

Reporte de caso

Bioregeneración en infertilidad con el uso de Ozono y PRP Ozonizado: Revisión de la literatura y reporte de dos casos.

Bioregeneration in infertility with the use of Ozone and Ozonized PRP: Review of the literature and Report of Two Cases

Renato Martin Venegas Flores

Medicina fetal y reproductiva, Hospital Español, Ciudad de México, México

Palabras clave

Plasma rico en plaquetas, ozono, falla de implantación, endometrio refractario, ventana endometrial, nanodominios, NfKb, Nfr2, ozonidos, estrés oxidativo, factores de crecimiento.

Resumen

Los trastornos reproductivos en la actualidad se han convertido en un problema de salud pública. Objetivo: mostrar dos casos en del uso de las terapias bio-regenerativas basadas en el plasma rico en plaquetas ozonizado (PRP-O3) como coadyuvantes en el manejo y tratamiento de la pareja estéril, una de ellas con endometrio refractario, con dos fallos de inseminación intrauterina (IIU) y dos de fertilización in vitro (FIV) y otra con salpingitis y oclusión tubaria, posterior a dos perdidas y secuelas de legrado uterino instrumental.

Resultados: en los dos casos manejados se obtuvieron embarazos mejorando el grosor endometrial, inmunomodulando el proceso inflamatorio pélvico y mejorando el metabolismo de energía y resistencia vascular en los diferentes pacientes en los que se empleó esta terapia.

Conclusiones: las terapias bio-regenerativas a base de PRP-O3 es económica accesible, fácil de aplicar y al ser autóloga tiene bajo riesgo de reacciones adversas ya sea inmunológicas o infecciosas..

Keywords

Platelet-rich plasma, ozone, implantation failure, refractory endometrium, endometrial window, nanodomains, NfKb, Nfr2, ozonides, oxidative stress, growth factors

Abstract

Reproductive disorders have now become a public health problem. Objective: to show two cases of the use of bio-regenerative therapies based on ozonized platelet-rich plasma (PRP-O3) as adjuvants in the management and treatment of the infertile couple, one of them with refractory endometrium, with two failures of intrauterine insemination (IUI) and two in vitro fertilization (IVF) and another with salpingitis and tubal occlusion, after two losses and sequelae of instrumental uterine curettage.

Results: in the two cases managed, pregnancies were obtained by improving endometrial thickness, immunomodulating the pelvic inflammatory process and improving energy metabolism and vascular resistance in the different patients in whom this therapy was used.

Conclusions: bio-regenerative therapies based on PRP-O3 are affordable, easy to apply and, being autologous, have a low risk of adverse reactions, whether immunological or infectious..

Sugerencia sobre cómo citar este artículo:

Renato Martín Venegas Flores (2022). Bioregeneración en infertilidad con el uso de Ozono y PRP Ozonizado: Revisión de la literatura y reporte de dos casos. *Ozone Therapy Global Journal* Vol. 12, nº 1, pp 151-169

Introducción

Los trastornos reproductivos en actuales se han convertido en un problema de salud pública. Los costes elevados de educación de los médicos y de los pacientes son una necesidad para la sanidad pública y privada. Partiendo que la reproducción es una acción inalterable de un derecho humano, la investigación en diversas técnicas de reproducción asistida cada vez tiene un presupuesto mayor para el diagnóstico y tratamiento de la pareja estéril. Debido a los costos elevados del protocolo de estudio, de los medicamentos de inducción de ovulación y de las terapias de reproducción asistida, es absolutamente necesario el manejo del terreno biológico del paciente al cual se van a ofrecer este tipo de terapias con la finalidad de aumentar la tasa de éxito y mantener un saneamiento adecuado durante el embarazo. (1)

Independientemente de las causas primarias que condicionan esterilidad, como endometriosis, alteraciones anatómicas, edad avanzada, infecciones, desordenes metabólicos, la regulación de del microambiente celular es indispensable. El estrés oxidativo y las alteraciones metabólicas que condicionan disfunción mitocondrial y posteriormente alteraciones en la membrana celular que de manera negativa intervienen en el estado físico-bioquímico de la misma con la subsecuente alteración del microambiente celular. El daño del epitelio endotelial traerá consigo hipoxia tisular producción excesiva de radicales libres, alteración de las vías de señalización inadecuada, expresión genética modificada y disfunción de los órganos y sistemas. Por tal motivo es necesario mantener un diagnóstico y tratamiento global del terreno biológico, del sistema REDOX y por ende del estado metabólico y funcional del paciente antes de proceder a estos tratamientos.(2)

Terapias Bio-Regenerativas

La aplicación de nuevas terapias en este siglo, basadas en la bio-regeneración fueron y descritas por Haseltine, tiene como principio básico la estimulación de los sistemas propios de regeneración tisular con el fin de mejorar y aumentar la respuesta de nuestro propio organismo a los daños secundarios a la inflamación crónica no controlada y a la hipoxia tisular.(2,3,4,5,6)

Estrés Oxidativo

En la actualidad el microambiente celular es el objetivo del tratamiento de cualquier enfermedad principalmente en aquellas degenerativas con inflamación crónica localizada o sistémica. (2) El entendimiento de la ingeniería tisular y las vías de señalización de nuestro cuerpo han hecho que el conocimiento de la biología molecular en la célula sea la base del manejo del terreno biológico para eficiente o coadyuvar a las demás terapias farmacológicas.

