

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

**Revisión de las técnicas de  
rejuvenecimiento ovárico: una  
comparación entre OFFA, PRP y ASCOT**

Autor: Ane Olivenza Aguirreolea

Tutor: María Cruz Palomino y Ana Isabel Castillo Varón

Alcobendas, septiembre 2023

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>3</b>
<b>PALABRAS CLAVE</b>	<b>3</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>5</b>
1. A. FALLO OVÁRICO PRECOZ .....	6
1. B. BAJA RESERVA OVÁRICA.....	6
1. C. BAJA RESPUESTA .....	7
1. D. ENFERMEDADES ASOCIADAS .....	8
1. E. TRATAMIENTO ACTUAL .....	9
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>10</b>
<b>3. MÉTODOS</b>	<b>11</b>
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>12</b>
4. A. Tratamiento de fragmentación ovárica para activación folicular (OFFA) .....	12
4. B. Tratamiento de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) .....	14
4. C. Tratamiento de trasplante de células madre autólogas de ovario (ASCOT) .....	17
<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>21</b>
<b>6. PRESPECTIVAS FUTURAS</b>	<b>23</b>
<b>7. ABREVIATURAS</b>	<b>24</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>25</b>

## **RESUMEN**

La sociedad actual retrasa el momento de reproducción cada vez más y con ello vienen las complicaciones para la concepción de manera natural ya que el envejecimiento ovárico tanto natural como asociada a patología dificulta la reproducción. En esta revisión bibliográfica se exponen tres técnicas de vanguardia que prevén poner solución a este problema tan extendido. La fragmentación ovárica para activación folicular (OFFA), el plasma enriquecido con plaquetas (PRP) y el trasplante autólogo de células madre en el ovario (ASCOT). Algunas de ellas están actualmente en uso, sin embargo, no tienen resultados tan exitosos como gustaría y aún presentan problemas como la aneuploidía gamética o la inmadurez ovocitaria.

## **PALABRAS CLAVE**

Envejecimiento ovárico, OFFA, PRP, ASCOT.



## 1. INTRODUCCIÓN

Es un hecho conocido la disminución de la capacidad reproductiva con el aumento de la edad cronológica, la cual llega a su fin con la menopausia, que se define como “final de la menstruación por la pérdida de la actividad de folículos ováricos que comienza al final de los 30 y es completa a principios de los 50 en la mayoría de las mujeres” (1) Aun así, la edad en la que ocurre, los propios síntomas o la edad en la que la capacidad reproductiva cesa son diferentes en cada mujer.

Respecto al envejecimiento ovárico fisiológico, se da por una disminución de la cantidad y calidad de los ovocitos a medida que transcurren los ciclos menstruales, ya que el número de ovocitos es finito desde el desarrollo embrionario (2); a esta disminución de la reserva ovárica le sigue una desregulación hormonal que termina en la ya mencionada menopausia.

Asimismo, hay causas que aceleran este proceso y que genera dificultades en la capacidad reproductiva en mujeres en edad fértil (3). Además de procesos biológicos, también se han dado cambios sociales como el retraso en el deseo gestacional. Estos factores dificultan aún más la capacidad reproductiva.

Además, también cómo sociedad nos acercamos más a ciudades grandes lo que nos lleva a vivir en entornos con mayor nivel de contaminación, tenemos una vida con mayores niveles de estrés y hábitos poco saludables. Y aunque el cese de la actividad reproductiva y el envejecimiento ovárico son inevitables y están programados desde el nacimiento, hay factores, cómo los comentados anteriormente, que pueden acelerar o ralentizar este proceso.

Conocemos cada vez mejor los procesos biológicos que provocan infertilidad en mujeres jóvenes o casos de insuficiencia ovárica primaria. Entre estos encontramos, el envejecimiento ovárico prematuro, la baja reserva ovárica (BR), la baja respuesta a estimulación ovárica (POR), fallo ovárico prematuro (FOP) y enfermedades propiamente dichas cómo la endometriosis, cáncer ovárico u otros cánceres cuyo tratamiento conlleva una afección a órganos reproductivos

y también estilos de vida poco saludables cómo el tabaquismo o alcoholismo, la obesidad u el bajo peso (4).

### 1. A. FALLO OVÁRICO PRECOZ

Este desorden se describe como oligo-amenorrea y niveles altos de FSH que consecuentemente llevan a un fallo ovárico antes de los 40 años en mujeres: el fallo ovárico precoz se caracteriza por derivar en un estado de hipogonadismo hipergonadotrófico con insuficiencia estrogénica (5). Estas características hacen que la ovulación sea impredecible y que el agotamiento de folículos antrales primordiales sea prematuro (3).

Esta condición se ha visto que puede deberse a diversos factores cómo la predisposición genética, síndrome de X frágil, enfermedad autoinmune, infecciones o causas iatrogénicas (3).

Hay que remarcar que al ser una condición tan diversa y aun desconocida su causa clara, no todas las mujeres que presentan estas enfermedades tienen dificultades reproductivas ni si quiera FOP.

### 1. B. BAJA RESERVA OVÁRICA

La baja reserva ovárica es una condición que las mujeres en edad cercana a la menopausia tienen fisiológicamente; sin embargo, es un problema en las mujeres jóvenes que lo padecen. Este fenómeno además de disminuir la reserva también empeora la calidad ovocitaria (6) y aunque se ha visto que las mujeres jóvenes con baja reserva tienen ovocitos de mejor calidad, siguen sufriendo mayores tasas de abortos espontáneos y aneuploidías además de menores tasas de embarazo (7).

Las causas no están del todo claras, pero se ha visto que estas mujeres sufren atresia de un mayor número de ovocitos por ciclo. Además, hay estudios en los que han observado diferencias en el tamaño de los folículos ováricos entre mujeres y sin baja respuesta dentro del mismo grupo de edad, siendo más pequeños en las de BR (7).

