoospermia no obstructiva e historia de al menos un procedimiento fallido de extracción de espermatozoides testiculares por microdissección (mTESE). Los casos fueron divididos en dos grupos: el Grupo 1 con solo un fallo previo de mTESE y el Grupo 2 con dos o más fallos previos de mTESE. En el Grupo 1 se identificaron células espermáticas en un 27.5% de los casos y la tasa de implantación/recién nacido vivo fue del 7.5%, sin embargo, en el Grupo 2 el éxito fue menor, se identificaron células espermáticas solo en un 8.3% de los casos y la tasa de implantación/recién nacido vivo fue de un 3.6%. Estos resultados sugieren que en hombres con azoospermia no obstructiva y fallos previos de mTESE podrían beneficiarse del tratamiento experimental con PRP autólogo al mejorar la recuperación de células espermáticas y las tasas de implantación y recién nacido vivo [20].

La evidencias publicadas avalan que el PRP podría ser considerado como una futura opción terapéutica para el factor masculino en casos de crioconservación seminal, pacientes de cáncer prepuberales que serán sometidos a quimioterapia y pacientes con astenozoospermia no obstructiva o necrozoospermia. A pesar de que aún es necesario realizar ensayos controlados aleatorizados para estos casos mencionados y corregir la falta de estandarización en los protocolos de obtención y en la definición del PRP, hay suficiente evidencia de que los FCs plaquetarios tienen resultados positivos sobre la calidad y la función de los espermatozoides, como crioprotectores, en el cultivo de células madre espermatogoniales y en el tratamiento de pacientes con azoospermia no obstructiva.

- **FCs y su efecto en los espermatozoides**

Los efectos positivos del PRP sobre los espermatozoides son el resultado de muchas de las funciones de los FCs que contienen las plaquetas. Los FCs plaquetarios por si solos han mostrado resultados positivos sobre la calidad y la función de los espermatozoides.

La movilidad espermática se ha visto aumentada por el TFG- β , el FGF, el VEGF y la SOD y de igual manera se han asociado parámetros seminales normales al IGF-1 y al PDGF [4]. Así mismo, estos FCS son también capaces de reducir la isquemia de los testículos, incrementar el diámetro de los túbulos seminíferos, mantener el epitelio germinal y regular la función de las células de Leydig y de Sertoli [14,21].

En concreto el FGF-2 tras ser incubado con espermatozoides incrementa su movilidad progresiva, mediante la unión con el receptor FGFR en la región del acrosoma y del flagelo, produciendo la fosforilación de las rutas de señalización de la proteína quinasa reguladora de señales extracelulares (ERK) y la proteína quinasa B (PKB). Además, este FGF-2 junto con el factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimulan la liberación de proteínas fijadoras de andrógenos por parte de las células de Sertoli, estimulando la espermatogénesis [21].

Otro de los FCs con un efecto positivo sobre los espermatozoides es el IGF-1, este es un agente mitogénico que incrementa la movilidad y viabilidad de estas células. Su uso como suplemento en el medio de congelación del esperma indica que mejora la integridad de membrana y mitocondrial tras la criopreservación, así como la estabilidad del DNA [17,21]. El IGF-1 también afecta a la proliferación celular de las SSCs, incrementa su número, su renovación y su supervivencia [13].

El VGEF es otro factor contenido en el PRP cuya concentración incrementa la movilidad espermática in vitro de forma dependiente y que reduce el estrés oxidativo durante la espermatogénesis al activar la vía de señalización del factor nuclear eritroide 2 (Nrf2), en cambio, no se ha visto que aumente la supervivencia de los espermatozoides [10,13].

El PRP no solo contiene FCS si no que tiene otros componentes como la serotonina, la cual incrementa la velocidad curvilínea de los espermatozoides. Se piensa que esto es debido a que la serotonina aumenta el consumo de glucosa en las células del músculo esquelético y por tanto podría tener un efecto similar en los espermatozoides, puesto que aumentaría la fosforilación de la tirosina y esta a su vez induce la hiperfosforilación de la dineína de la pieza intermedia, aumentando el movimiento rápido de las cabezas de los espermatozoides [21].

Las plaquetas aportan también enzimas como la superóxido dismutasa (SOD), la cual al ser añadida al medio de criopreservación aumenta significativamente los parámetros espermáticos tras la descongelación, puesto que reduce las ROS, uno de los mecanismos

de daño debidos al frío que da lugar a peroxidación lipídica de la membrana espermática. Al reducir esta peroxidación la SOD previene la fragmentación del DNA en el espermatozoide criopreservado y también reduce los niveles de espermatozoides muertos [10].

