



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
&
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΡΕΥΝΑ ΣΤΗ ΓΥΝΑΙΚΕΙΑ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ»

**«ΚΑΙΝΟΤΟΜΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ
ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΩΟΘΗΚΙΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ:
ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ»**

**“INNOVATIVE TREATMENT APPROACHES TO TREAT OVARIAN
FAILURE: REVIEW”**

ΡΕΤΣΙΝΑ ΔΗΜΗΤΡΑ

ΜΑΙΑ

A.M.: 20170444

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

1. ΣΙΜΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΑ: Επιβλέπουσα Καθηγήτρια, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πειραματικής Φυσιολογίας- Εμβρυολογίας, Εργαστήριο Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
2. ΜΑΣΤΟΡΑΚΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ: Καθηγητής Ενδοκρινολογίας, Διευθυντής Μονάδας Ενδοκρινολογίας και Σακχαρώδη Διαβήτη, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική Αρεταίειο Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
3. ΚΑΛΑΜΠΟΚΑΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ: Μαιευτήρας Γυναικολόγος, Ειδικός στην Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή, Ακαδημαϊκός Υπότροφος, Β' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική, Αρεταίειο Νοσοκομείο, Ιατρική Σχολή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Αθήνα, 2021

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Έρευνα στην Γυναικεία Αναπαραγωγή» του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Επιθυμώ να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους εκείνους που συνέβαλαν άμεσα ή έμμεσα στην ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας και κατά συνέπεια των μεταπτυχιακών σπουδών μου.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα μου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πειραματικής Φυσιολογίας- Εμβρυολογίας κυρία Μάρα Σιμοπούλου της οποίας η υποστήριξη και η διαθεσιμότητά της καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας μου έπαιξε καθοριστικό ρόλο συμβάλλοντας ποικιλοτρόπως στην ολοκλήρωση της. Επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ στην ομάδα μας που με τις παρατηρήσεις και τις συμβουλές κάθε μέλους ξεχωριστά βοήθησαν ουσιαστικά στην βελτίωση της εργασίας μου.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον κύριο Μαστοράκο Γεώργιο Καθηγητή Ενδοκρινολογίας, Διευθυντή της Μονάδας Ενδοκρινολογίας και Σακχαρώδη Διαβήτη στη Β' Μαιευτική και Γυναικολογική κλινική του Αρεταίειου Νοσοκομείου , και Πρόεδρο του Μεταπτυχιακού προγράμματος που στήριξε εξ αρχής την επιλογή μου για το θέμα που επέλεξα να εκπονήσω καθώς και τον κύριο Καλαμπόκα Θεόδωρο, Μαιευτήρα Γυναικολόγο, Ειδικό στην Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή και Ακαδημαϊκό Υπότροφο για την συμμετοχή του.

Τέλος, νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την αγάπη, κατανόηση και υποστήριξή τους, χωρίς τις οποίες δεν θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	2
Περίληψη	4
SUMMARY	5
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	6
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	7
1. Σκοπός	7
2. Παθοφυσιολογικές καταστάσεις που οδηγούν σε ανεπάρκεια των ωοθηκών.	7
2.1. Πρόωρη ανεπάρκεια ωοθηκών (POI) και πρόωρη εμμηνόπαυση (PM= premature menopause).....	8
2.2. Πτωχή απόκριση των ωοθηκών (POR).....	10
2.3. Αυξημένη μητρική ηλικία (AMA)	11
3. Οι τρέχουσες επιλογές στη διαχείριση της ωοθηκικής ανεπάρκειας.....	12
4. Νέες προσεγγίσεις στη διαχείριση της ωοθηκικής ανεπάρκειας	16
4.1. Μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων	16
4.2. Πλάσμα εμπλουτισμένο με αιμοπετάλια (PRP).....	28
4.3. Μεταμόσχευση ιστού ωοθηκών.....	34
4.4. Τεχνητές ωοθήκες	39
4.5. Τεχνητοί γαμέτες	41
4.6. Θεραπεία μιτοχονδριακής αντικατάστασης.....	43
5. Συζήτηση	49
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:	53

Περίληψη

Η ανεπάρκεια των ωοθηκών αποτελεί ένα πολυπαραγοντικό ζήτημα που συναντάται στον τομέα της Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής. Οι τρεις κύριες αναγνωρισμένες διαγνώσεις της περιλαμβάνουν την πρόωρη ανεπάρκεια των ωοθηκών (POI= premature ovarian insufficiency), την πτωχή απόκριση των ωοθηκών (POR= poor ovarian response) και την AMA (AMA= advanced maternal age). Η ετερογένεια των ασθενών στην εποχή της εξατομικευμένης ιατρικής οδηγεί στην εξέλιξη της έρευνας όπως και στην εμφάνιση νέων προσεγγίσεων για τη διαχείριση της υπογονιμότητάς τους. Αυτή η πληθώρα καινοτόμων θεραπευτικών μεθόδων στην υπηρεσία της επαρκούς διαχείρισης της ανεπάρκειας των ωοθηκών καλείται να αναλάβει την πρόκληση της αντιμετώπισης των υπογόνιμων γυναικών που διερευνούν τις αναπαραγωγικές επιλογές τους. Αυτή η ανασκόπηση παρέχει μια ολοκληρωμένη παρουσίαση και κριτική ανάλυση σχετικά με τις νέες θεραπείες που δεν έχουν ενταχθεί ακόμη στην κλινική πρακτική, αλλά πρόσφατα έχουν αναδειχθεί ως πολλά υποσχόμενες. Γνωρίζοντας την έλλειψη τυχαιοποιημένων κλινικών δοκιμών που να διασφαλίζουν την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα, οι κλινικοί γιατροί καλούνται να διερευνήσουν το «πώς» και το «για ποιόν» αυτές οι προσεγγίσεις μπορεί να είναι αποδοτικές. Αυτή η περιγραφική ανασκόπηση παρέχει πληροφορίες για τις θεραπείες, όπως είναι η έγχυση πλάσματος εμπλουτισμένο με αιμοπετάλια (PRP: platelet-rich plasma) στις ωοθήκες, ή η έγχυση βλαστοκυττάρων στις ωοθήκες, οι τεχνητοί γαμέτες και οι τεχνητές ωοθήκες, η μεταμόσχευση ωοθηκών και η θεραπεία μιτοχονδριακής αντικατάστασης, κατά τη διαδικασία της λήψης κλινικών αποφάσεων για την αντιμετώπιση των υπογόνιμων γυναικών. Οι βιολογικοί μηχανισμοί, η αποτελεσματικότητα, οι πιθανές επιπλοκές καθώς

και οι σημερινές βιοηθικές ανησυχίες συζητώνται στο πλαίσιο της μελλοντικής βέλτιστης θεραπείας.

Λέξεις κλειδιά: Ανεπάρκεια ωοθηκών, πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια, πτωχή ανταπόκριση των ωοθηκών, βλαστοκύτταρα, πλάσμα εμπλουτισμένο με αιμοπετάλια, θεραπεία αντικατάστασης μιτοχονδρίων.