Además de mujeres sin patologías concretas asociadas, esta baja reserva se observa en mujeres con patologías como cirugías ováricas, infecciones pélvicas, endometriomas, enfermedades autoinmunes (7) e incluso hábitos insalubres sin llegar a ser patológicas per se cómo el tabaquismo, alcoholismo o vivir en una ciudad con alta tasa de polución (6–9).

### 1. C. BAJA RESPUESTA

También afecta a la fertilidad la **baja respuesta a estimulación ovárica** (BR o POR, de las siglas en inglés) y aunque no sea motivo directo por el que el tratamiento de fertilidad sea fallido puede indicar mala calidad ovocitaria u otro problema oculto. La BR se define por tres factores de los cuales se deben cumplir dos para considerar a una mujer baja respondedora (9,10):

- Edad materna avanzada (mayor de 40 años)
- Una baja respuesta en una estimulación previa (menos de 3 ovocitos con la estimulación máxima de 150IU de FSH por día).
- Un resultado al test de reserva ovárica anormal (recuento folicular menor a 6 o el nivel de hormona antimülleriana -AMH- menor a 0,5-1.1ng/ml). (9)

Sin embargo, esta clasificación no diferencia entre la edad o la predisposición de las mujeres afectas y por eso se ha hecho una clasificación llamada “POSEIDON” (10):

- GRUPO 1: Menores de 35 con reserva normal (AMH > 1,2ng/mL, RFA > 5) y con BR no esperada.
- GRUPO 2: Mayores de 35 con reserva normal y BR no esperada.
- GRUPO 3: Menores de 35 con baja reserva (AMH < 1,2ng/mL, RFA <5).
- GRUPO 4: Mayores de 35 con baja reserva.

Esta clasificación permite además de conocer la BR, orientar la etiología y así proponer soluciones mejor orientadas y personalizadas en el campo de la reproducción asistida.

La baja respuesta no es indicadora de un problema único, sino que tiene causas diversas y aparece como consecuencia en diferentes patologías. Estas patologías incluirían cómo “síntoma” o consecuencia la baja respuesta a estimulación ovárica. Entre ellas la más prevalente y clara sería la endometriosis (11).

#### 1. D. ENFERMEDADES ASOCIADAS

##### **ENDOMETRIOSIS**

La endometriosis se define como “presencia de endometrio fuera de la cavidad uterina acompañada de inflamación crónica”. Es una enfermedad que afecta a las mujeres en la cotidianidad de la vida, sobre todo en el momento en el ciclo en el que menstrúan, ya que, entre sus síntomas se encuentran la dismenorrea, el dolor pélvico, disuria, diarrea o estreñimiento etc. (11). Los síntomas que conciernen a esta revisión son sobre todo la infertilidad e irregularidad de menstruación que son las que llevan a estas mujeres a ser pacientes de clínicas de fertilidad.

Ésta es una enfermedad crónica pero asociada al periodo fértil de las mujeres y, por lo tanto, finaliza con el inicio de la menopausia. Por ello, la solución actual para mejorar la calidad de vida de estas mujeres pasa por inducir una menopausia precoz farmacológicamente, o una cirugía para eliminar el tejido endometrial que se encuentra fuera de la cavidad uterina (11). Todo esto pasa por reducir aún más la capacidad reproductiva de las mujeres y teniendo que renunciar o a tener descendencia o por lo menos a tener descendencia genéticamente propia.

##### **OTRAS**

Otras patologías que nada tienen que ver con la fertilidad per se, acaban afectando a la misma. Así cómo cánceres cuyo tratamiento pase por quimio o radioterapia, sobre todo los del área abdominal, cáncer ovárico, cérvix etc. Que además de afectar a la reproducción, su tratamiento puede consistir en la



extirpación de tejido canceroso eliminando así parte del órgano reproductor entre otras.

### 1. E. TRATAMIENTO ACTUAL

Todas las dificultades mencionadas, actualmente tienen la misma solución en la práctica, que es el empleo de ovocitos de donante para su tratamiento de fertilidad. Sin embargo, este proceso es muy duro psicológicamente para las pacientes ya que renunciar a la posibilidad de tener descendencia genéticamente propia no es fácil para ellas. Además, la donación de gametos actualmente presenta impedimentos legales en muchos países tanto por motivos éticos como religiosos, por lo que, en estos países no es una opción viable dejando a las mujeres con la capacidad reproductiva disminuida sin opciones.

Actualmente, además de la donación de ovocitos, el tratamiento para aumentar la población ovocitaria o mejorar la calidad de esta emplean tratamientos hormonales con glucocorticoides, coenzima Q10, la incluso la acupuntura o medicina holística en algunas clínicas (7).

Sin embargo, estas técnicas no dan suficiente garantía y por ello, aunque la donación actualmente es la que proporciona mejor pronóstico en tasa de embarazo y recién nacido vivo en estas pacientes. La investigación de posibles tratamientos alternativos está en crecimiento para encontrar alternativas que ofrezcan garantías suficientes para cada caso concreto.

## 2. OBJETIVOS

El objetivo de esta revisión es realizar una comparación entre las diferentes técnicas punteras en el área del rejuvenecimiento ovárico y presentar los estudios que se están llevando a cabo en la actualidad. Realizar un análisis crítico de cada una y valorar la perspectiva de futuro que presentan. También se van a analizar y criticar las vías de estudio más novedosas y que aún están en etapas de desarrollo más iniciales.

Las principales técnicas que se van a analizar y comparar son:

- Administración intraovárica de Plasma rico en plaquetas (PRP).
- Trasplante de células madre ováricas autólogas (ASCOT).
- Fragmentación ovárica para activación folicular (OFFA)

### 3. MÉTODOS

Siendo el objetivo principal de este trabajo la comparación de diferentes técnicas en desarrollo para el rejuvenecimiento ovárico, primero se ha explicado el problema en cuestión y para ello, se ha buscado bibliografía relacionada tanto con el envejecimiento ovárico como de las patologías o cualidades que llevan a las mujeres a esta situación de fallo prematuro.