La hipoxia tisular en el microambiente crea cambios severos en la respuesta celular a la apoptosis y a la regeneración adecuada celular, trayendo consigo fibrosis y disminución de la angiogénesis y por ende de la capacidad de la respuesta al daño. Un tejido dañado es consecuencia de una membrana celular alterada, los nanodominios en ella son alterados y la respuesta a los estímulos de iones, hormonas y receptores se encuentran alterados y por ende la expresión genética se verá alterada. El estrés oxidativo debe existir en el cuerpo como controlador de la respuesta de la relación del NFκB y en Nfr2.(2,3,4,5,6,7)

Los radicales libres deben ser compensados de forma natural cada nanosegundo en nuestro organismo, un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y la capacidad del sistema de compensación biológico celular para decodificar estas señales a través de intermediarios será la causa de mantener un estrés oxidativo excesivo incapaz de mantener un sistema reductor adecuado y por ende ser ineficaz para reparar el daño resultante. (3-7)

Los EROS producen directamente alteraciones en la proliferación celular al conocer que el ozono actúa directamente en las vías de la mitosis específicamente en la interfase G0 y G1, estas especies reactivas de oxígeno actúan en la muerte celular, autoinmunidad, respuesta a las infecciones virales y en enfermedades neurodegenerativas y trastornos sanguíneos. El ozono produce un estrés oxidativo escaso, controlado y predecible lo que optimiza la respuesta celular al provocar modificaciones constantes en el medio ambiente pero lo suficientemente seguras para provocar reactivación celular, mejoramiento del metabolismo celular, facilitación y estimulación de la señalización y modulación de la respuesta al estrés y daño tisular.

En el caso del endometrio la acción debería ser directamente relacionada con la NFκB y Nfr2 ya que estos intervienen en la respuesta enfermedades inflamatorias agudas y crónicas y a la respuesta y modulación de las citoquinas

proinflamatorias(15,16), debido a que el endometrio está siendo agredido directamente por la utilización de DIU, esperma, bacterias, virus, hongos y parásitos, hormonas y otros agresores que generaran daño tisular y que requerirá mensualmente de reparación y remodelación en las pacientes menstruantes y menopáusicas (cáncer de endometrio en mujeres menopáusicas) con vida sexual activa o no. (17,18)

Por tal motivo el control y de la diferenciación, proliferación y apoptosis es la manera en la cual obtendremos un endometrio funcional y receptivo. (18) La respuesta primigenia del ozono es la reacción de Criegee, con la producción de agua, aldehídos (malonilaldehidos y 4 hidroxinonenal) y alfa hidroxiperóxidos que actuaran directamente en la respuesta celular. Su alto poder oxidante actuara en ácidos grasos, aminoácidos, residuos de prolina y asparginina y producirán SOD, GPX, GSTR, Catalasa HIY y Map (proteína activadora mitogénica/fosforilación oxidativa).

El Empleo de Plasma Rico en Plaquetas Ozonizado

El plasma rico en plaquetas data de muchos años anteriormente como el PRP y el ozono, han encaminado a la mejoría y a la obtención de resultados más económicos y eficaces en pacientes sometidos a procedimientos de reproducción asistida y en el presente se enumeran dos reportes de casos en los que la utilización de terapia funcional con ozonoterapia aunado a otras terapias bio-regenerativas para pueden aumentar la tasa de éxito en estas terapias.

Desde 1909 se ha utilizado el plasma autólogo por Bergel como pegamento de fibrina autóloga, pero ni fue sino hasta 1972 cuando se reconoció internacionalmente las propiedades selladoras en heridas quirúrgicas. El plasma no sería de utilidad científica si no fuera por el descubrimiento de los factores de crecimiento por la Dra. Levy y del Dr. Lind en 1988 al describir las propiedades estimuladoras del PRP. Desde entonces se han escrito incontables artículos de estudios multicéntricos donde se ha comprobado la seguridad biológica y la secreción por parte de las plaquetas de factores de crecimiento, fibroblastos y la producción de células osteoprogenitoras y células endoteliales, por lo que fueron activamente usadas por Whitman desde 1977 en la cirugía oral. (3,5,7,8)

Wrobley en el año 2010 comprobó la eficacia del PRP en perfeccionar y acelerar la curación en la cirugía ortopédica. El plasma rico en plaquetas efectúa de esta manera los mismos eventos que suceden durante el proceso de cicatrización, pero induciendo concentraciones supra fisiológicas de plaquetas. El conteo comúnmente aceptado es de cuando menos 1,000.000 de plaquetas, es decir del 32 al 190% del valor basal, una vez centrifugada.

Al ser autólogo la seguridad del procedimiento es alto y al ozonizarse activa los factores de crecimiento TGF- β , VEGF y PDGF, reclutando con ello la proliferación de células madre y endoteliales. Cabe mencionar que el plasma también está formado por leucocitos proteínas de secreción y todos los componentes de la cascada de coagulación. (4-8)

El ozono entonces promueve la agregación plaquetaria y la liberación de Factores de Crecimiento con propiedades miogénicas y quimiotácticas como describen los trabajos de la Dra. Schwartz (7).

Las plaquetas son fragmentos de megacariocitos por lo que carecen de núcleo, pero codifican copias de RNA mensajero de casi un tercio de las proteínas conocidas en el genoma humano (9). Lo interesante de la sinergia del ozono y el PRP este último no solo condiciona la posibilidad de síntesis proteica cuando hay cambios en su microambiente lo que le confiere una actividad regulatoria y adaptativa y al igual que el ozono y por ende ambos pueden actuar de manera genómica y no genómica.