SUMMARY

Ovarian insufficiency is an issue with many versions to consider in the field of Human Assisted Reproduction. Diagnoses such as premature ovarian insufficiency (POI), poor ovarian response (POR) and advanced maternal age (AMA) are the ones we encounter most often. The heterogeneity of patients in the age of personalized medicine leads to the evolution of research as well as the emergence of new approaches to managing their infertility. In case of exploring the reproductive options of infertile women, many innovative treatments are found in the service of management of ovarian insufficiency. This narrative review provides all the pros and cons of novel treatments that have found and have not used in clinical practice yet. It is a fact that we do not have lots of randomized clinical trials to ensure safety and efficacy of these novel treatments and clinicians are face the challenge of investigating the better way a novel treatment can be used and as well as the range of features of the proper patient each time. This descriptive review provides information on treatments, such as platelet-rich plasma (PRP) injected into the ovaries, or intraovarian injection of stem cells, artificial gametes and artificial ovaries, ovarian transplantation, and mitochondrial replacement treatment, in the clinical decision-making process for infertile women. In this review are discussed the biological mechanisms, efficiency, potential complications and also current bioethical concerns based on these novel treatments.

Keywords: Ovarian insufficiency, premature ovarian insufficiency, poor ovarian response, stem cells, platelet-rich plasma, mitochondrial replacement therapy.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Από τη στιγμή της γέννησης του πρώτου παιδιού με εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF= in vitro fertilization) το 1978 μέχρι σήμερα, ο κοινός παρονομαστής της έρευνας είναι το επίκεντρο των προσπάθειών των κλινικών ιατρών για την αντιμετώπιση των παθοφυσιολογικών εμποδίων που οδηγούν στην υπογονιμότητα και την εύρεση λύσεων. Από τα πρωτόκολλα ελεγχόμενης διέγερσης των ωοθηκών (COS= controlled ovarian stimulation), μέχρι την εμφάνιση της μικρογονιμοποίησης (ICSI= intra-cytoplasmic sperm injection), της κρυοσυντήρησης εμβρύων και γαμετών καθώς και του προεμφυτευτικού γενετικού ελέγχου (PGS= pre-implantation genetic screening), τα οποία έχουν εισαχθεί ως νέες προσεγγίσεις, οι προαναφερθείσες προσεγγίσεις έχουν καθιερωθεί επιτυχώς στην κλινική πρακτική [1]. Τα τελευταία χρόνια έχει προετοιμαστεί ο δρόμος για την κατεύθυνση της έρευνας στον τομέα αυτό, με σκοπό την εισαγωγή καινοτόμων προσεγγίσεων που θα αποσκοπούν στην αντιμετώπιση των προκλήσεων που εμφανίζονται κατά τη διαχείριση παθοφυσιολογικών καταστάσεων, φτάνοντας μέχρι και την κλινική τους θεραπεία. Από τη χρήση των βλαστοκυττάρων μέχρι τη θεραπεία αξιοποιώντας τεχνητές ωοθήκες, οι κλινικοί ιατροί καλούνται να συμφωνήσουν στο πώς και στο πότε θα προχωρήσουν από το πειραματικό στάδιο σε μια καθιερωμένη γραμμή θεραπείας που θα εφαρμόζεται στο πλαίσιο της ασφαλούς και αποτελεσματικής κλινικής πρακτικής [2, 3].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.Σκοπός

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί μια έγκαιρη και αναγκαία ανασκόπηση, με στόχο να αναφέρει τις νέες προσεγγίσεις για την αντιμετώπιση της ανεπάρκειας των ωοθηκών, εκφράζοντας ταυτόχρονα και τις ανησυχίες σχετικά με την κλινική εφαρμογή τους στον άνθρωπο. Αυτή η ανασκόπηση παρουσιάζει την αναζωογόνηση των ωοθηκών χρησιμοποιώντας την έγχυση βλαστοκυττάρων, αυξητικών παραγόντων και πλάσματος εμπλουτισμένο με αιμοπετάλια (PRP= platelet rich plasma) στις ωοθήκες, καθώς και την θεραπεία μιτοχονδριακής αντικατάστασης και την δημιουργία τεχνητών γαμετών, τεχνητών ωοθηκών και τέλος τη μεταμόσχευση ωοθηκών. Η ανασκόπηση διακρίνεται σε τρία τμήματα, προκειμένου να παρέχει μια ολοκληρωμένη και κριτική ανάλυση όσον αφορά τα είδη ωοθηκικής ανεπάρκειας, την τρέχουσα διαχείριση που χρησιμοποιείται στην κλινική πρακτική για αυτή την ιδιαίτερη κατηγορία ασθενών, καθώς και τις νέες θεραπείες που αναδύονται. Η ανάλυση περιγράφει τους βιολογικούς μηχανισμούς που ενεργοποιούνται κι εμπλέκονται στην αποκατάσταση της ωοθηκικής ανεπάρκειας, τα μειονεκτήματα, την αποτελεσματικότητα καθώς και τις πιθανές επιπλοκές και τις βιοηθικές επιπτώσεις αυτών των νέων προσεγγίσεων.

2. Παθοφυσιολογικές καταστάσεις που οδηγούν σε ανεπάρκεια των ωοθηκών.

Παρά το γεγονός ότι πολλά υπογόνιμα ζευγάρια μπορούν να θεραπευτούν με επιτυχία, μια ιδιαίτερη κατηγορία υπογόνιμων γυναικών εξακολουθεί να αποτελεί πρόκληση για τους κλινικούς ιατρούς. Αυτή η κατηγορία αναφέρεται σε γυναίκες που διαγνώστηκαν με ωοθηκική ανεπάρκεια. Η ανεπάρκεια των ωοθηκών είναι ένας όρος που περιγράφει ένα ευρύ φάσμα παθοφυσιολογικών καταστάσεων, όπου η ωοθηκική λειτουργία διακυβεύεται. Διάφοροι ιατρογενείς, παθοφυσιολογικοί ή φυσιολογικοί παράγοντες και διεργασίες μπορούν να θέσουν σε κίνδυνο την ωοθηκική λειτουργία, για παράδειγμα η ηλικία της μητέρας, οι αυτοάνοσες ασθένειες, οι μεταλλάξεις στα γονίδια που εμπλέκονται στη ρύθμιση της ωοθηκικής λειτουργίας και

ανάπτυξης, οι χρωμοσωμικές και αναπτυξιακές ανωμαλίες, κάποιες μολυσματικές ασθένειες και οι γοναδοτοξικές θεραπείες [4-7].

