

Inyección de plasma rico en plaquetas intraovárico en pacientes pobres respondedoras

Injection of intraovarian platelet-rich plasma in poor responders

L Devenuto ¹; G Rey Valzacchi ²; M Ercolano¹; O Etchegoyen³

¹ Médico/a Staff, Centro de Medicina Reproductiva Procreate, Buenos Aires, Argentina

² Director Médico, Centro de Medicina Reproductiva Procreate, Buenos Aires, Argentina

³ Director de Laboratorio Biológico, Centro de medicina Reproductiva Procreate, Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿se pueden mejorar los parámetros de reserva ovárica y la recuperación de ovocitos en pacientes bajas respondedoras que realizan inyección intraovárica de plasma rico en plaquetas (PRP)?

Respuesta resumida: la inyección de PRP intraovárica mejoró los parámetros de reserva ovárica en pacientes bajas respondedoras en un lapso de 3 meses, sin aumentar el número de ovocitos recuperados.

Lo que ya se sabe: se postula que el PRP podría ser beneficioso para retrasar la atresia del folículo y la degeneración de los ovocitos, además de promover el desarrollo de los folículos primordiales y primarios hasta el estadio preantral.

Diseño del estudio: estudio de cohorte prospectivo.

Materiales y métodos: se incluyeron 61 pacientes bajas respondedoras que realizaron inyección de PRP entre octubre 2021 a marzo 2022 en nuestra institución, comparando la función ovárica previa y posterior

ABSTRACT

Study question: *Is it possible to improve ovarian reserve parameters and oocyte retrieval in low responders who undergo intraovarian injection of platelet-rich plasma (PRP)?*

Summary answer: *intraovarian PRP injection improved ovarian reserve parameters in low responders within 3 months, without increasing the number of oocytes retrieved.*

What is already known: *it is postulated that PRP could be beneficial in delaying follicle atresia and oocyte degeneration, as well as promoting the development of primordial and primary follicles up to the pre-antral stage.*

Study design: *prospective cohort study.*

Materials and methods: *we included 61 low responder women who underwent PRP injection between October 2021 to March 2022 in our institution, comparing pre and post PRP ovarian function. In addition, we studied IVF outcomes of a subgroup of patients after*

a la misma. Además, se compararon los resultados de fertilización asistida de un subgrupo de pacientes luego de la intervención con respecto a la última previa.

Resultados: se observó una mejoría de la reserva ovárica con respecto a los valores previos: FSH (14,25 vs. 10,28, $p=0,04$), HAM (0,43 vs. 0,54, $p=0,11$), conteo de folículos antrales (3,86 vs. 5,57, $p=0,001$); así como también un mayor número de embriones evolutivos (0,65 vs. 1,4, $p=0,01$); sin impacto en el número de ovocitos recuperados ni en el número de embriones producidos.

Limitaciones: estudio con pequeño tamaño muestral y corto período de seguimiento, sin resultados de transferencias embrionarias.

Implicancias: la inyección de PRP intraovárico permitiría restaurar la función ovárica y postularse como una alternativa a la ovodonación en pacientes con baja reserva ovárica que no acepten dicho tratamiento y dentro de un marco experimental. Faltan ensayos controlados randomizados que avalen estos hallazgos.

Palabras clave: plasma rico en plaquetas, reserva ovárica, fertilización in vitro.

the intervention with respect to the latest previous one.

Results: an improvement in ovarian reserve was observed in relation to previous values: FSH (14.25 vs. 10.28, $p=0.04$), AMH (0.43 vs. 0.54, $p=0.11$), antral follicle count (3.86 vs. 5.57, $p=0.001$); as well as a higher number of evolved embryos (0.65 vs. 1.4, $p=0.01$); with no impact on the number of oocytes retrieved or the number of embryos produced.

Limitations: the main limitation of this study is the small sample size, the short follow-up period, and the fact that it does not evaluate pregnancy outcomes after embryo transfers.

Implications: although experimental, intraovarian PRP could restore ovarian function and be postulated as an alternative to oocyte donation in patients with low ovarian reserve who do not accept this treatment. There is a lack of randomized controlled trials to support these findings.

Keywords: platelet-rich plasma, ovarian reserve, in vitro fertilization.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la insuficiencia ovárica producto del envejecimiento ovárico de mujeres con edad reproductiva avanzada, constituye una de las principales causas de infertilidad en el mundo^[1]. La misma implica una disminución tanto en la cantidad como en la calidad de los ovocitos, con el consecuente compromiso en los resultados de tratamientos de fertilización asistida, en lo que respecta a las bajas tasas de fertilización y de blastulación y las altas tasas de aneuploidías embrionarias^[2].