Ambos activan vías de señalización celular y síntesis de novo de factores e inmuno modulan las señales antiinflamatorias (il-10) y proinflamatorias (il-1, il-2, il-6 y TNF alfa) y endorfinas beta por lo que actúan directamente en la modulación de la inflamación y respuesta al daño tisular incluyendo la producción y regeneración de matriz extracelular. Los factores de crecimiento antes señalados son factores tróficos de naturaleza proteica que junto con las hormonas y neurotransmisores desempeñan una importante función de la comunicación intercelular.(7,8.9.10)

La función principal de los factores de crecimiento es la del control externo del ciclo celular, en la mitosis, pasando del ciclo de interfase G0 al G1. Controlando con ello la quiescencia. La función entonces de los factores de crecimiento no solo es la estimulación de la proliferación celular, iniciando la mitosis, sino también mantener la supervivencia celular, la estimulación de la migración celular, la diferenciación celular y la apoptosis. (4,5,6,7,8,9,10)

La función de los FC se regula mediante la transcripción y traducción del gen específico, por lo que tiene funciones altamente especializadas. De esta forma modulan la emisión de la señal por el receptor, controlan la respuesta celular por moléculas con acción incluso opuesta a la respuesta inicial. Mantienen control extracelular por la disponibilidad del FC que es secretado a la matriz extracelular. El ozono interviene en estas vías e incluso estimula moléculas como fibronectina, vitronectina y guarda acciones químicas con ácidos grasos polinsaturados, proteínas, lipoproteínas, transferrinas y aminoácidos, iones y moléculas energéticas (ATP, ADP, NADPH).(8,9,10)

De ahí que el PRP-O3, actúe directamente en los procesos de inflamación, proliferación y remodelación del tejido dañado. El mecanismo de acción del ozono sobre el plasma es debido a su gran actividad en la reacción química de los ozónidos sobre la membrana bicapa de las plaquetas formando peróxidos lipídicos y con ello la activación de la señalización de la liberación de los gránulos densos, pero también gránulos alfa y lisosomales. También reaccionara sobre los demás componentes del plasma como proteínas y aminoácidos, así como las membranas de leucocitos, macrófagos y granulocitos.

Tabla 1. Valores del conteo de FC y conteo celular en sangre periférica y PRP

ELEMENTO	SANGRE PERIFERICA	PRP
PDGF	45 pg/ml	360 pg/ml
TGF	35 pg/ml	320 pg/ml
VEGF	55 pg/ml	560 pg/ml
IGF	13 pg/ml	175 pg/ml
PLAQUETAS	260.000/mm ³	1.250.000/mm ³
LEUCOCITOS	5,600/mm ³	20.000/mm ³
GRANULOCITOS	60% (3330/mm ³)	24% (480/mm ³)
MONONUCLEARES	35% (1960/mm ³)	70% (14.000/mm ³)
CD34	0.5/mm ³	175/mm ³

Tabla tomada de Alcaraz* (9) de medicina regenerativa y el secreto del plasma rico en plaquetas

En la tabla superior tomada de los trabajos de Alcaraz se puede apreciar los niveles supra fisiológicos no solo de plaquetas sino también de otras formas sanguíneas a excepción de los granulocitos, que se han empleado en el manejo de los endometrios lineales o delgados. (3) La presencia de células CD34 a niveles supra fisiológicos nos indican como se efectúa la modulación de las células madre progenitoras.

El FC PDGF tiene efectos angiogénicos activa las células mesenquimales, así como neuronas de la microglía y activa los macrófagos. Promueve la proliferación y Remielinización y la formación de colágeno tipo 1. Como cabe de esperar el endometrio al ser un tejido que se desecha cada mes durante la menstruación, deberá de contener esta serie de factores que pueden ser obtenidos en la sangre menstrual, pero por otro lado la potencializándose en la aplicación de PRP conllevará a la activación de sus células basales. La irrigación de este y la actividad del músculo uterino juegan un papel preponderante ya que el endometrio no coagula de la misma manera que los demás tejidos, sino que lo hace de manera específica para que la sangre pueda fluir de la cavidad uterina hacia el exterior sin formar taponamientos.

FC IGF-1, este influye en la proliferación y diferenciación de las células mesenquimales y de revestimiento. Es mutagénico y al igual que el FCDP promueve al colágeno tipo 1. En el caso de L-PRP tiene un efecto obviamente inmunológico y proangiogénico por lo que facilita la activación de los mecanismos en los cuales se requiera de la acción directa de las células de la defensa e inmunoregulatoras de citoquinas al igual que el ozono. El VEGF promueve la diferenciación hacia las células endoteliales e hipermeabilidad de vasos sanguíneos. (8,9,10)

Ozono y Medicina Bio-Regenerativa

El ozono actúa de forma alostérica mediante metabolitos que regulan la cinética molecular, lo que confiere su capacidad de regulación del estrés oxidativo intracelular y por ende su efecto terapéutico. La medicina bio regenerativa, como ya se indicó anteriormente es un término acuñado por Haseltine, en el año de 2011. Básicamente se caracteriza por el aumento y optimización de la respuesta curativa, natural del organismo. Se basa fundamentalmente en la autoestimulación de células madre, factores de crecimiento y matriz extracelular. La medicina bio-regenerativa, no es una medicina alternativa, es la siguiente evolución de la práctica médica.