Στο πλαίσιο των τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, οι γυναίκες που εμφανίζουν ωθηκική ανεπάρκεια τείνουν να παράγουν ωάρια υποδεέστερης ποιότητας, να εμφανίζουν ακανόνιστη ωορρηξία, μπορεί να μην ανταποκρίνονται στα πρωτόκολλα διέγερσης των ωοθηκών ή μπορεί να παρουσιάσουν πρωτογενή ωθηκική ανεπάρκεια [4-7]. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η επιτυχία των τεχνικών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής απαιτεί ωάρια καλής ποιότητας που με τη σειρά τους θα παρέχουν καλής ποιότητας έμβρυα υψηλού δυναμικού εμφύτευσης, οι γυναίκες με ωθηκική ανεπάρκεια παρουσιάζουν σημαντικά μειωμένο αναπαραγωγικό δυναμικό. Οι τρεις κύριες κατηγορίες γυναικών με ωθηκική ανεπάρκεια ορίζονται ως εκείνες με πρόωρη ωθηκική ανεπάρκεια (POI= premature ovarian insufficiency), εκείνες που παρουσιάζουν πτωχή απόκριση των ωοθηκών (POR= poor ovarian response) και οι γυναίκες με AMA (AMA= advanced maternal age).

2.1. Πρόωρη ανεπάρκεια ωοθηκών (POI) και πρόωρη εμμηνόπαυση (PM= premature menopause)

Η POI είναι μια κατάσταση που περιγράφει μια παθολογική πρόωρη κατάρρευση της λειτουργίας των ωοθηκών. Διαγνώστηκε με βάση την παρατήρηση της αμηνόρροιας, της ανεπάρκειας στεροειδών ορμονών και των αυξημένων επιπέδων γοναδοτροπινών στον ορό του αίματος πριν από την ηλικία των 40 ετών, με αποτέλεσμα την πρόωρη εμμηνόπαυση στην αναπαραγωγική ζωή των γυναικών [6]. Η πρόωρη ωθηκική ανεπάρκεια μπορεί να προκληθεί από ιατρογενή αίτια ή ως αποτέλεσμα γενετικών μεταλλάξεων, χρωμοσωμικών ανωμαλιών, αυτοάνοσων διαταραχών και μολυσματικών ασθενειών [6,8]. Η ιατρογενής ωθηκική ανεπάρκεια έχει αυξηθεί λόγω εκτεταμένης χρήσης ακτινοθεραπείας και χημειοθεραπείας σε γυναίκες με κακοήθεις ασθένειες. Παρόλο που αυτές οι γυναίκες παρουσιάζουν ευνοϊκή πρόγνωση μετά από επιτυχή θεραπεία, παραμένουν με μειωμένο αναπαραγωγικό δυναμικό. Η ηλικία, η δοσολογία, ο τύπος φαρμάκου, ο τομέας της ακτινοθεραπείας και η συνακόλουθη θεραπεία είναι παράγοντες πρόβλεψης της αναμενόμενης δυσλειτουργίας των ωοθηκών

μετά από τη θεραπεία [8]. Όσον αφορά τον ιδιοπαθές τύπο της πρόωρης ωθηκικής ανεπάρκειας, μελέτες στον συγκεκριμένο τομέα περιγράφουν γνωστές περιπτώσεις που υποδηλώνουν το σημαντικό ρόλο των διαφόρων γενετικών παραλλαγών που συνεπάγεται η παθοφυσιολογία αυτής της κατάστασης [9]. Έχει τεκμηριωθεί μια ευρεία ποικιλία μεταλλάξεων που ανακαλύφθηκαν σχετικά πρόσφατα, οι περισσότερες από τις οποίες είναι εξαιρετικά σπάνιες, που περιλαμβάνουν γενετικές ανωμαλίες τόσο στο φυλετικό χρωμόσωμα Χ όσο και στο αυτοσωμικό χρωμόσωμα. Αναφερόμενοι στις αυτοσωμικές διαταραχές, διάφορα σπάνια γενετικά σύνδρομα που προκαλούνται από ειδικές γενετικές ανωμαλίες μπορεί να οδηγήσουν σε πρόωρη ωθηκική ανεπάρκεια. Τα αυτοσωμικά υπολειπόμενα σύνδρομα όπως η γαλακτοζαιμία, η πτώση της βλεφαροφιμώσεως, το σύνδρομο epicanthus inversus (BPES) και το σύνδρομο αυτοάνοση πολυενδοκρινοπάθεια καντιντίας (APECED), εντάσσουν μεταλλάξεις συγκεκριμένων γονιδίων που ρυθμίζουν τη λειτουργία των ωθηκών και σχετίζονται έντονα με την πρόωρη ανεπάρκεια των ωθηκών [9-12]. Οι αυτοσωμικές επικρατούσες μεταλλάξεις, όπως η μετάλλαξη *Noggin*, μπορεί επίσης να είναι ένας κρίσιμος παράγοντας για την πρόωρη ανεπάρκεια των ωθηκών που συνδέεται περαιτέρω με χρωμοσωμικές ανωμαλίες στο χρωμόσωμα Χ. Αυτές οι ανωμαλίες περιλαμβάνουν διαγραφές, ισοχρωμοσώματα και ισορροπημένες μετατοπίσεις στα χρωμοσώματα Χ, ωστόσο η πλήρης έλλειψη του Χ χρωμοσώματος συνδέεται επίσης με την πρόωρη ωθηκική ανεπάρκεια [13]. Ορισμένες περιπτώσεις της μπορεί να οφείλονται σε μη φυσιολογική λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος που προκαλείται από περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες που προκαλούν αυτοάνοσα νοσήματα [14]. Η λεμφοκυτταρική ωοφωρήτιδα, οι συναφείς αυτοάνοσες διαταραχές και τα αυτοαντισώματα ωθηκών εμπλέκονται ιδιαίτερα στην παθογένεση της ιδιοπαθούς πρόωρης ανεπάρκειας των ωθηκών [15-17]. Τελευταίο, αλλά εξίσου σημαντικό, οι μικροβιακές και ιογενείς λοιμώξεις όπως η νόσος Whipple, η παρωτίτιδα, η ανεμευλογιά, η ελονοσία, η shigella και ο κυτταρομεγαλοϊός μπορεί να ακολουθούνται από ωοφωρήτιδα που οδηγεί τελικά σε πρόωρη ανεπάρκεια των ωθηκών [18-20].

2.2. Πτωχή απόκριση των ωοθηκών (POR)