Las mujeres denominadas “pobres respondedoras”, definidas por la combinación de ciertos parámetros de reserva ovárica disminuidos y baja recuperación de ovocitos tras la estimulación ovárica, presentan un envejecimiento ovárico acelerado^[3]. Esta población representa entre el 9 y el 24% de pacientes que realizan fertilización in vitro (FIV), lo que implica que hasta una de cada cuatro pacientes tendrá un mal pronóstico reproductivo^[4,5].

Recientemente se han introducido diferentes enfoques orientados a mejorar este pronóstico, sin embargo, aún no se ha logrado identificar estrategias lo suficientemente efectivas. Dentro de un marco experimental, con el fin de promover la activación de folículos y aumentar el número de ovocitos recuperados, se ha descrito la fragmentación ovárica con o sin activación in vitro y posterior autotrasplante^[6]; así como también el trasplante ovárico autólogo de células madre^[7]. Dichas técnicas son invasivas y aún no se han desarrollado ensayos randomizados que demuestren su eficacia.

En la misma línea, un procedimiento mucho menos invasivo y que también se encuentra en etapa de investigación, es la inyección intraovárica de plasma

rico en plaquetas (PRP). Se trata de un concentrado derivado de sangre entera centrifugada que contiene hasta siete veces más plaquetas con respecto a las del suero circulante, y sus propiedades regenerativas radican en sus altas concentraciones de factores de crecimiento como: TGF- β (transforming growth factor- β), IGF-1 e IGF-2 (insulin-like growth factors 1 and 2), VEGF (vascular endothelial growth factor), EGF (epidermal growth factor), bFGF (basic fibroblast growth factor) y HGF (hepatocyte growth factor)^[8]. Varios de estos factores promueven la cicatrización y la regeneración de los tejidos al inducir la quimiotaxis, la migración y la diferenciación celular. Además, contribuyen a la angiogénesis y a los cambios inflamatorios que desempeñan un papel fundamental en la reparación y regeneración de los tejidos^[9,10].

Se cree que el PRP podría ser beneficioso para retrasar la atresia del folículo y la degeneración de los ovocitos^[8], además de promover el desarrollo de los folículos primordiales y primarios hasta el estadio preantral^[11]. Otro de los beneficios a destacar es que, como preparado autógeno, el tratamiento con PRP elimina los riesgos de enfermedades transmisibles y el rechazo inmunológico^[12].

El objetivo del presente estudio fue caracterizar los parámetros de reserva ovárica y los resultados de la FIV en una cohorte de mujeres bajas respondedoras tratadas con inyección intraovárica de PRP autólogo.

Como hipótesis nos planteamos que la inyección intraovárica de plasma rico en plaquetas (PRP) puede mejorar los parámetros de reserva ovárica y la recuperación de ovocitos en pacientes bajas respondedoras que realizan un tratamiento de reproducción asistida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio y selección de pacientes

Estudio observacional de cohorte prospectivo de parámetros de reserva ovárica y de resultados de FIV en mujeres bajas respondedoras luego de la inyección intraovárica de PRP autólogo. El mismo fue llevado a cabo en un Centro de Medicina Reproductiva de Buenos Aires, desde octubre de 2021 a marzo de 2022.

Se incluyeron 61 pacientes menores a 45 años de edad, todas con antecedente de al menos un tratamiento de fertilización asistida con recuperación de menos de 5 ovocitos y/o perfil de baja reserva ovárica (Poseidon 1,2, 3 y 4).

La baja reserva ovárica fue definida como: hormona antimulleriana (HAM) <1 ng/ml y/o conteo de folículos antrales en fase folicular temprana <5.

Se excluyeron pacientes con enfermedad oncológica activa, antecedentes de quimio o radioterapia, enfermedad cardíaca grave, endometriosis ovárica y/o profunda, poliquistosis ovárica, enfermedad de transmisión sexual activa, múltiples cirugías pélvicas previas, trastorno conocido en la función plaquetaria, plaquetopenia moderada-severa, coagulopatías y tratamiento anticoagulante.

Se evaluó la función ovárica en cada paciente mediante estudios hormonales (FSH, LH, estradiol y HAM) y ecografía transvaginal con conteo de folículos antrales, comparando resultados previos (dentro de los 6 meses) y a los 3 meses posteriores al procedimiento. Además, en las pacientes que realizaron tratamiento de fertilidad de alta complejidad, se compararon los resultados de fertilización y desarrollo embrionario posteriores a la inyección de PRP con respecto al último tratamiento realizado antes de la misma.