Nunca se había tomado en cuenta como ahora el poder curativo del propio cuerpo potencializándolo con la aplicación de nuevas tecnologías, aunado a otras viejas, muy avanzadas para su época que fueron olvidadas por el desconocimiento de la biología molecular.

El ozono es una variedad alotrópica del oxígeno con grandes propiedades oxidativas que conllevan a un estrés oxidativo de bajo nivel y controlado a la dosis adecuada que condicionan una respuesta celular terapéutica que tiene las siguientes características en general: 1.- combate el estrés oxidativo; 2.- interviene en la liberación de autacoides; 3.- regulador metabólico; 4.- germicida de amplio espectro; 5.- modulador inmunológico; 6.- mejora el metabolismo del oxígeno. Actúa directamente como un modulador de la respuesta celular a las vías de señalización para la síntesis de proteínas y la expresión nuclear y citoplasmática pero también en la matriz extracelular actuando directamente en los receptores celulares mediante segundos mensajeros ya que no tiene receptores de membrana propios pero regula el metabolismo de carbohidratos, de lípidos de proteínas y con ello el crecimiento celular y la apoptosis- estimula la 2-3 difosfoglicerato y la xantina oxidasa con lo que mejora la hipoxia celular. (4,5,6,7,8,9)

En este caso la utilización de Plasma Rico en Plaquetas Ozonizado (PRP-O3) , emplea dos diferentes técnicas de autorregulación de la ingeniería tisular, una obtenida y preparada de manera autóloga (directamente del paciente) y la otra potencializando la muestra obtenida con los efectos inmunomoduladores y acosadores del ozono al combinarse con los lípidos y proteínas plasmáticas, así como la obtención de segundos mensajeros que actuaran de manera alostérica sobre la membrana celular de las plaquetas , de los leucocitos y de los macrófagos y granulocitos que se pudieran encontrar. (7)

Esta combinación se potencializará y activará, pero de manera potencializada los mismos eventos que suceden durante el proceso fisiológico de la reparación y regeneración celular. Por estas concentraciones supra fisiológicas de plaquetas y la activación de sus gránulos aplicados en el tejido dañado, darán como resultado la obtención de factores de crecimiento activadas y además de sustancias vasoactivas y lisosomas que mantendrán un equilibrio en la mitosis y la apoptosis celular, incrementado no solo la neovascularización sino la angiogénesis y colagenogénesis adecuada. (7.8.9.10)

La respuesta inadecuada o no controlada de estos procesos de reparación traerán consigo fibrosis y disminución de la oxigenación tisular, con a la subsecuente disfunción orgánica, ya sea sistémica o local. En este caso el endometrio, el endotelio de las trompas de Falopio e incluso el peritoneo visceral de la cavidad pélvica y el fondo de saco podan ser estimulado dependiendo de la dosis que empleemos.

La combinación de plasma con el ozono habitualmente se lleva a cabo en relación 1 a 1 y las concentraciones varían de 40 a 80 microgramos por mililitro. Se mezclan con una llave de tres vías durante un minuto. La combinación de ambos como ya se ha descrito hará una óptima liberación de FC se respetan las concentraciones adecuadamente. (5,7.8.9.10)

Los ozónidos derivados en la preparación de P-PRP y del L-PRP activan la fosfolipasa C y la A2 , facilitando la formación de sustancias pro-agregantes como la PGE2 y tromboxano y con ello se consigue no solo liberar los factores de crecimiento más rápida y eficientemente que la formación de peróxidos activa otras vías de señalización que potencializan la ingeniería tisular y controlan el medio ambiente tisular incluyendo la síntesis de energía el metabolismo del oxígeno y de sus vías de hipoxia con lo que se despliegan también vías metabólicas que intervienen en el adecuado funcionamiento de los receptores de membrana y la fosforilación oxidativa. (2,3,4,5,6,7)

Métodos

Se obtuvieron 10 mL de sangre venos mediante venopunción con técnica cerrada y posteriormente se centrifuga a $1400 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ por 10 min en tubos de citrato de sodio en este caso, pero también se puede utilizar tubos de ACD-A. (3,4,5,6,7,8,9,10) En ambos casos se utilizó L-PRP. En ambos casos se desechó el PPP.

Posteriormente se ozonizó con llave de tres vías a razón de 1 a 1 plasma-ozono durante un minuto.

Inmediatamente se aplicó con cánula de inseminación 1 ml en la primera paciente y 3 ml en la segunda.