Después se ha buscado cada técnica, su procedimiento, sus ventajas y se han valorado sus flaquezas. Así llegando a la comparativa de dichas técnicas.

Para ello se ha realizado la búsqueda bibliográfica en la plataforma PubMed introduciendo palabras clave en inglés como: “ovarian aging”, “low ovarian reserve”, “primary ovarian insufficiency”, “Platelet rich plasma”, “autologous stem cell transplant” y “ovarian fragmentation for follicular activation” entre otras.

Finalmente, se realiza un análisis crítico de cada una de ellas individual y comparativamente y sus perspectivas futuras.

## 4. RESULTADOS

Siendo este trabajo una revisión bibliográfica, los resultados que se presentan a continuación tratan sobre las diferentes técnicas que ocupan las principales vías de investigación o tratamiento en la actualidad y que están más cercanas a pasar a la cotidianidad de las clínicas.

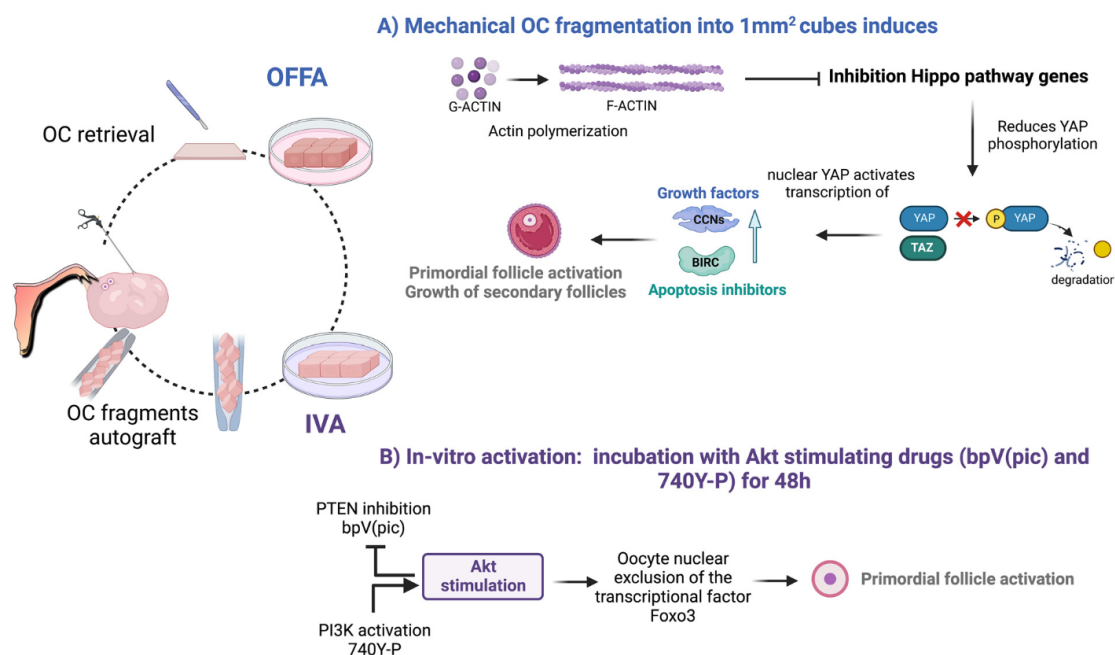
### 4. A. Tratamiento de fragmentación ovárica para activación folicular (OFFA)

La vía de señalización *Hippo* es la encargada de mantener el tamaño adecuado de los órganos mediante una cascada de kinasas que son reguladas por señales inhibitorias de crecimiento que finalmente afectan a las proteínas efectoras principales de esta vía que son YAP (*Yes-associated protein*) y TAZ (*PDZ-binding motif*) (12,13). Estas proteínas inhiben el crecimiento excesivo de los órganos y, por lo tanto, en el ámbito que nos compete han observado en estudios murinos que la inhibición de esta vía, es decir, la no fosforilación de YAP y su reclutamiento nuclear aumentan la expresión de factores de crecimiento ovárico.

Además, también existe la vía de señalización Akt que promueve la supervivencia y crecimiento en respuesta a señales extracelulares. Las principales proteínas implicadas en esta vía son PI3K (fosfatidilinositol 3-kinasa) y Akt (proteína kinasa B)(12).

Con esta base, grupos de investigación se centraron en la mecano transducción para promover el crecimiento o síntesis de ovocitos de folículos primordiales. Después vieron que la fragmentación del tejido ovárico producía esta regulación negativa de la vía *Hippo* y en combinación con estimulación de la vía Akt surgió el tratamiento IVA/OFFA convencional (*in-vitro activation / ovarian fragmentation for follicular activation*). Éste consistía en la biopsia cortical ovárica para recuperar un fragmento de entre 1 y 2 cm<sup>2</sup> y posterior fragmentación en pedazos de 1mm<sup>3</sup> para reimplantarlos en posición subcortical en el ovario para conectarlos con la médula. Este proceso se explica esquemáticamente en la [Ilustración 1](#). El ovario

con menor recuento de folículos antrales es en el que se hace el tratamiento y el otro ovario se emplea cómo control (14).



**Ilustración 1.** Esquema de los mecanismos de fragmentación ovárica y activación de los folículos primordiales en la técnica IVA/OFFA (15).

Post estimulación ovárica se observó un aumento de ovocitos maduros. Sin embargo, este tratamiento es invasivo y, por lo tanto, en los estudios recientes se emplea solo la disrupción de la vía *Hippo* a la que llamaron *drug-free IVA*. Este tratamiento presenta un aumento considerable en el desarrollo folicular de pacientes con FOP (13).

La efectividad del tratamiento, sin embargo, solo se ha observado en mujeres con baja reserva o respuesta y mujeres con insuficiencia ovárica primaria, por lo que no sería suficiente para muchas mujeres con patologías que afectan a su fertilidad.