Todas las mujeres incluidas en el estudio

firmaron un consentimiento informado previo, en el cual se aclaraba el enfoque experimental del procedimiento, así como también los posibles riesgos asociados, que debían aceptar. Los pacientes que decidieron participar

devolvieron a la clínica una copia firmada del formulario de consentimiento informado.

Procedimientos

Por cada paciente se extrajeron 60 ml de sangre en condiciones estériles de la vena antebraquial mediana entre hora y media y dos horas antes de la inyección intraovárica. En todos los casos se indicó no consumir aspirina durante 7 días previos al procedimiento y ayuno mínimo de 6 horas.

La sangre se colocó en dos tubos estériles de 50 ml con 7,5 ml de ACD-A (relación 1 vol ACD-A : 4 vol sangre). Se realizó doble centrifugación a 2000 y 2500 rpm, durante 6 y 10 min respectivamente. Se suspendió y homogeneizó el concentrado de plaquetas en 7,5 ml de plasma autólogo a una concentración de $1,5 \times 10^6$ /ul. Se agregó 2,5 ml de solución fisiológica dado que la dilución aumenta el efecto regenerativo y de neovascularización ya que diluye factores de crecimiento que inhiben esta función. Posteriormente se colocó la suspensión en heladera a 4°C durante 30 min y se activó con Cl_2Ca 22-25 mM al 10%, es decir para 10 ml se agregó 1 ml de Cl_2Ca . Todo el procesamiento de la muestra de sangre y preparación del PRP, se realizó en ambiente de acceso restringido, bajo condiciones de asepsia y empleando campana de flujo laminar.

Previo a la intervención, se realizó una evaluación del estado general de las pacientes mediante hemograma, coagulograma, función renal, electrocardiograma y serologías (HIV, hepatitis B, hepatitis C,

sífilis). Además, se evaluaron parámetros de reserva ovárica con perfil hormonal (FSH, LH, estradiol y HAM) y ecografía transvaginal con recuento de folículos antrales entre el segundo y el cuarto día del ciclo menstrual.

La inyección de PRP se realizó en todos los casos al menos 2 meses posteriores al último tratamiento de fertilidad fallido, en fase folicular (día 7 a 10 del ciclo menstrual). Se realizaron entre 1 a 3 aplicaciones consecutivas mensuales. La preparación de la paciente se realizó de acuerdo a protocolo de punción aspiración ovárica de nuestra institución, en litotomía dorsal bajo anestesia local o neuroleptoanestesia. En primera instancia se procedió a la visualización de ambos ovarios por ecografía transvaginal, accediendo a la porción central de los mismos mediante una aguja con lumen único de 17 GA/30 cm Cook®. Posteriormente se realizó la infusión gradual en el área subcortical y estromal, empleando 3 ml de PRP activado por ovario, a través de una jeringa de 5 ml conectada al tapón de silicona de la aguja. Aunque los ovarios de pacientes de edad materna avanzada y pobres respondedoras pueden ser pequeños y fibróticos, la inyección se logró mediante la creación de nuevos planos mediante la distensión y la inyección en múltiples sitios. El tiempo máximo empleado fue de 20 minutos.

Después del procedimiento, las pacientes fueron llevadas a la sala de recuperación y dadas de alta el mismo día después de un período de observación de 30-40 minutos. Se indicó antibioticoprofilaxis de acuerdo a protocolo de punción folicular de nuestra institución. Luego de la intervención se examinó la pelvis minuciosamente mediante ecografía, con el fin de comprobar integridad vascular total. Se recomendó la posición supina durante los 15 minutos

posteriores a la infusión.

Durante el tercer mes posterior a la inyección, se realizó un monitoreo de la función ovárica mediante perfil hormonal (FSH, LH, estradiol y HAM) y conteo de folículos antrales por ecografía transvaginal, entre días 2 a 5 del ciclo menstrual.

De acuerdo a la respuesta obtenida (al menos 3 folículos antrales visualizados por ecografía transvaginal) y a los deseos de la pareja, se indicó un tratamiento de fertilidad de alta complejidad en el tercer ciclo menstrual posterior al procedimiento, empleando un protocolo con antagonistas de GnRH y 300 UI de gonadotrofinas (filitropina alfa y/o gonadotrofina menopáusica humana) desde el día 2 del ciclo. Se prescribió antagonista de GnRH con folículo de al menos 14 mm de diámetro y/o estradiol de 300-400 pg/ml. La descarga de la ovulación fue desencadenada con gonadotrofina coriónica humana recombinante con folículo de al menos 18 mm de diámetro. Se realizó la punción aspiración ovocitaria a las 36 horas de la descarga e inseminación por ICSI.