Toda esta evidencia muestra que los diferentes componentes del preparado de PRP tienen efectos positivos tanto en espermatozoides como en sus células germinales y es por esto por lo que deberían continuar los estudios acerca del efecto de este producto biológico y de sus factores y enzimas sobre las células espermáticas, con el fin de considerar el PRP como un posible tratamiento del factor masculino.

5. DISCUSIÓN

El uso terapéutico del PRP ha ido en aumento en los últimos años dentro de diversas áreas médicas, esto ha propiciado el crecimiento del interés en su posible aplicación en casos de infertilidad masculina. La infertilidad masculina es un problema médico y social significativo que afecta a una proporción considerable de parejas en edad reproductiva, por sí solo contribuye a los casos de infertilidad en un 20-30% y junto con el factor femenino lo hace en otro 50% [4]. En los últimos años se han investigado diversas estrategias para abordar esta condición, incluyendo el uso de terapias regenerativas y factores de crecimiento. Uno de estos enfoques emergentes es el uso del plasma rico en plaquetas (PRP) como terapia potencial para mejorar la calidad espermática y, en última instancia, la fertilidad masculina.

Los estudios muestran resultados positivos del uso del PRP como complemento al medio de criopreservación, reduciendo los niveles de estrés oxidativo, recuperando la función eréctil, en la conservación de SSCs en pacientes de cáncer prepuberales y en pacientes con azoospermia no obstructiva.

La criopreservación espermática es el método en el que más se ha investigado el uso del PRP como opción para mejorar ciertos casos de infertilidad masculina. Dentro de estos trabajos se ha valorado el uso del PRP como suplemento al medio de criopreservación, existiendo en la literatura varios estudios en animales y en humanos que muestran resultados que respaldan la hipótesis de que el PRP puede tener un impacto positivo en varios aspectos de la calidad espermática. Estos trabajos muestran una mejora

significativa en la movilidad espermática, el cual es un factor esencial para el éxito de la fertilización y no solo eso, también se han visto mejoras en la viabilidad, la integridad de membrana y en la estabilidad genómica de los espermatozoides que son criopreservados con PRP. Tanto el estudio de Hossam et al (2022) como el de Almadaly et al (2022) son recientes y muestran un aumento significativo en la movilidad progresiva, la calidad, la capacidad antioxidante y la capacidad fertilizadora de los espermatozoides de búfalo, no obstante, el primero obtuvo estos resultados con una concentración de PRP del 5%, mientras que el segundo los obtuvo con un 15% de PRP [15,17]. En los trabajos realizados con muestras normozoospermicas humanas de Yan et al (2022) y de Navabinia et al (2022) se encontraron mejoras significativas de la movilidad progresiva y de la vitalidad espermática tras la criopreservación con PRP, coincidiendo con los resultados obtenidos en animales. Sin embargo, estos estudios con semen humano difieren en la concentración de PRP que consideran óptima, esto puede deberse al método de obtención del propio PRP, al medio de congelación que utilizan o a los protocolos que llevan a cabo, los cuales muchas veces no son detallados, y esto complica el comparar resultados entre estudios. A pesar de ello, todos estos estudios muestran que complementar el medio de congelación con PRP mejora la motilidad espermática, un factor esencial para una fecundación exitosa. Este aumento sugiere un posible beneficio clínico en términos de incrementar la tasa de fecundación, por lo que sería interesante su estudio con un volumen mayor de muestras y en condiciones reproducibles [9,10].

El PRP no solo podría suponer una mejora en la criopreservación espermática, sino que gracias a su capacidad antioxidante podría convertirse en un tratamiento alternativo rápido, efectivo y coste eficiente cuyo objetivo sea el de disminuir las especies reactivas de oxígeno y por tanto mejorar la función y calidad espermática, debido al efecto negativo que tienen estas especies sobre la espermatogénesis. Los resultados obtenidos en el estudio de Bader et al (2019) muestran que el PRP disminuye los niveles de ROS en espermatozoides, este potencial efecto terapéutico es debido a los FCS presentes en este preparado [4]. Muchos de ellos han sido estudiados por si solos en los espermatozoides mostrando efectos positivos significativos en su calidad y función, como el FGF-2, el IGF-1 y el VEGF, entre otros [13,21]. Una posible explicación es que factores como drogas tóxicas y el estrés oxidativo, pueden acelerar la apoptosis espermática que ocurre durante el envejecimiento, causando infertilidad y algunos de los FCs presentes en el PRP

intervienen en las rutas apoptóticas disminuyendo su activación y por tanto mejorando la supervivencia espermática [14].