En cuanto a resultados clínicos de esta técnica, encontramos diversos ensayos que muestran dispares resultados. Pellicer et al. (15) en 2023 realizan una comparación de estos y publican la siguiente [tabla 1](#). Observamos que la población en la que se testó la técnica es amplia, desde orígenes de infertilidad diferente, edades dispares e incluso tamaño de población diferentes y pequeños.

Aun sin consenso entre los ensayos, observamos que todos los grupos vieron un incremento en la fertilidad de las pacientes.

**Tabla 1.** Comparación de los resultados de ensayos clínicos de la técnica IVA/OFFA (15).

Intervention	Diagnosis and age	Study design	Outcomes overall
Unilateral or bilateral ovarian fragmentation, ovarian tissue vitrification, warming + incubation with bpV (HOpic) + 740-YP and reimplantation of the tissue during the same surgical procedure to the serosa of both Fallopian tubes (Kawamura et al., 2013; Suzuki et al., 2015)	POI <40 years old	Prospective cohort study (n = 37)	9/37 developed follicles <b>8% PR (biochemical pregnancy)</b> <b>5,4% had a live birth</b>
Unilateral ovarian fragmentation + incubation with bpV(HOpic) + 740-YP and reimplantation of the tissue during the same surgical procedure to the serosa of both Fallopian tubes (Zhai et al., 2016)	POI 29 years old (23- 35)	Prospective cohort study (n = 14)	6/14 patients developed follicles <b>28,5% had embryos frozen</b> <b>7,1% had a live birth</b>
Unilateral ovarian fragmentation (without incubation) and reimplantation to a peritoneal pocket (Lunding et al., 2019)	POR 37 years old (30- 39)	Prospective cohort study (n = 20)	7/20 experienced elevation of AMH <b>60% PR without ART</b> <b>35% had a live birth after IVF</b> <b>5% had a live birth after IUI</b> <b>15% had a live birth after natural conception</b>
Unilateral ovarian fragmentation (without incubation) and reimplantation to ovary (Kawamura et al., 2020)	POR 34 years (30- 45)	Case series (n = 11)	9/11 increased AMH levels <b>27% PR after IVF</b> <b>9% resulted in a natural conception</b>
Unilateral ovarian fragmentation (without incubation) and reimplantation to the contralateral ovary and peritoneal pocket (Ferrerri et al., 2020a-2020b)	POI 33 years (29- 36)	Prospective cohort study (n = 14)	<b>28,5% PR after IVF</b>
Unilateral ovarian fragmentation (without incubation) and reimplantation to ovary (Díaz-García et al., 2022)	POR 36 years (34- 39)	Randomized controlled trial (n = 34). Control arm: no intervention	Higher AFC after intervention in the operated ovary <b>PR after IVF 13,3%</b> <b>Live birth rate after IVF 6,6%</b>

Pellicer et al., 2023

Medicine and Beyond

#### 4. B. Tratamiento de Plasma Rico en Plaquetas (PRP)

El ovario por su naturaleza recubierta por un epitelio de monocapa celular, y el ciclo menstrual, pasa por un estado inflamatorio, y se descama cada mes con cada ovulación con su siguiente recuperación y reparación tisular.

Así, aunque aún no está muy claro el mecanismo que sigue esta reparación, algunos investigadores creen que las plaquetas tienen un papel en el proceso (16). Esta constante “herida” y regeneración necesita una maquinaria perfecta para que todo siga funcionando de manera fisiológica. Sin embargo, cómo ya se ha mencionado anteriormente, parece que no en todas las mujeres se dan las condiciones idóneas para que el tejido se regenere correctamente.

Con esta base, se plantea el uso del plasma rico en plaquetas (PRP) para corregir este fallo. El PRP actualmente se emplea en varias áreas de la medicina

cómo ortopedia, cirugía cardiotorácica, dermatología, cirugía estética, odontología y lesiones diabéticas (17). Consiste en una concentración de plaquetas del plasma sanguíneo post centrifugación de sangre periférica (16) obtenida de la misma paciente que la va a recibir.

Esta técnica se basa en la inyección de una infusión de plasma rico en plaquetas en el córtex ovárico mediante guía ecográfica para regenerar el tejido y así aumente la funcionalidad, logrando así recluir más ovocitos. Sobre todo, se ha empleado para tratar personas con baja reserva ovárica, menopausia, fallo ovárico precoz y también para endometriosis (17).

Las plaquetas activadas son células ricas en citoquinas y factores de crecimiento implicados en el crecimiento, proliferación y diferenciación entre las que incluyen: PDGF, TGF- $\beta$ , FGF, EGF, IGF-1 y HGF. La técnica de PRP induce la aceleración de angiogénesis, control inflamatorio, y migración celular.

Además, hay estudios que demuestran que las plaquetas autólogas promueven el desarrollo de los folículos primarios y primordiales aislados a un estado de folículo preantral (18).

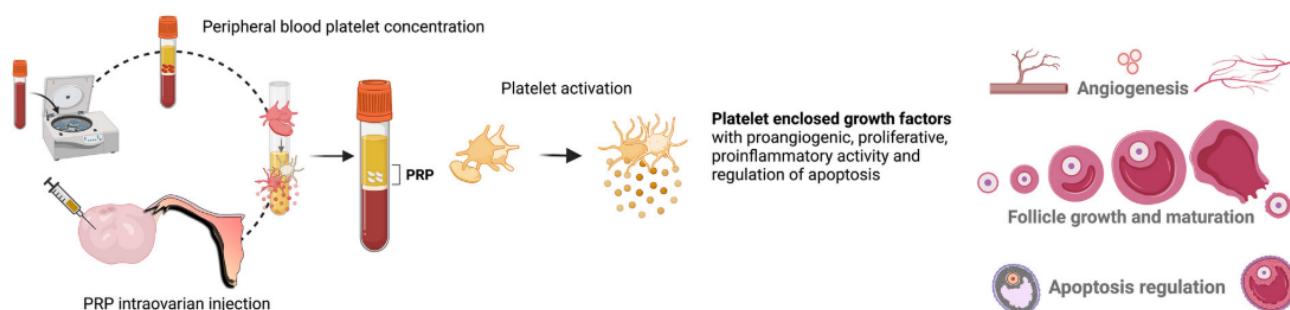
Esta técnica en el ámbito de la medicina reproductiva y en concreto cómo inyección intraovárica cómo tratamiento a los problemas ováricos se empieza a emplear por primera vez en 2018 por *Sills et al.* En este estudio presentan el empleo de activación de PRP con gluconato cálcico por vía intraovárica en pacientes mayores de 35 años, con al menos un ovario, por lo menos un año de infertilidad, por lo menos 1 ciclo fracasado o cancelado de reproducción asistida o amenorrea de al menos 3 meses.