Análisis estadístico

Se describieron las variables cuantitativas mediante media y desvío estándar. Se compararon las diferencias en las variables cuantitativas entre los grupos con t-test. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas a las probabilidades menores a 0.05. El análisis estadístico se realizó con el software Epi Info 7.2.5.0.

RESULTADOS

Las 61 pacientes incluidas en el estudio tenían una edad promedio de 39,85 años (33-44) al momento del procedimiento, habían realizado entre 1 a 6 estímulos previos para alta complejidad (media de 1,72) y el 78,68% (48) de ellas realizó una única

inyección de PRP. El 9,83% (6 pacientes) realizó dos inyecciones mensuales consecutivas y el otro 11,47% (7 pacientes), 3 inyecciones mensuales consecutivas.

En lo que respecta a la función ovárica, se observó una mejoría en los valores de HAM, FSH y en el conteo de folículos antrales posterior a la inyección de PRP, resultando estos dos últimos parámetros estadísticamente significativos (Tabla 1). Dado el reducido número de pacientes que realizaron dos o tres infusiones consecutivas, no se analizaron resultados

estratificando por dicha variable.

Se realizó un subanálisis de los resultados de acuerdo a diferentes rangos etarios categorizados como grupo 1 (menores a 40 años), grupo 2 (40 a 42 años) y grupo 3 (mayores a 42 años). Si bien, las pacientes más beneficiadas en lo que respecta a la función ovárica fueron las menores de 42 años, la diferencia estadísticamente significativa en los valores de FSH y recuento de folículos antrales, solo se mantuvo en el grupo 1 (16,36 vs. 8,33, $p=0,04$; y 3,73 vs. 6,2, $p=0,007$) (Tabla 2).

Tabla 1. Resultados hormonales y conteo de folículos antrales

	Pre PRP	Post PRP	P
FSH (mUI/ml)	14,25 ± 8,70	10,28 ± 6,80	0,04
LH (mUI/ml)	6,86 ± 3,27	7 ± 7,28	0,90
Estradiol (pg/ml)	58,95 ± 66,99	65,10 ± 55	0,70
HAM (ng/ml)	0,43 ± 0,32	0,54 ± 0,45	0,11
Conteo folículos antrales	3,86 ± 2,28	5,57 ± 2,98	0,001

Tabla 2. Resultados hormonales y conteo de folículos antrales por edad

Grupo	Pre PRP	Post PRP	P
Grupo 1 (<40 años)			
FSH (mUI/ml)	16,36±10,26	8,33±3,92	0,04
LH (mUI/ml)	7,06±1,81	5,67±2,66	0,26
Estradiol (pg/ml)	44±18	49,73±25,68	0,69
HAM (ng/ml)	0,51±0,32	0,70±0,60	0,33
Conteo folículos antrales	3,73±2,78	6,2±3,27	0,007
Grupo 2 (40-42 años)			
FSH (mUI/ml)	14,66±8,16	9,57±5,49	0,17
LH (mUI/ml)	6,88±4,21	5,4±4,19	0,38
Estradiol (pg/ml)	47,87±20,57	69,34±63,17	0,31
HAM (ng/ml)	0,44±0,38	0,56±0,37	0,09
Conteo folículos antrales	4,22±1,09	5,77±3,34	0,13
Grupo 3 (>42 años)			
FSH (mUI/ml)	12,37±8,88	12,38±9,31	0,99
LH (mUI/ml)	6,72±3,17	9,72±11,04	0,34
Estradiol (pg/ml)	84,01±113,51	71,32±63,92	0,77
HAM (ng/ml)	0,28±0,23	0,29±0,24	0,84
Conteo folículos antrales	3,75±2,3	4,78±2,02	0,23

Al momento de escribir este trabajo, se realizaron 34 procedimientos de fertilización asistida, todos ellos se indicaron al tercer ciclo post inyección de PRP intraovárico. Se realizó un análisis de estos casos comparando los resultados de fertilización posteriores a la inyección de PRP con respecto al último tratamiento de alta complejidad previos a la misma en cada caso. La edad promedio de estas pacientes fue de 39,64 años (33-44). Se constataron 4 fallas de respuesta a la estimulación. Dentro de esta cohorte, hubo 6 pacientes que realizaron vitrificación de ovocitos para maternidad diferida; en el 86,95% (26 pacientes) de los casos se realizó ICSI y en el 13,04% (4 pacientes), FIV.

Se observó una mejoría significativa de la reserva ovárica con respecto a los valores previos (evaluada por FSH, HAM y conteo de folículos antrales); mientras que los resultados de fertilización previos y posteriores al procedimiento fueron similares.

De las pacientes que realizaron la punción aspiración folicular, el 93,33% (28 pacientes) tuvo al menos un ovocito en metafase II.