Avances recientes han mostrado que estos FCS son esenciales para que el PRP pueda ejercer su acción, como es en el caso de la disfunción eréctil, ya que contribuyen en el desarrollo, mantenimiento y regeneración del sistema nervioso. Gracias a ellos el PRP es capaz de regenerar los axones que son dañados durante la prostatectomía y así poder recuperar la disfunción eréctil, lo que coincide con los resultados obtenidos por Ding et al (2009) y Wu et al (2012) en ratones, en estos estudios el tratamiento con PRP mejoraba la recuperación de la función eréctil y reducía la apoptosis de los axones. Los resultados de estas investigaciones, a pesar de ser escasas, indican el potencial del PRP en la reparación del nervio cavernoso y en la recuperación de la función fértil [11,12]. Por tanto, el estudio de la aplicación del PRP en pacientes que han de someterse a ciertas cirugías en las que estos nervios pueden dañarse y como consecuencia padecer disfunción eréctil sería de gran interés.

La gran cantidad de factores de crecimiento que contiene el PRP, los cuales son capaces de regular la división de células germinales en su proliferación y diferenciación, de inducir el progreso de la espermatogénesis y de prevenir la apoptosis celular, se ha visto que favorecen la proliferación y viabilidad de células madres espermatozonales en cultivo, aumenta el número de células del linaje espermático en ratones a los que se les ha inducido infertilidad e incluso mejora la recuperación de células espermáticas y las tasas de implantación y de recién nacido vivo en varones con azoospermia no obstructiva [13,14,20]. Los resultados de estos estudios son alentadores para pacientes con cáncer prepuberal que quieren preservar su fertilidad antes de someterse a un tratamiento citotóxico y para hombres con azoospermia no obstructiva en los cuales la inyección de PRP podría mejorar sus resultados reproductivos.

A pesar de los resultados prometedores sobre el uso del PRP para el tratamiento del factor masculino, debe tenerse en cuenta que algunos trabajos difieren en el método de activación de plaquetas utilizado y esto podría cambiar la cinética de liberación de los FCs del PRP, haciendo que los resultados varíen y que sean menos comparables entre sí. A su vez, el origen del PRP puede ser tanto autólogo como no autólogo y el protocolo de obtención de una o dos centrifugaciones; lo cual contribuye a que se encuentren resultados inconsistentes entre pacientes y ensayos [10]. Por ello, los estudios clínicos acerca del uso del PRP no son muchas veces comparables ni reproducibles, puesto que la mayoría

no especifica los métodos de preparación utilizados y porque continúa abierto el debate acerca del volumen ideal de PRP a administrar, la frecuencia de aplicación y el sitio de administración.

Dado que no hay una regulación clara acerca de la formulación y composición más adecuadas para el uso del PRP, ni tampoco un consenso a la hora de prepararlo, las composiciones finales del PRP variarán mucho en plaquetas, células blancas sanguíneas, RBCs y FCs [3]. Hay ciertos componentes del PRP que en estudios *in vitro* han mostrado que pueden llegar a ser contraproducentes, como puede ser una alta concentración de elementos de serie blanca que llevan a la formación de un ambiente inflamatorio. Además, si durante la preparación del PRP no se centrifuga lo suficiente este puede contener hematíes los cuales, durante la fase de estrés oxidativo, pueden generar radicales libres a partir de su grupo hemo y generar daño celular, por lo que sería de gran importancia evitar o reducir la presencia de estos componentes en las formulaciones de PRP. Esta es la mayor complicación en su preparación, puesto que la sangre está compuesta en un 95% de estas células rojas y solo en un 6% de plaquetas, por lo que es complicado lograr revertir este porcentaje [2]. No solo los eritrocitos pueden suponer una complicación en la preparación del PRP, se ha visto en algunos estudios que concentraciones altas de FCs plaquetarios pueden tener efectos contrarios a los deseados y esto puede ser debido a que la cantidad de receptores en la membrana celular es limitada y cuando los niveles de FCs son muy altos en comparación con el número de receptores afecta negativamente a la función celular [3].