Concluyen viendo un incremento en la cantidad de ovocitos maduros en algunas mujeres y lo asocian a dos posibles causas: la primera es que los ovocitos estaban latentes en los folículos y la administración de PRP provocaría la activación de estos por los factores de crecimiento presentes. La otra opción sería que la señal de los factores de crecimiento comunicó a células madre ováricas induciendo su diferenciación (16).

Sin embargo, este estudio se realizó con una población muy reducida y, por lo tanto, es difícil llegar a alguna conclusión precisa con sus resultados. Otros estudios presentan mayor n, por ejemplo, en mujeres con insuficiencia ovárica primaria (18).

Cómo se ve en la [ilustración 2](#) esquemáticamente, la técnica se lleva a cabo recogiendo 22mL de sangre periférica de la paciente, centrifugándola 5mins 500x rcf. Después se recoge el sobrenadante que es lo que será el PRP y se vuelve a centrifugar 7min a 700x rcf (los tiempos varían un poco en cada ensayo, pero son muy similares). Se vuelve a recoger el sobrenadante y se resuspenden las plaquetas en 1mL de plasma. Después ese plasma se activa añadiendo gluconato cálcico. Finalmente, se inyecta en el córtex ovárico de la paciente entre el día 7 y 11 del ciclo menstrual en dos días consecutivos mientras está bajo efecto de anestesia general y con una guía tanto ecográfica cómo para la aguja para evitar la rotura de vasos (18,19).

Este tratamiento se emplea en mujeres con insuficiencia ovárica primaria y baja reserva ovárica.



*Ilustración 2. Esquema del procedimiento a seguir en el tratamiento PRP (15).*

Los resultados obtenidos con esta técnica se ven reflejado en la [tabla 2](#), en la que observamos que, la mayoría de los estudios son reporte de casos y no ensayos clínicos con grupo control e igual que pasaba con la técnica anterior tampoco hay un consenso entre el criterio de inclusión y en este caso ni siquiera entre la dosis y el tipo de PRP empleado. Por lo tanto, es difícil tener una comparación clara entre ellos y sacar conclusiones concretas. Sin embargo, sí



que vemos una tasa de embarazo aumentada en todos ellos lo que nos lleva a pensar que la vía puede ser de utilidad.

**Tabla 2.** Comparación de resultados de ensayos clínicos de la técnica PRP (15).

Publication	Study design	Diagnosis	n	Main Findings	Pregnancy rate
Cakiroglu, 2020	Case series	POI	311	23 spontaneous pregnancies with 16 LB 57 ET with 9 LB 25 additional patients cryopreserved embryos	Total of 36/311 <b>PR: 11.5%</b>
Sfakianoudis, 2020	Case series	POI	30	3 spontaneous pregnancies 3 LB	<b>PR: 10%</b>
		POR	30	21 ET 12 LB	14/30 <b>PR: 46.6%</b>
Melo, 2020	Prospective controlled study	POR	46 treated with PRP vs. 37 controls	Improvement in ovarian reserve	<b>PR: 23.9%</b> vs. 5.4% No difference in LBR
Cakiroglu, 2022	Case series	POR (Poseidon)	510 Mean age: 40.3 yrs	PRP resulted in improvement of ovarian reserve parameters ↑AFC, AMH; ↓FSH ↑oocytes and blastocyst	<b>PR: 20.5%</b> <b>SI/LB rate of 12.9%</b>

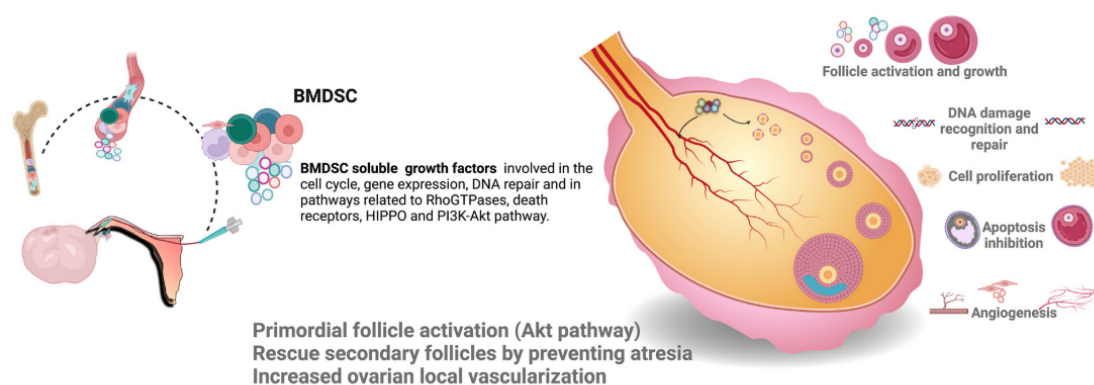
#### 4. C. Tratamiento de trasplante de células madre autólogas de ovario (ASCOT)

La capacidad regenerativa e inmunomoduladora de las células madre es bien conocida por la comunidad científica. Además, en paciente quimio o radioterápicos que sufrían insuficiencia ovárica primaria, con trasplante de médula ósea han observado mejoras en su función ovárica e incluso embarazos espontáneos. Aunque no son del todo conocidos los mecanismos por los que esto ocurre, se conoce que es por el control auto y paracrino molecular que controlan la activación folicular. En ratones han confirmado que la infusión de células madre derivadas de la médula ósea activan el nicho de folículos aumentando tanto la vascularización como la proliferación celular y reduciendo la muerte celular (20).