Como dato relevante, mientras que la cantidad de embriones producidos fue semejante, se obtuvo una mejoría significativa en el número de embriones evolutivos luego del tratamiento con PRP (Tabla 3).

No hubo complicaciones ni efectos adversos en los casos realizados durante el período de este estudio.

DISCUSIÓN

La inyección intraovárica de PRP fue introducida recientemente como una alternativa a la donación de óvulos en pacientes con pobre pronóstico reproductivo^[13].

En lo que respecta a su mecanismo de acción, se proponen dos hipótesis: la más controvertida introduce el concepto de neo-ovogénesis sugiriendo la presencia de células madre ováricas como fuente de ovocitos en ovarios adultos^[14]. Numerosos estudios han demostrado que es posible obtener células germinales mitóticamente activas de tejido ovárico adulto sano en ratones y humanos^[15,16]; sin embargo, no hay evidencia de que la reactivación espontánea de las células madre se produzca de forma natural in vivo en el ovario humano adulto.

Tabla 3. Resultados en pacientes sometidas a FIV

	Pre PRP	Post PRP	P
FSH (mUI/ml)	16,44 ± 9,63	8,89 ± 4,13	0,01
LH (mUI/ml)	6,58 ± 4,13	5,91 ± 3,75	0,64
Estradiol (pg/ml)	44,15 ± 20,17	43,6 ± 22,7	0,95
HAM (ng/ml)	0,43 ± 0,27	0,64 ± 0,40	0,05
Conteo de folículos antrales	4,52 ± 2,12	6,30 ± 2,81	0,01
Número de ciclos de FIV	2,09 ± 1,25	1 ± 0	0,001
Número de ovocitos recuperados	3,32 ± 2	3,04 ± 2,4	0,56
Número de MII	2,91 ± 1,86	2,62 ± 2,12	0,47
Número de ovocitos inseminados	3,2 ± 2	2,9 ± 1,99	0,60
Número de embriones fertilizados en 2 PN	2 ± 1,65	1,9 ± 1,41	0,83
Número de embriones fertilizados anormales	0,4 ± 0,59	0,2 ± 0,52	0,21
Número de embriones producidos	1,95 ± 1,60	1,7 ± 1,41	0,59
Número de embriones evolutivos	0,65 ± 0,81	1,4 ± 1	0,01

Otra de las hipótesis sugiere que el PRP permitiría activar el desarrollo y maduración de folículos primordiales “durmientes” o quiescentes, aumentando el pool de folículos ovulatorios^[14].

Los factores de crecimiento derivados de PRP incluyen múltiples proteínas reguladoras que se unen a los receptores de la membrana celular y median importantes mensajes químicos. Mediante esta interacción se desencadenan mecanismos de señalización inter e intracelulares que dirigen el crecimiento, proliferación y diferenciación celular^[13]. A diferencia de las hormonas, los factores de crecimiento del PRP actúan únicamente en la proximidad de su sitio de liberación, jugando un rol importante en la restauración del nicho ovárico, principalmente mediante la promoción de procesos fisiológicos de angiogénesis, proliferación y crecimiento, apoptosis, control de la inflamación y migración celular^[17-20].

En la última década, se han reportado numerosos estudios que reportan que la inyección de plasma directamente en el ovario, permite aumentar la foliculogénesis y restaurar la función ovárica y el perfil hormonal, con la consecuente mejoría en la recuperación de ovocitos en pacientes sometidas a fertilización asistida^[21]. Los primeros resultados con la utilización de esta técnica fueron reportados por Pantos et al, quienes demostraron la posibilidad de restaurar la función ovárica en una cohorte de 8 mujeres perimenopáusicas sometidas a FIV, con recuperación ovocitaria exitosa^[22].

En este estudio investigamos si la inyección intraovárica de PRP permite mejorar la reserva ovárica y los resultados de FIV en pacientes bajas respondedoras. Demostramos una mejoría en la función ovárica de estas pacientes mediante una

disminución en los valores de FSH y aumento de la HAM, así como también un incremento en el número de folículos antrales visualizados por ecografía. Dichos hallazgos son similares a los reportados por un estudio reciente de 510 mujeres bajas respondedoras, en el que se compararon los valores hormonales y conteo de folículos antrales pre y post inyección de PRP, resultando en una disminución de FSH (20,6 UI/ml vs. 16,4 UI/ml; $p < 0,001$) aumento de HAM (0,35 ng/ml vs. 0,53 ng/ml; $p < 0,001$) y aumento en el conteo de folículos antrales (2,6 vs. 4,2; $p < 0,001$)^[3]. Este mismo estudio evaluó el impacto de diferentes variables en los resultados obtenidos, y calculó la edad de 40 años como punto de corte para las pacientes que no se beneficiarían del PRP debido a la ausencia de respuesta ovárica (sensibilidad de 61,54 y especificidad de 73,77). En nuestro estudio, todas las pacientes presentaron un aumento en el recuento de folículos antrales luego del procedimiento; sin embargo tanto este parámetro como el valor de FSH sólo mejoraron de manera significativa en las pacientes de menos de 40 años de edad.