Por ello, sería muy beneficioso que se utilizara un protocolo estandarizado de preparación del PRP para poder reproducir resultados y que estos sean consistentes [4]. Además, los estudios futuros deberían detallar el volumen de PRP obtenido, la dosis de plaquetas, la composición de la sangre y del preparado y el número de aplicaciones/dosis de PRP aplicadas [3]. Teniendo esto en cuenta, cada laboratorio podría crear su propio estándar para la preparación del PRP, lo cual sería más eficiente a nivel de costes puesto que evitaría la compra de kits comerciales y facilitaría su adaptación al entorno clínico.

Hay que tener en consideración que muchos de los estudios del posible uso del PRP para el tratamiento del factor masculino han sido realizados *in vitro* o en animales, por tanto, sus recomendaciones acerca de la obtención y aplicación del PRP pueden diferir en los resultados clínicos obtenidos en estudios en humanos. Hasta que haya consenso en la estandarización de la formulación y preparación del PRP este debería elaborarse

siguiendo una misma receta clínica. Sin embargo, las tecnologías para producir PRP de uso clínico siguen avanzando y los datos científicos disponibles indican la necesidad de diferentes formulaciones de PRP para tratar diferentes patologías bajo condiciones específicas [3]. Los estudios coinciden en que cada especialista debería adaptar y optimizar el protocolo más adecuado para cada caso hasta que haya un protocolo unificado, el cual favorecería el análisis y la comparación de los resultados entre estudios, además de eliminar la variabilidad en cuanto a la efectividad del PRP y en cuanto a la concentración más adecuada de este [5].

En cuanto a la información disponible acerca de la seguridad del PRP, los datos disponibles muestran ausencia de reacciones adversas en el tratamiento con este preparado, sin embargo, estos estudios están limitados por su pequeño tamaño muestral [5]. Además, aunque estos estudios muestren una teórica inocuidad del PRP, su uso mediante inyección tiene ciertas contraindicaciones en pacientes con: infección activa, uso de anticoagulantes y antiagregantes plaquetarios, discrasias sanguíneas y toma de inmunosupresores sistémicos [2]. Esto es debido a que algunas medicaciones como los fármacos antiinflamatorios no esteroideos afectan a la liberación de FCs por parte de las plaquetas, debido a que actúan inhibiendo la activación plaquetaria. No hay consenso acerca del mejor momento para la preparación de PRP y su administración en pacientes bajo esta medicación [3].

La falta de estandarización en la preparación del PRP, junto a que la literatura para su empleo en el factor masculino es limitada y que los ensayos cuentan con un número reducido de sujetos, hacen que el uso del PRP para el tratamiento de la infertilidad masculina deba considerarse aún experimental. Aunque los resultados muestran datos útiles y pruebas convincentes para la aplicación de PRP en el tratamiento de ciertos casos de factor masculino, deberían hacerse estudios clínicos futuros para entender los mecanismos del PRP que afectan a estos resultados, deberían ser estudios prospectivos aleatorios con mayor número de muestras y en los que se contralara y documentara toda la preparativa del PRP para que puedan ser reproducibles. Sería a su vez necesario una mayor investigación acerca del mecanismo de acción del PRP para llegar a comprender a fondo esta nueva terapia y poder interpretar los datos obtenidos en cada estudio. Esto ayudaría a los profesionales a la hora de elegir un sistema para las necesidades concretas de su paciente.

6. CONCLUSIONES

La elaboración de este trabajo ha permitido valorar el potencial del PRP como posible opción terapéutica en ciertos casos de infertilidad masculina, como en la criopreservación espermática, el estrés oxidativo, la disfunción eréctil, el cultivo de células madre espermátogonias y la azoospermia no obstructiva.

Los resultados encontrados en la literatura respaldan la idea de que podría ser una terapia prometedora para enfocar el factor masculino. Los estudios sobre el empleo del PRP sobre espermatozoides muestran una mejora en la calidad espermática, incluidas motilidad, viabilidad, integridad de membrana y de DNA; esto sugiere un potencial beneficio clínico en los resultados clínicos. Los trabajos en animales han mostrado incluso un aumento en tasas de fecundación empleando el PRP en la criopreservación espermática, por lo que en futuro sería de interés comprobar si estas mejoras se producen también en humanos. Lo mismo ocurre en los casos de disfunción eréctil, donde en animales se produce una mejora significativa al usar el PRP para tratar esta incapacidad.