Para seguir este camino se han empleado diferentes tipos de células madre mesenquimales de diferentes orígenes ya que presentan cómo he comentado anteriormente una capacidad de restitución de la función ovárica a corto plazo.

- Células madre del cordón umbilical: las cuales provocan una mejora estructural y funcional del ovario además de provocar una mejora hormonal y folicular en ratones inducidos a fallo ovárico precoz y ratas con edad ovárica avanzada natural (5).
- Células madre de sangre menstrual: son células madre endometriales que se han empleado cómo tratamiento para insuficiencia ovárica primaria las cuales han tenido buen pronóstico dado que mejoran los niveles hormonales además de tener la capacidad de migración al tejido ovárico y un aumento del recuento de folículos en ratones. Estas células madre son prometedoras dado que tienen resultados solo inyectando el medio de cultivo de las células madre menstruales lo que supondría un tratamiento con una invasión mínima (5). Sin embargo, estas pacientes presentan en muchas ocasiones amenorrea u oligomenorrea, lo que imposibilitaría el empleo de estas células.
- Células madre mesenquimales derivadas de los adipocitos: han presentado la capacidad restauradora de la función ovárica en ratas y ratones inducidos a fallo ovárico precoz aumentando el número de folículos y una mejora en los niveles de estradiol sérico. Además, el grupo de investigación de *Takehara* ve una restitución de la función ovárica inyectando células madre de adipocitos masculinos en ratones viendo el cromosoma Y solo en las células de la teca y no dentro del folículo (21).
- Células madre derivadas de la médula ósea: se trata de un trasplante autólogo en mujeres con insuficiencia ovárica primaria (POI). Este tratamiento permite conseguir una mayor cantidad de células madre lo que mejora los resultados ya que no son necesarios los pasos de expansión celular que generan inestabilidad genética.

La técnica que se empieza a emplear, en España en el centro de rejuvenecimiento ovárico IVI de Alicante se refiere a una técnica experimental de terapia regenerativa que utiliza células madre mesenquimales autólogas para estimular la regeneración y el rejuvenecimiento ovárico (20). Implica la recolección de células madre de la paciente a través de aspiración de médula ósea o de tejido ovárico tras la administración a la paciente 10 microgramos/kg por día de GCSF y tras 5 días de terapia se extraen estas células que nos interesan de la sangre periférica, posteriormente se implantan en el ovario para estimular la producción de folículos antrales y ovocitos para mejorar la fertilidad mediante reproducción asistida (22). Este procedimiento está esquematizado en la [ilustración 3](#) de *Pellicer et al.*



*Ilustración 3. Procedimiento de la técnica ASCOT esquematizado (15).*

En un estudio de *Herraiz et al.* someten a este tratamiento a diecisiete mujeres bajas respondedoras, las cuales presentan un recuento folicular mayor en un periodo de entre 2 y 43 días. Sin embargo, en conjunto no presentan diferencias en la AMH en el estudio conjunto, aunque a nivel individual sí que observan variación en las primeras cuatro semanas. Aun habiendo visto mejora en el funcionamiento ovárico, aumento de recuento de folículos antrales, tasa de fecundación y disminución de cancelación de ciclos, no consiguieron el nacimiento de ningún bebé en este estudio. Pero, aun así, es importante remarcar que en el 67,8% de los casos consiguieron embriones (20).

También en este estudio encuentran relación entre la presencia de FGF-2 (factor de crecimiento fibroblástico 2) en plasma y THSP-1 (Trombospondina humana 1) y la mejora de los biomarcadores de reserva ovárica. Ambos promueven la movilización de las células madre que emplean además de permitir una secreción continua y, por lo tanto, explican el posible efecto a largo plazo que puede conseguir esta técnica.

En modelos animales con ratones esta técnica consiguió una restauración del ciclo menstrual y de los niveles de estrógenos en insuficiencia primaria (POI), aumentó la cantidad de folículos primordiales, el número de ovocitos maduros y el número de embriones que llegaban a día 2 de desarrollo además de restablecer la fertilidad natural a largo plazo (15).

Además, en la siguiente tabla se muestran otros estudios en los que podemos comparar la efectividad de la técnica que en este caso tampoco llegan a un consenso en los criterios de inclusión en los trabajos ni en el protocolo empleado. Esta técnica es la más novedosa, sin embargo, por ahora es la que peores resultados muestra, ya que solo en el de *Igboeli et al. 2020* logran una tasa de embarazo superior al 10% cómo se muestra en la [tabla 3](#). Esto puede ser debido al bajo número de pacientes empleados en cada ensayo/estudio.