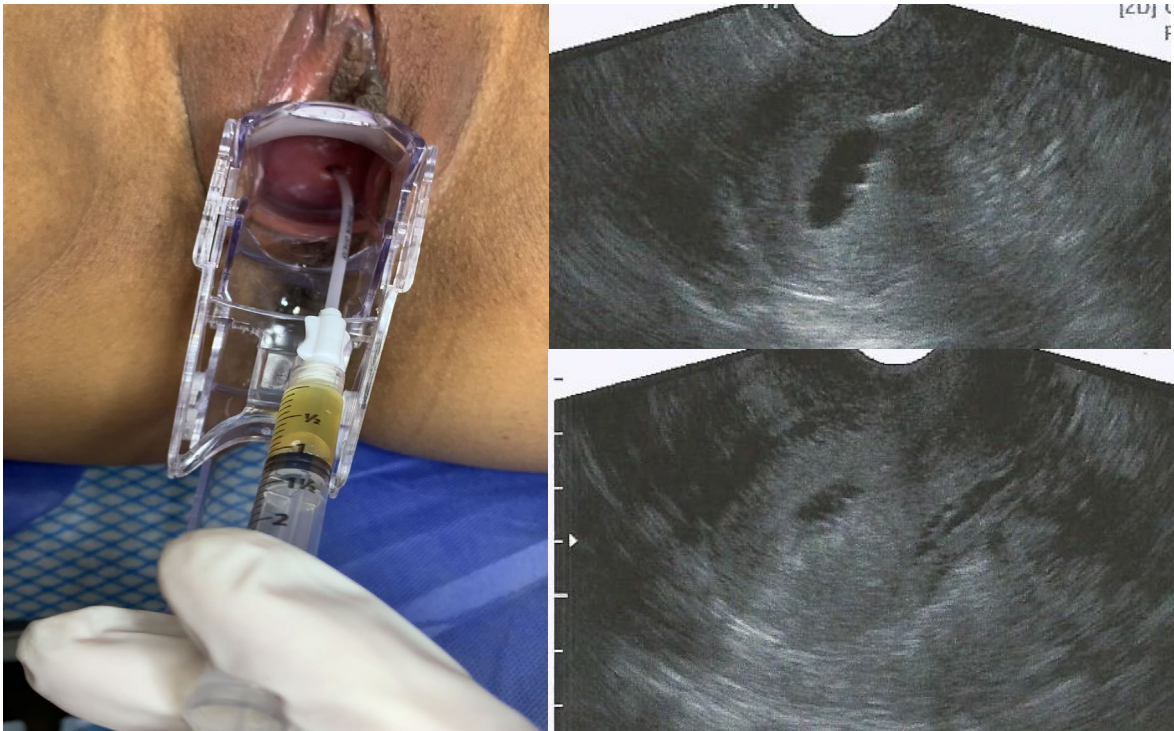


Figura 1. Preparación y aplicación de L-PRP O3 con asistencia ultrasonográfica

Se efectuó control ultrasonográfico transvaginal (10,11), para identificar el grosor endometrial y la correcta irrigación de la cavidad uterina. De la misma forma se pudo observar con este método las diversas alteraciones que podrían estar presentes en el endometrio y a su vez funcionar como una prueba diagnóstica previa a la inseminación intrauterina (IIU) o coito programado (CP) según el caso.

Descripción de los casos

Dos pacientes con endometrio no receptivo, con un grosor endometrial menor de 7 mm y antecedente de cuando menos dos fallas de implantación anteriormente. (10,11) Los criterios de exclusión fueron pacientes con trastornos de coagulación, anticoaguladas y plaquetas por debajo de 100,00.

La primera paciente era nuligesta de 33 años con tres ciclos fallidos, uno de inseminación artificial dos *in vitro*, por factor masculino con oligoastenospermia severa. Endometrio preovulatorio de menos de 7 mm. Una pérdida post Fertilización In Vitro (FIV) de 9 semanas. Posterior a los 4 ciclos de tratamiento de reproducción asistida (TRA) se diagnostica como falla de implantación o endometrio refractario y se aplicó tratamiento a base de Plasma Rico en Plaquetas Ozonizado (PRP-O3).

Se realizó inducción de ovulación convencional a base de Hormona foliculo estimulante

recombinante (FSHr) y hormona luteinizante recombinante (LHr) con disparo a base de hormona gonadotropina coriónica (hGC) 1000 UI en día doce del ciclo. La monitorización se realizó mediante ultrasonograma transvaginal (USG tv) y medición de Estradiol y hormona luteinizante (LH).

Se efectuó IIU con donador el día 14 del ciclo. El endometrio fue de 10mm. Con dos folículos preovulatorios. Se realizó nuevamente USG transvaginal en día 21 con endometrio de 11 mm y dos cuerpos lúteos.

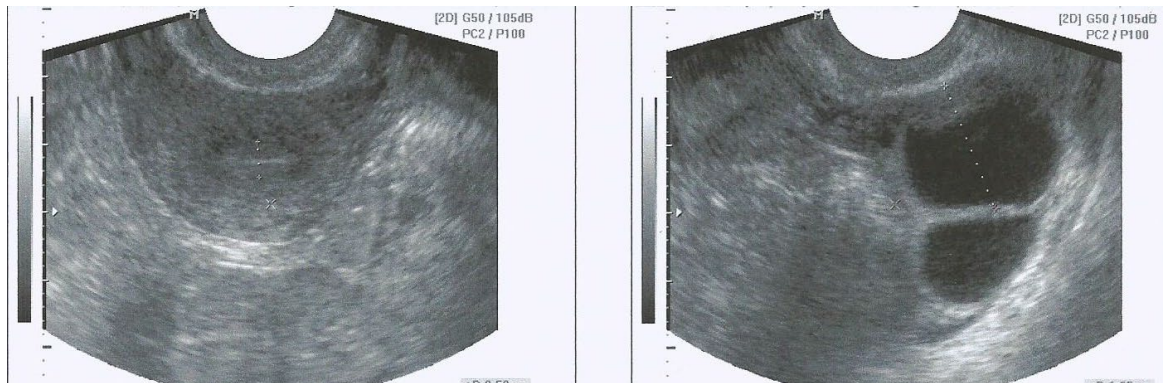


Figura 2. Ultrasonografía de la 1ª paciente previa a la aplicación del PRP-O3. USG A se observa la presencia de endometrio delgado y lineal. En la figura B se observan dos folículos preovulatorios.