En el caso de las células madre espermátogonias y el uso del PRP para su cultivo, los estudios muestran que sería beneficioso en pacientes con cáncer prepuberal que optan por el cultivo de estas células para preservar su fertilidad antes de un tratamiento de quimioterapia y en ciertos casos de azoospermia no obstructiva. Si se confirma su eficacia a través de estudios rigurosos, el PRP podría convertirse en una opción terapéutica valiosa y complementaria para abordar la infertilidad masculina en estos casos. Sin embargo, se requieren investigaciones adicionales para comprender mejor los mecanismos subyacentes, optimizar las dosis y protocolos de tratamiento, y evaluar los resultados a largo plazo.

Estos resultados son coherentes con investigaciones previas que sugieren que los factores de crecimiento presentes en el PRP podrían promover la proliferación y diferenciación celular, y podrían estar involucrados en procesos de reparación y regeneración. En el contexto del factor masculino, estas mejoras podrían tener importantes implicaciones clínicas y aumentar las probabilidades de éxito en los tratamientos de reproducción asistida.

Cabe resaltar que, a pesar de que los prometedores resultados, existen ciertas limitaciones en estos estudios. Las muestras de participantes son relativamente pequeñas y los

protocolos de obtención del PRP en cada estudio son diversos y en muchos casos no se encuentran descritos, por lo que dificulta la comparación de resultados y hace que no sean reproducibles. Por lo que se recomienda realizar estudios con muestras más grandes y protocolos de obtención estandarizados y más detallados y así poder confirmar la eficacia y fiabilidad de los efectos observados.

El PRP al ser un producto biológico de bajo coste y de fácil obtención y aplicación, sería una opción terapéutica prometedora para ciertas etiologías de factor masculino, por lo que debería ser considerado un tratamiento prometedor del cual deberían estudiarse sus efectos biológicos en el espermatozoos y en consecuencia en las tasas de éxito en los tratamientos de reproducción.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Alves, R., & Grimalt, R. (2018). A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. *Skin Appendage Disorders*, 4(1), 18–24. <https://doi.org/10.1159/000477353>
2. Martínez-Martínez, A., Ruiz-Santiago, F., & García-Espinosa, J. (2018). Plasma rico en plaquetas: ¿mito o realidad? *Radiología*, 60(6), 465–475. <https://doi.org/10.1016/j.rx.2018.08.006>
3. Everts, P., Onishi, K., Jayaram, P., Lana, J. F., & Mautner, K. (2020). Platelet-rich plasma: New performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 1–36. <https://doi.org/10.3390/ijms21207794>
4. Bader, R., Ibrahim, J. N., Moussa, M., Mourad, A., Azoury, J., Azoury, J., & Alaaeddine, N. (2020). In vitro effect of autologous platelet-rich plasma on H₂O₂-induced oxidative stress in human spermatozoa. *Andrology*, 8(1), 191–200. <https://doi.org/10.1111/andr.12648>
5. Epifanova, M. V., Gvasalia, B. R., Durashov, M. A., & Artemenko, S. A. (2020). Platelet-Rich Plasma Therapy for Male Sexual Dysfunction: Myth or Reality? *Sexual Medicine Reviews*, 8(1), 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2019.02.002>
6. Dhurat, R., & Sukesh, M. (2014). Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 7(4), 189. <https://doi.org/10.4103/0974-2077.150734>
7. Sharara, F. I., Lelea, L. L., Rahman, S., Klebanoff, J. S., & Moawad, G. N. (2021). A narrative review of platelet-rich plasma (PRP) in reproductive