**Tabla 3.** Comparación de los resultados de ensayos empleando la técnica ASCOT (15).

Technique	Diagnosis and age of patients	References	Type of investigation	Outcomes overall
<b>BM-MSC: bilateral laparoscopy injection</b>	10 POI woman <40 years old	Edessy et al., 2016	Pilot study	Menstruation recovery in 2 patients. <b>PR 10%</b>
<b>BM-MSC, 2 groups:</b> 1. Unilateral laparoscopy injection 2. Intraarterial cell infusion.	30 POI patients 18-40 years old	Gabr et al., 2016	Pilot study	26 patients improved hormone levels, 1 month after treatment Ovulation in 18 women 3 patients started IVF treatments . <b>3,3% spontaneous PR</b>
<b>BM-MSC: bilateral laparoscopy injection</b>	1 postmenopausal woman 45-year-old	Gupta et al., 2018	Case report	8 weeks after the technique, increase of AFC (from 1 to 2 follicles) and AMH (from 0.4 ng/mL to 0.9 ng/mL) IVF started 8 weeks after treatment. 3 oocytes obtained, with 1 embryo <b>1 livebirth after frozen ET 11 months after treatment</b>
<b>BM-MSC: bilateral laparoscopy injection</b>	2 patients with idiopathic POI 36 and 42 years old	Igboeli et al., 2020	Clinical trial	Increase of oestrogen levels 6-9 months after treatment Progressive decrease in FSH levels in the 6-9 months follow up. Recovery of menstruation 7 months after treatment.
<b>BMDSC: unilateral intraarterial cell infusion</b>	20 POR patients (ongoing at the time of the paper publication): report on 17 patients ≤ 40 years old.	Herraiz et al., 2018	Prospective observational pilot study	Improvement of ovarian reserve biomarkers in 13 women, 2 weeks after treatment (AFC and AMH) 28 IVF cycles initiated (78 days after ASCOT) . Oocyte pick up in 24/28 of the cycles, and obtained embryos in 19/28 of the cycles. <b>33,3 PR% , 3 live births.</b>
<b>BMDSC. 2 groups:</b> 1. cell mobilization into peripheral blood 2. unilateral intraarterial cell infusion.	20 POI patients (still ongoing) < 38 years old.	Pellicer et al., 2020	Randomized prospective pilot study	Follicular growth 90-140 days after treatment. . Positive response to BMDSC (AMH + FC): 66,6% in ASCOT 50% in mobilization group. 6 women started IVF, with 16 initiated cycles. 4 MII obtained, 2 embryos. <b>PR 6,6% , 1 live birth.</b>

## 5. CONCLUSIONES

Siendo el rejuvenecimiento ovárico un avance importante en la rama de la reproducción asistida la cual puede mejorar la calidad de vida de las pacientes y que puedan cumplir su propósito de reproducirse, la cantidad de grupos que hay investigando estas y otras nuevas vías son muchos. Sin embargo, no hay muchos que tengan un gran número de pacientes con características similares para poder hacer una correlación directa entre patología y el tratamiento de éxito.

Aun así, hay centros que en la actualidad emplean tanto el OFFA cómo el PRP en mujeres con baja respuesta e insuficiencia ovárica primaria ya que han observado que, aun no siendo la recuperación de ovocitos muy superior, sí que en este tipo de pacientes consiguen una cantidad con la que trabajar y que no tengan que pasar a ovodonación.

En cuanto a la técnica ASCOT, aún no se emplea en clínica, sin embargo, siendo uno de los principales problemas la mejora a largo plazo, esta técnica prevé dar

frutos en ese aspecto por sus ensayos en modelos animales en el que no solo mejora la fertilidad en clínica sino natural. Esto da pie a pensar que avanzará en humanos también en esta dirección y por lo tanto es la técnica que en mi opinión mejor pronóstico presenta.

Aun así, es necesario hacer estudios en los que se incluyan varias de las variables que se emplean en las diferentes técnicas para ver cuál de ellas presenta mejores resultados y así poder estandarizar protocolos. También veo necesarios estudios con una población más amplia para ver realmente si pueden ser técnicas que den solución real a uno de los mayores problemas de las mujeres de esta generación.

Además, cómo se desarrolla en el siguiente apartado, hay nuevas vías de investigación aun en fases anteriores pero que tienen un potencial sustancial.

Finalmente, sería interesante ver la combinación de estas técnicas con otras como por ejemplo la maduración in vitro ovocitaria, que solucionaría el problema a la inmadurez que presentan en muchas ocasiones los ovocitos que se consiguen en la recuperación ovocitaria con las técnicas mencionadas pudiendo aprovechar todos los ovocitos que consigan obtener de los folículos maduros.

## 6. PRESPECTIVAS FUTURAS

Además de las técnicas mencionadas en este trabajo, existen otras en vías de desarrollo que también presentan visiones interesantes en el campo del rejuvenecimiento ovárico. Estas se centran en la senescencia celular y por lo tanto en procesos bien conocidos como el acortamiento de los telómeros y la implicación de las mitocondrias en que las células puedan soportar energéticamente lo que supone el ciclo reproductivo.

En concreto, un problema que también viene con la edad materna avanzada es el número de embriones aneuploides que se generan lo cual se da por gametos con anomalías cromosómicas: además con las técnicas anteriormente desarrolladas, un problema que encuentran es que la ploidía de los gametos es anómala. Esta aneuploidía se da de forma recurrente en ovocitos de edad avanzada por la falta de energía para la organización de los microtúbulos del huso meiótico ya que es uno de los procesos energéticamente más costosos de las células. Por lo tanto, la falta de adenosín trifosfato (ATP) podría explicar la aneuploidía en estas pacientes. Para solventar este problema proponen una transferencia citoplasmática parcial o total heteróloga aún con el problema de heteroplasma que presenta, es decir, la combinación de DNA mitocondrial heterólogo, ya que *E. Labarta et al.* han visto que la transferencia autóloga no presenta buenos resultados en ensayos propios y de otros grupos de investigación (23).

Otra vía en desarrollo es la que están estudiando *Kordowitzki et al.* En bovinos es la relación entre el envejecimiento celular, el acortamiento de los telómeros y la diana de rapamicina de mamíferos ya que han observado que es un agente de envejecimiento mayor que el que hasta ahora se contemplaba que era las especies reactivas de oxígeno (ROS). Con el empleo de rapamicina consiguen una mayor cantidad de ovocitos maduros y alargamiento de sus telómeros en especies bovinas y una cantidad de embriones tempranos que llegan hasta blastocisto, aunque no con datos estadísticamente significativos (24).