Η πτωχή απόκριση των ωοθηκών (POR) στα πρωτόκολλα της διέγερσης είναι μία από τις πιο δύσκολες περιπτώσεις που καλούνται οι κλινικοί να αντιμετωπίσουν για να επιτύχει η θεραπεία με τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Διάφορες μελέτες έχουν διασαφηνίσει τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που οδηγούν στο φαινόμενο της κακής ωοθηκικής ανταπόκρισης [21-26]. Η ηλικία της μητέρας παίζει καθοριστικό ρόλο. Η γήρανση επηρεάζει και τον πυρήνα του ωαρίου επηρεάζοντας δυσμενώς τον σχηματισμό της ατράκτου και το κυτταρόπλασμα, μειώνοντας τον αριθμό των μιτοχονδρίων και μεταβάλλοντας έτσι τον κυτταρικό σκελετό [21-26]. Ως αποτέλεσμα αυτών των μηχανισμών, υπάρχει μια πτώση όσον αφορά στον αρχικό αριθμό και την ποιότητα των ωοθυλακίων. Ταυτόχρονα, η μη φυσιολογική πρωτεϊνικά σπονδυλική στήλη που σχετίζεται με την ηλικία μπορεί να προκαλέσει ανωμαλίες στη διάφανη ζώνη στα ωάρια [27]. Παρόλο που η AMA έχει αποδειχθεί ότι είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παθογενετικούς παράγοντες, η παρουσία πτωχής ανταπόκρισης των ωοθηκών σε γυναίκες μικρότερης ηλικίας έχει οδηγήσει σε περαιτέρω διερεύνηση του θέματος. Έχουν παρατηρηθεί ανωμαλίες σχετιζόμενες με το ενδοκρινικό σύστημα και προκαλούνται κυρίως από ποσοτικές διαταραχές των υποδοχέων της ωοθηλακιοτρόπου ορμόνης (FSH-R), ελαττωματική ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος μετά από σύνδεση των FSH υποδοχέων(FSH-R) και πολυμορφισμούς των FSH-R. Είναι ενδιαφέρον ότι δύο κοινοί πολυμορφισμοί των FSH υποδοχέων σχετίζονται με μειωμένη ανταπόκριση στη διέγερση των ωοθηκών κατά τη διάρκεια της θεραπείας για εξωσωματική γονιμοποίηση καθώς και υψηλά βασικά επίπεδα της FSH [28-30]. Αυτοί οι πολυμορφισμοί είναι δύο μονές νουκλεοτιδικές μεταβολές στο εξόνιο 10 του FSH υποδοχέα, με αποτέλεσμα την δημιουργία δύο υποκατάστατων αμινοξέων [28]. Παρά το γεγονός ότι έχουν καταβληθεί μεγάλες προσπάθειες για να αποκαλυφθεί η παθοφυσιολογία της πτωχής ανταπόκρισης των ωοθηκών, ένα μεγάλο ποσοστό των περιπτώσεων αυτών παραμένει ανεξήγητο [31]. Ως αποτέλεσμα της χαοτικής φύσης της παθοφυσιολογίας της, ο ορισμός της πτωχής απόκρισης των ωοθηκών διαφέρει ευρέως στη βιβλιογραφία, καθιστώντας την διάγνωσή της πρόκληση [32-34].

2.3. Αυξημένη μητρική ηλικία (AMA)

Παρά το γεγονός ότι φυσιολογικά παρατηρείται και αναμένεται μια μειωμένη ωοθηκική λειτουργία με την πρόοδο της ηλικίας των γυναικών, η διαχείριση των AMA γυναικών που επιδιώκουν τη θεραπεία της γονιμότητας είναι εξαιρετικά δύσκολη για τους κλινικούς γιατρούς. Οι γυναίκες σε προχωρημένη ηλικία που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση τείνουν να παρουσιάζουν πτωχή ανταπόκριση στην διέγερση των ωοθηκών [35-37]. Επιπλέον, τείνουν να παράγουν κακής ποιότητας ωάρια και έμβρυα χαμηλού δυναμικού εμφύτευσης. Οι κύκλοι θεραπείας με εξωσωματική γονιμοποίηση στις γυναίκες αυτές παρουσιάζουν υψηλό ποσοστό αποτυχίας επίτευξης κλινικής εγκυμοσύνης και χαμηλά ποσοστά ζωντανών γεννήσεων σε σύγκριση με γυναίκες σε αναπαραγωγική ηλικία που σχετίζονται με ευνοϊκή πρόγνωση [38,39]. Επιπλέον, αυτή η ομάδα γυναικών συσχετίζεται με πληθώρα επιπλοκών στην εγκυμοσύνη, υψηλότερα ποσοστά αποβολών και αυξημένη συχνότητα συγγενών ανωμαλιών [40-42]. Παρά το γεγονός ότι όλα τα προαναφερθέντα αποτελούν καθιερωμένη και ευρέως διαδεδομένη γνώση, η επιδίωξη εγκυμοσύνης άνω των 40 ετών έχει εξελιχθεί ως τάση στις μέρες μας. Μια άλλη σημαντική παράμετρος που καθιστά εξαιρετικά δύσκολη τη διαχείριση των γυναικών με AMA, είναι η έλλειψη κοινής απόφασης που παρατηρείται από τους επαγγελματίες υγείας σχετικά με το ηλικιακό όριο της εφαρμογής διαφόρων πτυχών της αναπαραγωγικής ιατρικής [43-45]. Ορισμένες μελέτες υποδεικνύουν ότι η ηλικία των 40 ετών θα πρέπει να είναι το σημείο αναφοράς στο οποίο καθίσταται σημαντική η συσχέτιση μεταξύ προχωρημένης ηλικίας για επίτευξη εγκυμοσύνης και υπογονιμότητας [46]. Τα δημοσιευμένα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η μείωση του αναπαραγωγικού δυναμικού είναι πιο έντονη μεταξύ των ηλικιών 35 και 40 και μειώνεται δραματικά μετά από τα 40 έτη [47]. Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να τονιστεί ότι παρατηρείται υψηλή ετερογένεια όσον αφορά το βιολογικό προφίλ των γυναικών με αυξημένη ηλικία. Μετά την ηλικία των 40 ετών και καθώς μειώνεται το αναπαραγωγικό δυναμικό, οι γυναίκες βιώνουν μια περίοδο γνωστή ως «κλιμακτήριος» [47]. Η κλιμακτήριος δεν είναι τυπική και διαφέρει μεταξύ των γυναικών. Μετά την κλιμακτήριο, η οποία μπορεί να διαρκέσει δέκα χρόνια, οι γυναίκες εισέρχονται στην εμμηνόπαυση. Το κύριο κριτήριο για την κατηγοριοποίηση μιας γυναίκας ως εμμηνόπαυσιακή είναι η απουσία

της έμμηνου ρύσεως για τουλάχιστον 12 μήνες [48]. Η μέση ηλικία για την είσοδο στην εμμηνόπαυση είναι η ηλικία των 51 ετών στις δυτικές χώρες [49]. Ωστόσο, αυτή η ηλικία κυμαίνεται σημαντικά μεταξύ των ατόμων και έτσι είναι εξαιρετικά δύσκολο για τους κλινικούς ιατρούς να διαχειριστούν αυτή την ομάδα γυναικών, επειδή φαίνεται ότι η βιολογική ηλικία της γυναίκας που συσχετίζεται με το αντίστοιχο δυναμικό γονιμότητάς τους, μπορεί να διαφέρει σημαντικά από τη χρονολογική ηλικία τους [47]. Αυτό μπορεί να αποτελεί τον κύριο λόγο που εξηγεί την έλλειψη ενός κοινού καθολικού πρωτοκόλλου σχετικά με τη βέλτιστη διαχείριση που σχετίζεται με την ηλικία στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγική ιατρική. Όλα τα προαναφερθέντα γεγονότα μπορεί να τεθούν ως βασικές ανησυχίες σχετικά με την κατάλληλη διαχείριση των γυναικών με AMA για την διεξαγωγή υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, καθώς οι θεραπευτικές επιλογές σε αυτές τις περιπτώσεις είναι περιορισμένες.