La segunda paciente de 38 años. GIII CI AII, primer embarazo conseguido mediante con IO e IIU, posteriormente intenta con ciclos naturales de manera infructuosa presentando pérdidas del embarazo y de 6 y 8 semanas. El embarazo de 6 semanas se manejó de forma expectante y conservadora y el tercero, de 8 semanas fue sometida a realización de LUI. Después de un año de intentos con ciclos naturales no consigue embarazo. Se efectúa histerosalpingografía con presencia de oclusión turbaría derecha y la salpinge izquierda con datos de endosalpingiosis y paso lento y escaso a través de la misma.

Se efectúa laparoscopia encontrando oclusión tubaria derecha, la cual no pudo permeabilizarse con insuflaciones de azul de metileno.

La salpinge izquierda parcialmente ocluida de la misma forma con goteo del colorante de manera discreta.

La histeroscopia presenta endometrio de aspecto blanquecino y adelgazado sin sinequias.

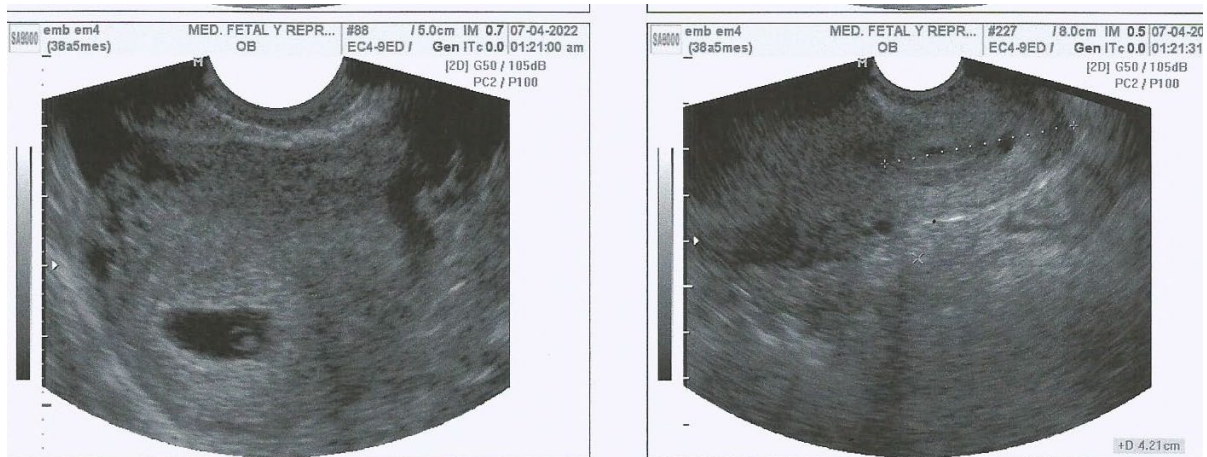


Figura 3. Embarazo único . en la fotografía A se observa embarazo único con presencia de reacción decidual adecuada. En la figura B se observa medición del cérvix de 4.21 cm que detallan el buen pronóstico obstétrico en este embarazo.

Resultados

El grosor endometrial de los pacientes fue medido el día de la aplicación del PRP ozonizado con una media de 7 mm, dos días después de la aplicación del PRP-O3 en la primera paciente el grosor fue de 10 mm y se realizó inseminación intrauterina con donador, obteniéndose embarazo gemelar.

La flujometría Doppler de las arterias uterinas fueron adecuadas durante el embarazo y los pesos de los recién nacido a las 37 semanas fueron de 2340 y 2450. Transcurrió de forma normo evolutivo para un embarazo gemelar. La segunda paciente endometrio no mayor de 7mm y el antecedente de legrado uterino e incapacidad para embarazarse nuevamente oír lo que fue sometida a laparoscopia e histeroscopia encontrando cambios inflamatorios en ambas salpinges y difícil paso de azul de metileno. La histeroscopia mostró un endometrio blanquecino y adelgazado.

Se efectuó L-PRP ozonizado con un volumen de 3 ml el día 21 del ciclo. El siguiente mes la paciente tuvo un ciclo natural y logró embarazo que sigue hasta la fecha.

Discusión

La acción de las plaquetas en el organismo está plenamente comprobada y analizada durante décadas. La acción de los factores de crecimiento en ellas es un tema que en la actualidad está cobrando gran importancia por los efectos mitogénicos benéficos en la reparación celular. (8,11,12,13,14-16). La reparación de los tejidos no únicamente se lleva a cabo por el secretoma, sino por las modificaciones de la matriz extracelular y la membrana. El beneficio del plasma a través del ozono coadyuva a la activación y potencialización de los agentes reductivos y de la ganancia de la efectividad de los factores de crecimiento para modificar el microambiente. Debido a las propiedades del ozono en la roenterología del eritrocito y sus acciones sobre el endotelio vascular, de forma directa potencializa los efectos del plasma al ser aplicados de forma directa en el tejido endometrial. Durante la reparación celular secundaria a un daño tisular no existe duda en la eficacia de la acción plaquetaria y de la activación de las células madre para poder obtener una diferenciación del tejido local (12,13,14,21,24)