Creemos que podría ser de utilidad realizar un ajuste de resultados por otras variables, como por ejemplo la reserva ovárica basal, lo cual permitiría seleccionar dentro de la muestra las mejores candidatas para esta técnica. Para ello, necesitamos poder incluir un mayor número de pacientes.

Un ensayo prospectivo controlado no randomizado que comparó 46 pacientes con baja reserva ovárica que realizaron la inyección de PRP (grupo estudio) vs. 37 que no lo hicieron (grupo control), demostró a los 3 meses de seguimiento una mejora significativa en la FSH, HAM y conteo de folículos antrales en el grupo de estudio, mientras que no hubo cambios en el grupo de control^[8]. Otros investigadores

experimentaron hallazgos similares^[21,23-26].

En lo que respecta a los resultados de fertilización asistida, si bien el número de pacientes incluidas es bajo, no pudimos demostrar una mejora en el número de ovocitos recuperados, número de ovocitos en metafase II, tasa de fertilización, número de embriones fertilizados en 2 pronúcleos y número de embriones producidos. Sin embargo, fue llamativamente mayor el número de embriones evolutivos en el grupo que realizó la intervención. Este factor podría explicarse por la hipótesis de la coexistencia de células madre en el ovario como fuente de ovocitos nuevos, susceptibles de ser activadas mediante los factores proangiogénicos, proliferativos y proinflamatorios proporcionados por las plaquetas, como el VEGF y la esfingosina 1 fosfato^[27]. Por lo tanto, podemos inferir que pese a que no detectamos un impacto a nivel cuantitativo en lo que respecta al número de ovocitos recuperados y tasa de fertilización post PRP, obtuvimos un mayor porcentaje de embriones de buena calidad aptos para transferir y/o congelar luego del procedimiento.

A diferencia de nuestros hallazgos, Cakiroglu et al., obtuvo un aumento significativo en el número de ovocitos recuperados (2,2 vs. 3,4; $p < 0.001$), número de ovocitos en metafase II (1,7 vs. 2,7; $p < 0,001$), tasa de fertilización (57,6 vs. 66,9; $p = 0,008$) y número de embriones fertilizados en 2 pronúcleos (1,3 v. 2,1; $p < 0,001$)^[3]. Cabe destacar que en este último estudio sólo se compararon resultados de pacientes en las cuales se habían recuperado ovocitos en la punción, sin incluir ni reportar los casos de falla de recuperación ovocitaria, lo cual puede ser causa de sesgo. En nuestro trabajo, incluimos en el análisis de datos aquellos casos en los cuales no se habían recuperado ovocitos. Otros estudios

también reportaron mejoría en los parámetros de fertilización asistida, así como también disminución en las tasas de cancelación^[21,24,28].

Con respecto a la muestra de este estudio, dado que se trata de una técnica que está en etapa de investigación, decidimos incluir a pacientes con indicación de ovodonación pero que no acepten dicha alternativa; por lo cual seleccionamos específicamente a aquellas categorizadas como Poseidon 3 o 4, con la particularidad de haber realizado al menos un intento de alta complejidad con una respuesta subóptima (menos de 5 ovocitos recuperados). A la vez, incluimos aquellas que realizaron 2 o más tratamientos de alta complejidad con esta misma respuesta, independientemente de la reserva ovárica; esto es porque en nuestra institución luego de dos intentos fallidos con óvulos propios, la principal sugerencia es la ovodonación.

La decisión de esperar 3 ciclos post procedimiento se basó en el conocimiento de que el desarrollo folicular lleva un promedio de 90 a 120 días desde el reclutamiento del folículo primordial hasta el desarrollo del folículo antral, sosteniendo la hipótesis de que el PRP permitiría estimular el desarrollo de folículos pre antrales y retrasar la atresia.

Una de las fortalezas de este estudio es su naturaleza prospectiva así como también la utilización de un protocolo unificado, con preparación del PRP 2 horas antes del procedimiento, realizado por el mismo operador. A la vez, destacamos el diseño comparativo, que permitió incluir a la misma cohorte de pacientes como su grupo control, controlando de esta forma las diferencias en las variables demográficas.