3. Οι τρέχουσες επιλογές στη διαχείριση της ωοθηκικής ανεπάρκειας

Η διαχείριση των γυναικών με ωοθηκική ανεπάρκεια είναι εξαιρετικά δύσκολη λόγω του ευρέος φάσματος των παθοφυσιολογικών καταστάσεων που οδηγούν στην αποτυχία της λειτουργίας των ωοθηκών.

Όσον αφορά στη διαχείριση των γυναικών με πτωχή ανταπόκριση των ωοθηκών και προχωρημένη ηλικία, οι έρευνες έχουν μέχρι στιγμής επικεντρωθεί στην τόνωση των ωοθηκών χρησιμοποιώντας διαφορετικά πρωτόκολλα διέγερσής τους. Παρουσιάζοντας μια νέα γραμμή θεραπείας, πρόσφατες μελέτες αποδεικνύουν ότι τα πρωτόκολλα διέγερσης των ωοθηκών για γυναίκες με πτωχή ανταπόκριση θα πρέπει να μιμούνται τον φυσικό κύκλο της εμμήνου ρύσεως της γυναίκας, αποφεύγοντας υψηλές δόσεις χορήγησης εξωγενών γοναδοτροπινών και καταστολή του άξονα Υποθάλαμος- Υπόφυση- Γονάδες. Η θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης (HR), συμπεριλαμβανομένης της χορήγησης αυξητικής ορμόνης (GH) με ή χωρίς θεραπεία εξωσωματικής γονιμοποίησης, παρουσιάζεται ως πρόσθετη επιλογή για τις γυναίκες με AMA που ταξινομούνται ως πτωχές

ανταποκρίτριες. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα της HR παραμένει θέμα υπό συζήτηση [7,50]. Παρά τις προόδους που έγιναν στον τομέα αυτόν, οι επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι οι γυναίκες που έχουν διαγνωστεί σύμφωνα με τα κριτήρια της Μπολόνιας, οι οποίες υποβάλλονται σε συμβατική IVF/ICSI παρουσιάζουν συνολικό ποσοστό εγκυμοσύνης 18,7%, ποσοστό εμφύτευσης 11,6%, ποσοστό γεννήσεως 11,5% ποσοστό ανά κύκλο μεταφοράς εμβρύου και ρυθμό αποτυχίας του κύκλου 23,6% [51]. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι το ποσοστό επιτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης σε γυναίκες με πτωχή ανταπόκριση των ωοθηκών είναι σημαντικά μειωμένο σε σύγκριση με το συνολικό ποσοστό επιτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης και της ενδο-κυτταροπλασματικής σπερματέγχυσης που κυμαίνεται από 30-35%. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι μόνο το 33% των γυναικών με πτωχή ανταπόκριση των ωοθηκών που απέτυχαν στην πρώτη προσπάθεια IVF / ICSI ακολούθησε έναν δεύτερο κύκλο. Σύμφωνα με αυτή την ενδεικτική μελέτη, από εκείνες που έκαναν δεύτερο κύκλο, το 36% ξεκίνησε έναν τρίτο κύκλο και από εκείνες που επιχείρησαν έναν τρίτο κύκλο το 45% ξεκίνησε έναν τέταρτο κύκλο [52]. Με την υποβαθμισμένη ποιότητα και απόδοση των ωαρίων, μαζί με μια ευαίσθητη στο χρόνο φύση, η πρόκληση της αποτελεσματικής θεραπείας των γυναικών παραμένει [30]. Από τα διάφορα προτεινόμενα πρωτόκολλα διέγερσης [53], τους φυσικούς κύκλους [30], την προσέγγιση "freezeandcollect" [50] και την πρακτική ανάκτησης ωαρίων στην ωχρινική φάση, μερικές φορές οι επαγγελματίες μπορούν να επιλέξουν μια εμπειρική προσέγγιση για την κάθε γυναίκα.

Τα δημοσιευμένα δεδομένα δείχνουν σαφώς ότι έως τώρα υπάρχει έλλειψη εφαρμογής μιας πρότυπης θεραπείας για τις γυναίκες αυτές. Είναι κατανοητό ότι τα πρωτόκολλα που εφαρμόστηκαν με επιτυχία σε ορισμένες γυναίκες αποδείχθηκαν ανεπιτυχή για κάποιες άλλες [54]. Λαμβάνοντας υπόψη τα προαναφερθέντα, φαίνεται ότι η πτωχή ανταπόκριση των ωοθηκών περιλαμβάνει αρκετούς διαφορετικούς υποπληθυσμούς και στερείται ενός ισχυρού ορισμού για την κατάλληλη κατηγοριοποίηση των γυναικών, έτσι παρατηρούνται αποκλίσεις καθώς και τεράστια ετερογένεια μεταξύ των δημοσιευμένων δεδομένων. Οπότε και οι επιλογές θεραπείας παρουσιάζουν

αντικρουόμενες αποδείξεις, είτε επιβεβαιώνοντας είτε αμφισβητώντας, την εγκυρότητα της αποτελεσματικότητάς τους στη διαχείριση των γυναικών με πτωχή ανταπόκριση των ωοθηκών στα πρωτόκολλα διέγερσής τους και στις γυναίκες με AMA.

Οι επιλογές θεραπείας όσον αφορά τις γυναίκες που παρουσιάζουν POI είναι σημαντικά πιο περιορισμένες σε σύγκριση με εκείνες με POR στην διέγερση των ωοθηκών. Οι προσπάθειες αντιμετώπισης της πρόωρης ωοθηκικής ανεπάρκειας έχουν επικεντρωθεί μέχρι στιγμής στην κρυοσυντήρηση ωαρίων για γυναίκες που έχουν διαγνωστεί με κακοήθεια πριν από την υποβολή τους σε γοναδοτοξική θεραπεία (χημειοθεραπεία) και στην αντιμετώπιση της ωοθηκικής λειτουργίας χρησιμοποιώντας αντικατάσταση ορμονών για γυναίκες που παρουσιάζουν ιδιοπαθή πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια [5,55]. Ακόμη και αν οι γυναίκες με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά με ορμονική αντικατάσταση, η επιτυχία της μεθόδου IVF/ICSI μειώνεται σημαντικά, κυρίως λόγω του γεγονότος ότι οι γυναίκες με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια τείνουν να παρουσιάζουν πτωχή ανταπόκριση στην διέγερση των ωοθηκών, να παράγουν κακή ποιότητα ωαρίων και έμβρυα χαμηλού δυναμικού εμφύτευσης [56]. Όσον αφορά την κρυοσυντήρηση των ωαρίων, οι πρόσφατες εξελίξεις στον τομέα της κρυοσυντήρησης, που εισήγαγαν την υαλοποίηση ως βασική τεχνική κρυοσυντήρησης, οδήγησαν σε εξαιρετικά υψηλά ποσοστά ζωντανών γεννήσεων που κυμαίνονταν από 30-40% για υαλοποίηση εμβρύου και 30% για υαλοποίηση ωαρίων. Εντούτοις, η κρυοσυντήρηση των ωαρίων και των εμβρύων μπορεί να μην παρουσιάζει καθολική δυνατότητα επιλογής λόγω οικονομικών και νομοθετικών εμποδίων [57,58].