En este caso la activación del endometrio con la utilización de PRP y ozono harán el mismo efecto al potencializar los defectos en la producción de mitosis de las glándulas endometriales sino también de los vasos sanguíneos estimulando la colangiogénesis, la neo-vascularidad y angiogénesis. De la misma forma las modificaciones de la xantina oxidasa y del óxido nítrico en el endometrio vascular permitirán un mejor aporte sanguíneo y por ende de oxígeno a la microcirculación y con ello disminuir los efectos inflamatorios crónicos y favorecer el establecimiento de las vías de señalización mediante vías genómicas. (7,15,16,24,25)

Es importante señalar que existen muchos trabajos en la literatura para tratar de mejorar el grosor endometrial ya sea mediante la aplicación de estrógenos, sildenafil, tocoferoles, aspirina. (9,10,16,17,18,19,20) Entendiendo la medicina bio-regenerativa es entonces necesario ir a las bases microscópicas de estos defectos tanto en la formación celular como en la programación de la producción de neo-vascularidad y angiogénesis. (16,17,18,19,20,24,25,26)

La colangiogénesis adecuada del tejido evitara la formación de fibrosis y con ello la llegada de células proinflamatoria descontroladas. El efecto inmunomodulador del ozono es un arma ejemplar en este tipo de padecimientos sobre todo en los casos de endometritis salpingitis o enfermedades inmunológicas. La base funcional en la combinación de terapias locales que actúan potencializando la curación es el mismo concepto de la reacción de un tejido de forma local. (18,19,20,21,22,23)

En estos dos casos en los que se crea un daño en la proliferación de las células endometriales y de procesos inflamatorios secundarios a infección bacteriana y a procedimientos quirúrgicos se expone que el estudio de estas pacientes siempre debe de ir acompañado de la posibilidad de la aplicación de terapias complementarias.

El tratamiento con PRP ozonizado requiere de adiestramiento y conocimiento, pero una vez dominada la técnica y la preparación individual no existen contraindicaciones importantes por el volumen que se maneja para producir efectos deletéreos sobre los pacientes ya que son efectuados de manera autóloga. A diferencia de los demás tratamientos en los que todos pueden producir efectos secundarios y alto costo.

El PRP-O3 es accesible y sin o nulos efectos secundarios. El protocolo empleado difiere en la preparación del artículo original de Chang, (16) con respecto a la doble centrifugación del plasma ya que solo se usó en ambos casos el PRP y en uno de ellos la banda de leucocitos. Por otro lado, no se empleó el protocolo sugerido por Bocci, ya que no usamos heparina. (6,7) Debido a la utilización del ozono se consideró que una segunda centrifugación sería innecesaria, ya que el ozono potencializaría la actividad plaquetaria de los Factores de Crecimiento. (16-21)

El sustento científico de este procedimiento lo avala como una alternativa eficaz en pacientes con falla de implantación endometrial. El uso de PRP por Chang (16) ha iniciado muchos trabajos que han replicado los éxitos de esta técnica, el uso de PRP ozonizado fue efectivo en caso de una paciente con endometrio refractario y otra que además presentaba alteraciones inflamatorias secundarias a la manipulación uterina y a un endometrio delgado (16, 22-30). La consideración sería si este se debiera de emplear en todas las pacientes que sean sometidas a protocolos de tratamiento para reproducción, e incluso aquellas con antecedentes de salpingitis y endometritis bacterianas o secundarias a la aplicación de dispositivos intrauterinos.

La aplicación de ozono como adyuvante en el tratamiento de la pareja estéril por cualquiera de sus vías dependiendo del diagnóstico mejorara el terreno biológico y debería de ser una constante en todas estas pacientes, ya que no únicamente se aumentaría la tasa de embarazo. (17-21) La utilización de PRP ozonizado intrauterino es una nueva forma de aplicación del ozono. Tanto el plasma como el ozono ejercen una terapéutica local que favorecerá la reparación in situ del tejido endometrial y del flujo sanguíneo uterino.(24-30)

Debido al tamaño de la muestra se necesitan más estudios para determinar concluyentemente que esta terapia deberá de emplearse en otras pacientes previamente a ser sometidas a ciclos de inducción de ovulación (IO) y técnicas de reproducción asistida (TRA), el discernimiento científico es inobjetable, y deberá aplicarse a pacientes seleccionadas.