Una de las principales limitaciones es el bajo tamaño muestral y el corto período de seguimiento, ya que sólo evaluamos el

resultado de la primera FIV, desconociendo hasta esta instancia las implicancias a largo plazo. Por otro lado, sería interesante conocer si el aumento en el número de embriones evolutivos impacta en las tasas de embarazo y nacidos vivos posteriores a las transferencias embrionarias, dato que no contamos al momento de escribir este trabajo pero que nos proponemos analizar en el futuro cercano.

Finalmente, es importante destacar que existe en la literatura una amplia heterogeneidad en los protocolos de esta técnica, en lo que respecta a múltiples factores como: volumen de sangre procesada, volumen de plasma inyectado, método de preparación/activación de plaquetas, vía de inyección de plasma, momento del ciclo, número de infusiones a realizar, seguimiento, tiempo hasta indicar tratamiento de fertilización asistida, definición de baja respondedora. Asimismo, la evidencia por el momento se

basa principalmente en series de casos, o bien en estudios piloto prospectivos controlados y no controlados, todos no randomizados. Por estos motivos consideramos que dicha técnica debería ser considerada por el momento experimental.

CONCLUSIÓN

En el presente estudio, la inyección de PRP intraovárica mejoró los parámetros de reserva ovárica en pacientes bajas respondedoras en un lapso de 3 meses. No se obtuvo una mejoría en resultados de fertilización asistida en términos cuantitativos, aunque hubo un mayor porcentaje de embriones evolutivos posterior a la intervención. El reducido número de participantes nos impide establecer una relación de causalidad entre el tratamiento con PRP y la calidad de los embriones. Se requieren ensayos controlados aleatorios más amplios para validar nuestros hallazgos.

REFERENCIAS

1. Female age-related fertility decline. Fertility and Sterility. 2014. pp. 633–634. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.12.032
2. Kasapoğlu I, Seli E. Mitochondrial Dysfunction and Ovarian Aging. Endocrinology. 2020;161. doi:10.1210/endo/bqaa001
3. Cakiroglu Y, Yuceturk A, Karaosmanoglu O, Kopuk SY, Korun ZEU, Herlihy N, et al. Ovarian reserve parameters and IVF outcomes in 510 women with poor ovarian response (POR) treated with intraovarian injection of autologous platelet rich plasma (PRP). Aging . 2022;14: 2513–2523. doi:10.18632/aging.203972
4. Ubaldi FM, Rienzi L, Ferrero S, Baroni E, Sapienza F, Cobellis L, et al. Management of poor ovarian responders in IVF. Reproductive BioMedicine Online. 2005. pp. 235–246. doi:10.1016/s1472-6483(10)60946-7
5. Vaiarelli A, Cimadomo D, Ubaldi N, Rienzi L, Ubaldi FM. What is new in the management of poor ovarian response in IVF? Current Opinion in Obstetrics & Gynecology. 2018. pp. 155–162. doi:10.1097/gco.0000000000000452
6. Devenuto L, Quintana R, Quintana T. activation of ovarian cortex and autologous transplantation: A novel approach to primary ovarian insufficiency and diminished ovarian reserve. Hum Reprod Open.