Παρά το γεγονός ότι οι προαναφερόμενες επιλογές μπορούν να χρησιμοποιηθούν συνήθως στην κλινική πρακτική, η αποτελεσματικότητά τους είναι αμφισβητήσιμη και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το προφίλ των γυναικών. Μετά από αρκετές αποτυχημένες προσπάθειες θεραπείας, η μεγάλη πλειοψηφία των γυναικών που παρουσιάζουν ωοθηκική ανεπάρκεια υποβάλλονται σε θεραπεία εξωσωματικής γονιμοποίησης χρησιμοποιώντας δωρεά ωαρίων ως τελευταία λύση στην αντιμετώπιση της υπογονιμότητας ή εναλλακτικά μπορούν να επιλέξουν την υιοθεσία. Ωστόσο, οι επιλογές αυτές

δεν είναι πάντοτε ευπρόσδεκτες από τις γυναίκες, που εκφράζουν τακτικά την επιθυμία τους να διερευνήσουν όλες τις επιλογές και να εξαντλήσουν τη δυνατότητα να χρησιμοποιήσουν τους δικούς τους γαμέτες εξασκώντας έτσι το δικαίωμά τους για αναπαραγωγική αυτονομία. Επιπλέον, η νομοθεσία σε αρκετές χώρες καθορίζει αυστηρά νομικά όρια όσον αφορά τη δωρεά των ωαρίων, δημιουργώντας μια πλατφόρμα περιορισμένων επιλογών για αυτά τα ζευγάρια [58]. Αναμφισβήτητα, η ανεπάρκεια των ωοθηκών και η θεραπεία τους ή μάλλον η έλλειψη μιας καθολικά αποδεκτής γραμμής προσέγγισης, παραμένουν ένα αίνιγμα για τους επαγγελματίες υγείας, ενώ η επιδίωξη της βέλτιστης διαχείρισης των περιπτώσεων αυτών παραμένει υπό διερεύνηση.

Μια νέα εποχή στον τομέα της αναπαραγωγικής ιατρικής, η οποία έχει αναπτυχθεί δυναμικά κατά την τελευταία δεκαετία, μπορεί να αποτελέσει το κλειδί για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της ωοθηκικής ανεπάρκειας στο πλαίσιο της θεραπείας της υπογονιμότητας. Πρόσφατες μελέτες που διερευνούν την αναγεννητική δυναμική των ωοθηκών αποδεικνύουν ότι η ωοθυλακική ανάπτυξη θα μπορούσε να διεγερθεί όταν αποκατασταθεί επαρκώς το ωοθηκικό περιβάλλον [2]. Αυτή η αποκατάσταση μπορεί να επιτευχθεί με παράγοντες αναγεννητικού δυναμικού όπως τα βλαστοκύτταρα, τους απομονωμένους αυξητικούς παράγοντες ή το πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια (PRP) [59]. Επιπρόσθετα, οι πρόσφατες εξελίξεις της βιολογίας των βλαστοκυττάρων επιτρέπουν τον επαναπρογραμματισμό διαφοροποιημένων κυττάρων σε βλαστοκύτταρα και στη συνέχεια σε κύτταρα που μοιάζουν με γαμέτες, γνωστά και ως τεχνητοί γαμέτες [3]. Τέλος, πρόσφατες μελέτες καταδεικνύουν ότι η λειτουργία των μιτοχονδρίων συνδέεται στενά με τη γήρανση των ωαρίων και την αποτυχία της γονιμοποίησής τους [60,61]. Αυτά τα δεδομένα, σε συνδυασμό με την πρόσφατη τεχνολογική εξέλιξη που επιτρέπει σχεδόν πλήρη αντικατάσταση του κυτταροπλάσματος ενός ωαρίου, εισάγει τη νέα προσέγγιση της θεραπείας μιτοχονδριακής αντικατάστασης για την αναζωογόνηση των ωαρίων που οδηγεί σε μια προηγμένη κυτταρική αναγέννηση.

4. Νέες προσεγγίσεις στη διαχείριση της ωοθηκικής ανεπάρκειας

4.1. Μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων

Η θεραπεία με βλαστοκύτταρα έχει σημειώσει σημαντική επιτυχία στον τομέα της αναγεννητικής ιατρικής κατά τις τελευταίες δύο δεκαετίες. Ο όρος «βλαστοκύτταρα» χρησιμοποιείται για να περιγράψει ένα ευρύ φάσμα αδιαφοροποίητων κυττάρων του ανθρώπινου σώματος που έχουν την ικανότητα να αυτοανανεώνονται, να πολλαπλασιάζονται και να διαφοροποιούνται σε διάφορους τύπους κυττάρων ειδικών οργάνων και ιστών. Είναι παρόντα τόσο σε έμβρυα όσο και σε ενήλικους ιστούς και το δυναμικό τους συνδέεται άμεσα με την προέλευσή τους [62]. Λόγω της ικανότητάς τους να αναπτύσσονται, τα βλαστοκύτταρα μπορεί να αντιπροσωπεύουν σήμερα τον βασικό άξονα στον τομέα της Αναγεννητικής Ιατρικής. Σύμφωνα με την αναπτυξιακή τους δυναμική, τα βλαστοκύτταρα χωρίζονται σε τέσσερις κύριες κατηγορίες τα παντοδύναμα, τα πολυδύναμα, τα ολιγοδύναμα και τα μονοδύναμα βλαστοκύτταρα [62]. Πολλές μελέτες υποδεικνύουν την πιθανή θεραπευτική αξία των βλαστοκυττάρων όσον αφορά αρκετές παθοφυσιολογικές καταστάσεις, όπως καρδιαγγειακές παθήσεις, πνευμονικές παθήσεις, φλεγμονώδεις ασθένειες και καρκίνο [63-67].

Όπως αναμενόταν, μετά την επιτυχή εφαρμογή της θεραπείας με βλαστοκύτταρα σε διάφορα ανθρώπινα συστήματα, η διερεύνηση της πιθανής χρήσης της θεραπείας με βλαστοκύτταρα στο πλαίσιο της θεραπείας του θηλυκού αναπαραγωγικού συστήματος έγινε το επίκεντρο της έρευνας. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στη διαχείριση της υπογονιμότητας που σχετίζεται με την ωοθηκική ανεπάρκεια. Η έκρηξη ενδιαφέροντος που έδειξε η επιστημονική κοινότητα σχετικά με την πιθανή χρήση της θεραπείας βλαστοκυττάρων στη θεραπεία της υπογονιμότητας απεικονίζεται σε μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση που δημοσιεύτηκε από τους Fazelli et al. το 2018. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι περισσότερες από 11.400 δημοσιευμένες μελέτες έχουν διερευνήσει την πιθανή χρήση βλαστοκυττάρων ως αποτελεσματική θεραπεία για διάφορες καταστάσεις που οδηγούν σε ανδρική και γυναικεία υπογονιμότητα [68]. Από την ανανέωση του ενδομητρίου σε γυναίκες που παρουσιάζουν σύνδρομο Asherman, έως την αποκατάσταση ωοθηκικών λειτουργιών σε πτωχές ανταποκρίτριες, τα

βλαστοκύτταρα παρουσιάζονται ως ένα ελκυστικό θεραπευτικό εργαλείο στον τομέα της Αναπαραγωγικής Αναγεννητικής Ιατρικής [69,70].