- medicine. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38(5), 1003–1012.
<https://doi.org/10.1007/s10815-021-02146-9>
8. Magalon, J., Chateau, A. L., Bertrand, B., Louis, M. L., Silvestre, A., Giraud, L., Veran, J., & Sabatier, F. (2016). DEPA classification: A proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices. *BMJ Open Sport and Exercise Medicine*, 2(1), 1–5. <https://doi.org/10.1136/bmjsem-2015-000060>
 9. Yan, B., Zhang, Y., Tian, S., Hu, R., & Wu, B. (2021). Effect of autologous platelet-rich plasma on human sperm quality during cryopreservation. *Cryobiology*, 98(105), 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2021.01.009>
 10. Nabavinia, M. S., Yari, A., Ghasemi-Esmailabad, S., Gholoobi, A., Gholizadeh, L., Nabi, A., Lotfi, M., & Khalili, M. A. (2022). Improvement of human sperm properties with platelet-rich plasma as a cryoprotectant supplement. *Cell and Tissue Banking*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s10561-022-10032-6>
 11. Ding, X. G., Li, S. W., Zheng, X. M., Hu, L. Q., Hu, W. L., & Luo, Y. (2009). The effect of platelet-rich plasma on cavernous nerve regeneration in a rat model. *Asian journal of andrology*, 11(2), 215–221.
<https://doi.org/10.1038/aja.2008.37>
 12. Wu, C. C., Wu, Y. N., Ho, H. O., Chen, K. C., Sheu, M. T., & Chiang, H. S. (2012). The neuroprotective effect of platelet-rich plasma on erectile function in bilateral cavernous nerve injury rat model. *The journal of sexual medicine*, 9(11), 2838–2848. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2012.02881>.
 13. Khadivi, F., Koruji, M., Akbari, M., Jabari, A., Talebi, A., Ashouri Movassagh, S., Panahi Boroujeni, A., Feizollahi, N., Nikmahzar, A., Pourahmadi, M., & Abbasi, M. (2020). Application of platelet-rich plasma (PRP) improves self-renewal of human spermatogonial stem cells in two-dimensional and three-dimensional culture systems. *Acta Histochemica*, 122(8), 151627.
<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2020.151627>
 14. Dehghani, F., Sotoude, N., Bordbar, H., Panjeshahin, M. R., & Karbalay-Doust, S. (2019). The use of platelet-rich plasma (PRP) to improve structural impairment of rat testis induced by busulfan. *Platelets*, 30(4), 513–520.
<https://doi.org/10.1080/09537104.2018.1478400>
 15. El-Sherbiny, H. R., Abdelnaby, E. A., Samir, H., & Fathi, M. (2022). Addition of autologous platelet rich plasma to semen extender enhances cryotolerance and fertilizing capacity of buffalo bull spermatozoa. *Theriogenology*, 194, 104–109.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.09.029>
 16. Gómez-Torres, M. J., Medrano, L., Romero, A., Fernández-Colom, P. J., & Aizpurúa, J. (2017). Effectiveness of human spermatozoa biomarkers as indicators of structural damage during cryopreservation. *Cryobiology*, 78, 90–94.
<https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2017.06.008>
 17. Susilowati, S., Triana, I. N., & Malik, A. (2015). The effects of insulin-like growth factor I (IGF-I) complex from seminal plasma on capacitation, membrane integrity and DNA fragmentation in goat spermatozoa. *Asian Pacific*

- Journal of Reproduction*, 4(3), 208–211.
<https://doi.org/10.1016/j.apjr.2015.06.003>
18. Almadaly, E. A., Ibrahim, I. M., Salama, M. S., Ashour, M. A., Sahwan, F. M., El-Kon, I. I., Abouzed, T. K., & El-Domany, W. B. (2023). Effect of platelet-rich plasma (PRP) on post-thaw quality, kinematics and in vivo fertility of fertile and subfertile buffalo (*Bubalus bubalis*) spermatozoa. *Veterinary Research Communications*, 47(1), 61–72. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09928-1>
 19. Abdulla, A. K., Rebai, T., & Al-Delemi, D. H. J. (2022). Protective Effects of Autologous Platelet-Rich Plasma (PRP) on the Outcome of Cryopreservation in Rabbit Sperm. *Cellular and Molecular Biology*, 68(4), 113–121. <https://doi.org/10.14715/cmb/2022.68.4.14>
 20. Gudelci, T., Cakiroglu, Y., Yuceturk, A., Yazicioglu, C., Karaosmanoglu, O., Kopuk, S. Y., Utkan Korun, Z. E., Scott, R. T., Tiras, B., & Seli, E. (2022). Men With Non-Obstructive Azoospermia and History of Failed (Mtese) Microdissection Testicular Sperm Extraction: Outcomes After Intratesticular Injection of Platelet Rich Plasma (Prp). *Fertility and Sterility*, 118(4), e289. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.08.805>
 21. Hernández-Corredor, L., León-Restrepo, S., Bustamante-Cano, J., Báez-Sandoval, G., & Jaramillo, X. (2020). Effect of the incorporation of plasma rich of platelets on the spermatozoa physiology of ram semen. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*, 9(9). <https://doi.org/10.15406/jdvar.2020.09.00275>