- 2020;2020. doi: 10.1093/hropen/hoaa046
7. Website. Available: Herraiz S, Romeu M, Buigues A, Martínez S, Díaz-García C, Gómez-Seguí I, Martínez J, Pellicer N, Pellicer A. Autologous stem cell ovarian transplantation to increase reproductive potential in patients who are poor responders. *Fertil Steril*. 2018; 110:496–505.e1. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.04.025> PMID:29960701
 8. Melo P, Navarro C, Jones C, Coward K, Coleman L. The use of autologous platelet-rich plasma (PRP) versus no intervention in women with low ovarian reserve undergoing fertility treatment: a non-randomized interventional study. *J Assist Reprod Genet*. 2020;37: 855–863. doi: 10.1007/s10815-020-01710-z
 9. Dhurat R, Sukesh MS. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*. 2014. p. 189. doi:10.4103/0974-2077.150734
 10. Everts P, Onishi K, Jayaram P, Lana JF, Mautner K. Platelet-Rich Plasma: New Performance Understandings and Therapeutic Considerations in 2020. *Int J Mol Sci*. 2020;21. doi:10.3390/ijms21207794
 11. Hosseini L, Shirazi A, Naderi MM, Shams-Esfandabadi N, Borjian Boroujeni S, Sarvari A, et al. Platelet-rich plasma promotes the development of isolated human primordial and primary follicles to the preantral stage. *Reprod Biomed Online*. 2017;35: 343–350. doi: 10.1016/j.rbmo.2017.04.007
 12. Park H-S, Ulin M, Cetin E. Ovarian Rejuvenation Using Platelet-Rich Plasma: a Promising Option for Women in Early Menopause to Have a Baby. *Reprod Sci*. 2020;27: 1983–1984. doi: 10.1007/s43032-020-00315-2
 13. Sills ES, Scott Sills E, Scott Sills E, Petersen JL, Rickers NS, Wood SH, et al. Regenerative Effect of Intraovarian Injection of Activated Autologous Platelet Rich Plasma: Serum Anti-Mullerian Hormone Levels Measured Among Poor-Prognosis In Vitro Fertilization Patients. *International Journal of Regenerative Medicine*. 2020. pp. 1–5. doi:10.31487/j.rgm.2020.01.02
 14. Seckin S, Ramadan H, Mouanness M, Kohansieh M, Merhi Z. Ovarian response to intraovarian platelet-rich plasma (PRP) administration: hypotheses and potential mechanisms of action. *J Assist Reprod Genet*. 2022;39: 37–61. doi: 10.1007/s10815-021-02385-w
 15. Zou K, Yuan Z, Yang Z, Luo H, Sun K, Zhou L, et al. Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. *Nat Cell Biol*. 2009;11: 631–636. doi: 10.1038/ncb1869
 16. White YAR, Woods DC, Takai Y, Ishihara O, Seki H, Tilly JL. Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. *Nat Med*. 2012;18: 413–421. doi: 10.1038/nm.2669
 17. Alves R, Grimalt R. A Review of Platelet-Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. *Skin Appendage Disorders*. 2018. pp. 18–24. doi:10.1159/000477353
 18. Krüger JP, Freymann U, Vetterlein S, Neumann K, Endres M, Kaps C. Bioactive Factors in Platelet-Rich Plasma Obtained by Apheresis. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2013. pp. 4–4. doi:10.1159/000356329
 19. Ozcan P, Takmaz T, Tok OE, Islek S, Yigit EN, Ficicioglu C. The protective effect of platelet-rich plasma administrated on ovarian function in female rats with Cy-induced ovarian damage. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2020. pp. 865–873. doi:10.1007/s10815-020-01689-7
 20. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-Rich Plasma. *The American Journal of Sports Medicine*. 2009. pp. 2259–2272. doi:10.1177/0363546509349921
 21. Sfakianoudis K, Simopoulou M, Grigoriadis

- S, Pantou A, Tsioulou P, Maziotis E, et al. Reactivating Ovarian Function through Autologous Platelet-Rich Plasma Intraovarian Infusion: Pilot Data on Premature Ovarian Insufficiency, Perimenopausal, Menopausal, and Poor Responder Women. *J Clin Med Res.* 2020;9. doi:10.3390/jcm9061809
22. Pantos K. Ovarian rejuvenation and folliculogenesis reactivation in peri-menopausal women after autologous platelet-rich plasma treatment. doi:10.26226/morressier.573c1512d462b80296c98880
23. Sills ES, Rickers NS, Li X, Palermo GD. First data on in vitro fertilization and blastocyst formation after intraovarian injection of calcium gluconate-activated autologous platelet rich plasma. *Gynecol Endocrinol.* 2018;34: 756–760. doi: 10.1080/09513590.2018.1445219
24. Panda SR, Sachan S, Hota S. A Systematic Review Evaluating the Efficacy of Intra-Ovarian Infusion of Autologous Platelet-Rich Plasma in Patients With Poor Ovarian Reserve or Ovarian Insufficiency. *Cureus.* 2020. doi:10.7759/cureus.12037
25. Pacu I, Zygouropoulos N, Dimitriu M, Rosu G, Ionescu CA. Use of platelet-rich plasma in the treatment of infertility in poor responders in assisted human reproduction procedures. *Exp Ther Med.* 2021;22: 1412. doi: 10.3892/etm.2021.10848
26. Petryk N, Petryk M. Ovarian Rejuvenation Through Platelet-Rich Autologous Plasma (PRP)—a Chance to Have a Baby Without Donor Eggs, Improving the Life Quality of Women Suffering from Early Menopause Without Synthetic Hormonal Treatment. *Reproductive Sciences.* 2020. pp. 1975–1982. doi:10.1007/s43032-020-00266-8
27. Atkinson L, Martin F, Sturmey RG. Intraovarian injection of platelet-rich plasma in assisted reproduction: too much too soon? *Hum Reprod.* 2021;36: 1737–1750.
28. Sfakianoudis K, Simopoulou M, Nitsos N, Rapani A, Pantou A, Vaxevanoglou T, et al. A Case Series on Platelet-Rich Plasma Revolutionary Management of Poor Responder Patients. *Gynecol Obstet Invest.* 2019;84: 99–106. doi: 10.1159/000491697.