Μελέτες έχουν επικεντρωθεί μέχρι τώρα στη χρήση των πολυδύναμων βλαστοκυττάρων και ιδιαίτερα των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων (MSC=mesenchymal stem cells) ως πιθανό θεραπευτικό εργαλείο για την ωοθηκική ανεπάρκεια. Όσον αφορά την πηγή προέλευσης αυτών των κυττάρων, μετά τον σχηματισμό του ενδοδερμικού, του μεσοδερμικού και του εξωδερμικού ιστού, αν και χάνεται η πολυδύναμη φύση των ανθρώπινων εμβρυϊκών βλαστοκυττάρων (hESCs= human embryonic stem cells), τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από τις προαναφερθείσες βλαστικές στοιβάδες αποτελούν πολυδύναμη κατηγορία βλαστικών κυττάρων. Τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα αποτελούν τη μεγαλύτερη και καλύτερα μελετημένη κατηγορία βλαστοκυττάρων. Αρκετοί τύποι βλαστοκυττάρων όπως τα προγονικά κύτταρα ενδοθελίου, τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, οι σκελετικοί μυοβλάστες και τα MSCs ανήκουν στην κατηγορία των πολυδύναμων βλαστοκυττάρων. Αυτά τα κύτταρα υπάρχουν σε διάφορους ιστούς και όργανα τόσο του εμβρύου όσο και του ενήλικα και έχουν απομονωθεί με επιτυχία από αυτά, συμπεριλαμβανομένου του λιπώδους ιστού, του μυελού των οστών, του δέρματος, των νευρικών ιστών, των τενόντων, των αρθρικών μεμβρανών και του εμμηνορρυσιακού αίματος [71]. Αυτά είτε παραμένουν αδιαφοροποίητα παρέχοντας μια απεριόριστη πηγή κυττάρων που μπορούν να πολλαπλασιαστούν σχηματίζοντας τις επόμενες γενεές βλαστοκυττάρων, είτε μπορούν να διαφοροποιηθούν σε κυτταρικούς τύπους ειδικών οργάνων υπό την επίδραση συγκεκριμένων φυσιολογικών διεργασιών. Επιπλέον, αυτά τα κύτταρα διατηρούν την ικανότητα αυτοανανέωσης [62,72,73]. Εκτός από αυτές τις μοναδικές ιδιότητες, αυτά τα κύτταρα χαρακτηρίζονται περαιτέρω από τον σταθερό φαινότυπο τους και από το ήπιο ανοσολογικό και μεταβολικό τους προφίλ. Οι προαναφερθείσες εξαιρετικές ιδιότητες έχουν μεγάλη σημασία και αποδίδουν τα βλαστοκύτταρα ως ένα αξιοσημείωτο "εργαλείο" στην υπηρεσία της μεταμόσχευσης και της στοχευμένης θεραπείας. Επιπλέον, το μοναδικό προφίλ των πολυδύναμων βλαστοκυττάρων μειώνει την απόρριψη και τον καρδιαγγειακό κίνδυνο και

αυξάνει το ποσοστό επιβίωσης των βλαστοκυττάρων καθιστώντας τη θεραπεία αποτελεσματικότερη και ασφαλέστερη [73,74].

Λαμβάνοντας υπόψη την παθοφυσιολογία της ωοθηκικής ανεπάρκειας σε συνδυασμό με το θεραπευτικό δυναμικό των βλαστοκυττάρων, η χρήση τους ως πιθανό θεραπευτικό εργαλείο φαίνεται να είναι πολλά υποσχόμενη. Η θεραπεία με βλαστοκύτταρα θα μπορούσε ίσως να αντιπροσωπεύει το κομμάτι που λείπει από το παζλ για να ξεπεράσει τις προκλήσεις που αντιμετωπίζουν οι κλινικοί γιατροί στη διαχείριση και τη θεραπεία αυτών των υπογόνιμων ζευγαριών. Τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα μπορούν να προκαλέσουν αποτελεσματική αναγέννηση ιστών, με τη μεσολάβηση των δύο εξαιρετικών και μοναδικών ικανοτήτων που τα χαρακτηρίζουν. Από τη μία πλευρά, αυτά τα κύτταρα είναι σε θέση να μεταναστεύσουν σε κατεστραμμένους ιστούς και όργανα και να διαφοροποιηθούν σε ιστικά ειδικά κύτταρα, προωθώντας διαδικασίες επούλωσης [73-74]. Από την άλλη πλευρά, αρκετές μελέτες αποδεικνύουν ότι διάφορα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα έχουν την ικανότητα να λειτουργούν ως παρακρινικοί διαμορφωτές. Αυτά τα κύτταρα είναι ικανά να εκκρίνουν ένα ευρύ φάσμα αυξητικών παραγόντων, χημειοκινών και μιτογόνων πρωτεϊνών και μέσω αυτών είναι ικανά να προάγουν τον πολλαπλασιασμό και την αγγείωση. Μεταξύ αυτών των παραγόντων είναι ο παράγοντας μετασχηματισμού α (TGF- α), ο TGF- β , ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας και ο IGF-1 [75-77]. Επιπλέον, τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα είναι ικανά να ρυθμίζουν την ανοσοαπόκριση και να παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Αυτά τα κύτταρα είναι ικανά να εκκρίνουν διάφορους αυξητικούς παράγοντες και αντιφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως μέλη της οικογένειας της ιντερλευκίνης, παράγοντα νέκρωσης του όγκου και ιντερφερόνη γ (INF- γ). Επιπλέον, αρκετές μελέτες αποδεικνύουν ότι τα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα έχουν αντι-αποπτωτικές ιδιότητες που περιορίζουν τον εκφυλισμό των ιστών [78,79]. Όσον αφορά στην ωοθηκική λειτουργία, αρκετές μελέτες αποδεικνύουν ότι η ωοθήκη μπορεί να προσελκύσει πολλούς τύπους αδιαφοροποίητων κυττάρων από άλλα όργανα και ιστούς και ειδικά από μυελό των οστών. Αυτά τα κύτταρα είναι ικανά να μεταναστεύσουν στις ωοθήκες που υποστηρίζουν την ωοθυλακιογένεση με μια διαδικασία γνωστή ως "homing" [80]. Μετά τη μετανάστευση προς τις

ωοθήκες, αυτά τα κύτταρα εκκρίνουν διάφορους αυξητικούς παράγοντες και ορμόνες που ενορχηστρώνουν τη λειτουργία των ωοθηκών. Λαμβάνοντας υπόψη την παθοφυσιολογική βάση της ανεπάρκειας των ωοθηκών που περιλαμβάνει εκφυλιστικά φαινόμενα οδηγώντας στην κατάρρευση της εξειδίκευσης της ωοθήκης και στη διάσπαση του μοριακού δικτύου που ελέγχει την αγγειοποίησή τους, είναι εύκολο να κατανοηθεί το σκεπτικό πίσω από τη χρήση των πολυδύναμων βλαστοκυττάρων ως πιθανό θεραπευτικό εργαλείο. Τα βλαστοκύτταρα θα μπορούσαν να αποκαταστήσουν τη λειτουργία των ωοθηκών μέσω της έκκρισης αρκετών ορμονών και του αυξητικού παράγοντα που προκαλούν αγγειογένεση και αναγέννηση ιστών.