Referencias

- 1.-Hoja informativa para pacientes de www.reproductivefacts.org American Society for Reproductive Medicine
- 2.-G. Martínez. Estrés oxidativo y Enfermedades. ISBN 978-88-548-4636-4
- 3.-Shahen Hacyan. Mecánica cuántica para principiantes. Fondo de cultura económica CONACYT,2016 ISBN 978-607-3404-7
- 4.- JF Santos, M. Andrade, W. Diaz. A. Malherios. Platelet Rich Plasma: Regenerative Medicine: Sports medicine, Orthopedic and recovery of musculoskeletal injuries. Editorial Springer 2014
5. A. Cambi, D. Lidke. Cel membrane nanodomains: from biochemistry to nanoscopy. Editorial CRC Press Taylor and Francis Group. 2014.
- 6.- G. Gonzalez, D. Javier. C. Sosa. Terapia celular con células madre y medicina Regenerativa. Editorial Alfil 2009.
- 7.-Schwartz A, Martínez Sánchez G. Re-L. Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades en el uso de ozono como activador. Revista Española de Ozonoterapia vol. 1 no.1, pp. 54-73, 2011
- 8.-Schwartz A, Manual de Ozonoterapia Clínica. Editorial Medizeus. 2017.
- 9.-Alcaraz Rubio J, Sánchez López JM, Oliver A., Medicina Regenerativa y el secreto del plasma rico en plaquetas, Editorial Académica Española, 2016
- 10.-Klinger MHF. The storage lesion of platelets: ultrastructural and functional aspects. Annals hematomol 1996, (1) 25-32 Wp Microsoft academic 2021
11. Khalifa E, Brzyski RG, Oehninger S. Acosta AA and Muasher SJ. Sonographic appearance of the endometrium: the predictive value for the Outcome of in-vitro fertilization in stimulated cycles. Hum. Reprod. 1992; 7: 677-680.
- 12.- A. Schwartz. Células madre y ozonoterapia en infertilidad. Revisión. www.aepromo.org
13. Anitua E, et al. Platelet-Rich Plasma: Preparation and Formulation. Operative Techniques in Orthopaedics, Volume 22, Issue 1, March 2012, pp. 25-32.
14. Juan A García-Velasco. Belén Acevedo, Claudio Alvarez, Monica Alvarez, Jose Bellver, Juan Fontes, Jose Landeras, Dolores Manau, Francisca Martinez, Elkin Muñoz, Ana Robles, Luis Rodriguez-Taberner. Strategies to manage refractory endometrium: state of the art in 2016. Universidad del Rey Juan Carlos, Madrid, España. Reproductive BioMedicine Online (2016) 32, 474-489. Editorial Elsevier.
- 15.-A.Schwartz Concentrado de factores de crecimiento (CGF) www.aepromo.org 12. Yajie Chang. Et all. Original Article. Autologous platelet-rich plasma promotes endometrial growth and improves pregnancy outcome during *in vitro* fertilization. Int J Clin Exp Med 2015; 8(1): 1286-1290.
16. Chen. Mj., Yang. JH, Peng FH, Chen SU, Ho HN and Yang YS. Extended estrogen administration for women with thin endometrium in frozen-thawed in-vitro fertilization programs. J Assit Reprod Genet 2006; 23: 337-342.
17. Khairy M, Banerjee K, El-Toukhy T, Coomarasamy A and Khalaf Y. Aspirin in women undergoing in vitro fertilization treatment: a systematic review a meta-analysis. Fertil Steril 2007; 88: 822-831.
18. Takasaki A, Tamura H, Miwa I, Taketani T, Shimamura K and Sugino N. Endometrial growth a uterine blood flow: a pilot study for improving endometrial thickness in the patients with a thin endometrium. Fertil Steril 2010; 93: 1851-1858.
- 19, Sher G and Fisch JD. Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development. Fertil Steril 2002; 78: 1073-1076.
20. Ho M, Huang LC, Chang YY, Chen HY, Chang WC, Yang TC and Tsai HD.

- Electroacupuncture reduces uterine artery blood flow impedance in infertile women. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2009; 48: 148-151.
21. Gleicher N, Vidali A and Barad DH. Successful treatment of unresponsive thin endometrium. *Fertil Steril* 2011; 95: 2123.e13-7.
 22. Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, da Cruz Pacheco I, Correa do Amaral RJ, Granjeiro JM and Borojevic R. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther* 2013; 4: 67.
 23. Hang Yong Jang, Soo Min Myoung, Jeong Min Choe, Tak Kim, Yong-Pil Cheon, Yong Min Kim, and Hyuntae Park. Effects of Autologous Platelet-Rich Plasma on Regeneration of Damage Endometrium in Female Rats. *Yonsei Med. J.* 2017. Nov; 58(6): 1195-1203.
 24. Joana Peñarrubia Alonso, Juan Antonio García Velasco, Joaquín Llácer Aparicio. Preparación endometrial en técnicas de reproducción asistida. Tomo 3. Editorial Glosa. Barcelona.
 25. Kasius A, Smit JG, Torrance HL, Eijkemans MJ, Mol BW, Opmeer BC, et al. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and metaanalysis. *Hum Reprod Update.* 2014; 20(4): 530-41.
 26. Ribeiro VC, Santos-Ribeiro S, De Munck N, Drakopoulos P, Polyzos NP, Schutyser V. et al. Should we continue to measure endometrial thickness in modern-day medicine? The effect on live birth rates and birth weight. *Reprod Biomed Online*, 2018;36:416-26.
 27. Mouhayar Y, Sharara FI, G-CSF and stem cell therapy for the treatment of refractory thin lining in assisted reproductive technology. *J Assist Reprod Genet.* 2017;34:831-7.
 28. Virtual Congress. October 2020. ASRM. Dynamic Collaborations in Reproductive Medicine.
 29. Grace Z. Lu, B.S. Carolyn Givens, MD, and Liyun Li, MD, The Clinical use of Endometrial Receptivity Analysis (ERA) and the Effects of Implantation rates in women with prior failed transfers. Pacific Fertility Center, San Francisco CA.
 30. Samir Hamamah, MD PhD. Endometrial mirnome establishment during the implantation window under hormone replacement therapy for frozen embryo transfer can predict successful pregnancy. Arnaud de Villeneuve Hospital, CHU Montpellier, Montpellier, France.