## 7. ABREVIATURAS

**FOP** – fallo ovárico prematuro.

**BR** – Baja respuesta.

**POR** – poor ovarian response.

**POI** – Primary ovarian insufficiency

**AMH** – Hormona antimülleriana.

**RFA** – Recuento de folículos antrales.

**PRP** – Plasma rico en plaquetas.

**ASCOT** – “Autologous stem cell ovarian transplantation”.

**OFFA** – Ovarian fragmentation for follicular activation.

**IVA** – In vitro activation

**PDGF** – Platet-derived growth factor

**TGF- $\beta$**  - Transforming growth factor  $\beta$

**FGF** – Fibroblast growth factor

**EGF** – Epidermal growth factor

**IGF-1** – Insulin-like growth factor -1

**HGF** – Factor de crecimiento de hepatocitos

**G-CSF** – Factor estimulante de colonias de granulocitos

**ATP** – Adenosina trifosfato

**ROS** – Reactive oxygen species



## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Ilankoon IMPS, Samarasinghe K, Elgán C. Menopause is a natural stage of aging: a qualitative study. BMC Womens Health. 2021;21(1).
2. Park SU, Walsh L, Berkowitz KM. Mechanisms of ovarian aging. Vol. 162, Reproduction. BioScientifica Ltd.; 2021. p. R19-33.
3. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: Mechanisms and clinical consequences. Vol. 30, Endocrine Reviews. 2009. p. 465-93.
4. Mínguez-Alarcón L, Chavarro JE, Gaskins AJ. Caffeine, alcohol, smoking, and reproductive outcomes among couples undergoing assisted reproductive technology treatments. Vol. 110, Fertility and Sterility. 2018.
5. Polonio AM, García-Velasco JA, Herraiz S. Stem Cell Paracrine Signaling for Treatment of Premature Ovarian Insufficiency. Vol. 11, Frontiers in Endocrinology. Frontiers Media S.A.; 2021.
6. Gonda KJ, Domar AD, Gleicher N, Marrs RP. Insights from clinical experience in treating IVF poor responders. Vol. 36, Reproductive BioMedicine Online. 2018.
7. Jirge PR. Poor ovarian reserve. Vol. 9, Journal of Human Reproductive Sciences. Medknow Publications; 2016. p. 63-9.
8. Venetis CA, Kolibianakis EM, Tarlatzi TB, Tarlatzis BC. Evidence-based management of poor ovarian response. En: Annals of the New York Academy of Sciences. 2010.
9. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L. ESHRE consensus on the definition of 'poor response to ovarian stimulation for in vitro fertilization: The Bologna criteria. Human Reproduction. 2011;26(7):1616-24.

10. Blumenfeld Z. What Is the Best Regimen for Ovarian Stimulation of Poor Responders in ART/IVF? Vol. 11, Frontiers in Endocrinology. Frontiers Media S.A.; 2020.
11. Smolarz B, Szyłło K, Romanowicz H. Endometriosis: Epidemiology, classification, pathogenesis, treatment and genetics (review of literature). Int J Mol Sci. 2021;22(19).
12. Kawamura K, Cheng Y, Suzuki N, Deguchi M, Sato Y, Takae S, et al. Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013;110(43).
13. Fàbregues F, Ferreri J, Méndez M, Calafell JM, Otero J, Farré R. In Vitro Follicular Activation and Stem Cell Therapy as a Novel Treatment Strategies in Diminished Ovarian Reserve and Primary Ovarian Insufficiency. Vol. 11, Frontiers in Endocrinology. 2021.
14. Díaz-García C, Herraiz S, Pamplona L, Subirá J, Soriano MJ, Simon C, et al. Follicular activation in women previously diagnosed with poor ovarian response: a randomized, controlled trial. Fertil Steril. 2022;117(4).
15. Pellicer N, Cozzolino M, Esar Diaz-García C, Galliano D, Cobo A, Pellicer A, et al. Ovarian rescue in women with premature ovarian insufficiency: facts and fiction. Reprod Biomed Online [Internet]. 2023;46:543-65. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j>.
16. Sills ES, Rickers NS, Li X, Palermo GD. First data on in vitro fertilization and blastocyst formation after intraovarian injection of calcium gluconate-activated autologous platelet rich plasma. Gynecological Endocrinology. 2 de septiembre de 2018;34(9):756-60.
17. Sharara FI, Lelea LL, Rahman S, Klebanoff JS, Moawad GN. A narrative review of platelet-rich plasma (PRP) in reproductive medicine. J Assist Reprod Genet [Internet]. 2021;38:1003-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02146-9>

18. Cakiroglu Y, Saltik A, Yuceturk A, Karaosmanoglu O, Kopuk SY, Scott RT, et al. Effects of intraovarian injection of autologous platelet rich plasma on ovarian reserve and IVF outcome parameters in women with primary ovarian insufficiency. *Aging*. 2020;12(11).
19. Parvanov D, Ganeva R, Vidolova N, Nikolova K, Vasileva M, Totev T, et al. Autologous ovarian platelet rich plasma treatment improves oocyte and embryo quality: a before-after prospective study. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 2022;36(1).
20. Herraiz S, Romeu M, Buigues A, Martínez S, Díaz-García C, Gómez-Seguí I, et al. Autologous stem cell ovarian transplantation to increase reproductive potential in patients who are poor responders. *Fertil Steril*. 1 de agosto de 2018;110(3):496-505.e1.
21. Takehara Y, Yabuuchi A, Ezoe K, Kuroda T, Yamadera R, Sano C, et al. The restorative effects of adipose-derived mesenchymal stem cells on damaged ovarian function. *Laboratory Investigation*. 2013;93(2).
22. Buigues A, HS, DGC, RM, MS, & PA. Autologous stem cell ovarian transplantation: a systematic review. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2019;45(5):671-8.
23. Labarta E, de los Santos MJ, Escribá MJ, Pellicer A, Herraiz S. Mitochondria as a tool for oocyte rejuvenation. Vol. 111, *Fertility and Sterility*. Elsevier Inc.; 2019. p. 219-26.
24. Kordowitzki P, Hamdi M, Derevyanko A, Rizos D, Blasco M. The effect of rapamycin on bovine oocyte maturation success and metaphase telomere length maintenance. *Aging*. 2020;12(8).