Η πιθανή θεραπευτική αξία των βλαστοκυττάρων στην ωοθηκική ανεπάρκεια αναφέρθηκε για πρώτη φορά περίπου πριν από 25 χρόνια. Ο Sanders et al. (1996) δημοσίευσε μια αναδρομική μελέτη παρατήρησης που υποδεικνύει ότι γυναίκες με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με υψηλή δόση κυκλοφωσφαμιδίου με ή χωρίς υψηλή δόση βουσουλφάνης όλου του σώματος και μεταμόσχευση μυελού των οστών παρουσίασαν υψηλή συχνότητα αποκατάστασης ωοθηκικής λειτουργίας και ήταν σε θέση να επιτύχουν φυσική σύλληψη [81]. Αρκετές άλλες δημοσιευμένες αναφορές υποδεικνύουν ότι η αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας θα μπορούσε να επιτευχθεί μετά από μεταμόσχευση μυελού των οστών σε ορισμένες γυναίκες με POF που είχαν προηγουμένως υποβληθεί σε θεραπεία με υψηλή δόση χημειοθεραπείας ή / και ακτινοβολία όλου του σώματος [82,83]. Η αρχική πλευρά σχετικά με τον μηχανισμό μέσω του οποίου τα βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών θα μπορούσαν να αποκαταστήσουν τη λειτουργία των ωοθηκών ήταν ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών (BMSCs= bone marrow mesenchymal stem cells) θα μπορούσαν να διαφοροποιηθούν σε γαμετικά βλαστικά κύτταρα (GSCs= gamete stem cells) που προκαλούν εκ νέου ωογένεση. Ωστόσο, μελέτες τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζωικά μοντέλα έδειξαν ότι τα βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών δεν διαφοροποιούνται σε γαμετικά βλαστικά κύτταρα και δεν συμβάλλουν στο σχηματισμό νέων ώριμων ωαρίων που κάνουν ωορρηξία. Αντίθετα, αυτές οι μελέτες αποκάλυψαν ότι τα βλαστοκύτταρα του μυελού των οστών είναι σε θέση να μεταναστεύσουν στις ωοθήκες μέσω της κυκλοφορίας,

επιδεικνύοντας αναγεννητικές ιδιότητες μέσω της έκκρισης αρκετών ορμονών και αυξητικών παραγόντων. Τα BMSCs θα μπορούσαν να αποκαταστήσουν τη λειτουργία των προϋπαρχόντων άθικτων ωοθυλακίων, οδηγώντας τελικά στην αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας [84-87].

Μετά τη δημοσίευση των προαναφερθέντων παρατηρήσεων, διεξήχθησαν πολυάριθμες μελέτες που διερευνούν την πιθανή χρήση βλαστοκυττάρων για την ωοθηκική ανεπάρκεια. Η μεταμόσχευση BMSCs εξετάστηκε ως θεραπευτικό εργαλείο σε μελέτες με ζώα όπου χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα ποντικών και αρουραίων με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια που προκλήθηκε από χημειοθεραπεία ή γήρανση. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων μυελού των οστών θα μπορούσε να αποκαταστήσει αποτελεσματικά τη λειτουργία των ωοθηκών σε ζωικά μοντέλα που επάγονται με χορήγηση βουσουλφάνης, κυκλοφωσφαμίδης ή / και σισπλατίνης. Έχει παρατηρηθεί ότι η μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων του μυελού των οστών μπορεί να βελτιώσει σημαντικά την έκκριση οιστρογόνων και την επανενεργοποίηση της ανάπτυξης των ωοθυλακίων. Επιπλέον, τα BMSCs μείωσαν την απόπτωση των κοκκιωδών κυττάρων και προκάλεσαν την εμφάνιση αγγειογένεσης. Μετά την αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας, αναφέρθηκαν αυθόρμητες κυήσεις στα μεταμοσχευμένα ζώα με BMSCs με αποτέλεσμα τη γέννηση υγιών νεογνών [68,80,88-92]. Τα ενδιαφέροντα αποτελέσματα παρουσιάζονται επίσης στη μελέτη των Herraiz et al. (2018) στην οποία η πιθανή αξία και η αποτελεσματικότητα ανθρώπινων βλαστοκυττάρων μυελού των οστών, εξετάστηκαν σε ένα ζωικό μοντέλο που μιμείται την κατάσταση της πτωχής ανταπόκρισης των ωοθηκών. Σύμφωνα με το χρησιμοποιούμενο πρωτόκολλο, ανοσοανεπαρκή ωοθηκεκτομηθέντα ποντίκια μεταμοσχεύθηκαν με θραύσματα φλοιού των ωοθηκών από άλλα που παρουσίαζαν POR. Μετά από τη μεταμόσχευση οι ποντικοί υποβλήθηκαν σε αγωγή με ανθρώπινα C133 + BMSC που εγχύθηκαν στην ουραία φλέβα. Τα C133 + BMSC συλλέχθηκαν από το περιφερικό αίμα των ποντικών με πτωχή ανταπόκριση των ωοθηκών. Η κινητοποίηση των βλαστοκυττάρων του μυελού των οστών έγινε σε δέκα πτωχές ανταποκρίτριες που εγχύθηκαν με τον παράγοντα G-CSF (granulo cytecolony stimulating factor) και δείγματα αίματος συλλέχθηκαν πέντε ημέρες μετά από τις ενέσεις.

Μετά την έγχυση των BMSCs παρατηρήθηκαν ενδιαφέροντα αποτελέσματα, συμπεριλαμβανομένης της αποκατάστασης γονιμότητας και αυθόρμητης εγκυμοσύνης. Επιπροσθέτως, τα BMSCs βελτίωσαν σημαντικά την έκκριση οιστρογόνων και επανενεργοποίησαν με επιτυχία την ανάπτυξη των ωοθυλακίων στις ωοθήκες ποντικών με πτωχή ανταπόκριση στα πρωτόκολλα διέγερσης των ωοθηκών. Περαιτέρω, τα BMSCs μείωσαν την απόπτωση των κοκκιωδών κυττάρων και προκάλεσαν την εμφάνιση τοπικής αγγείωσης. Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι μετά την προαναφερθείσα θεραπεία ελήφθησαν επιτυχώς ώριμα ωάρια στο στάδιο της μεταφάσης II, καθώς και έμβρυα στο στάδιο των δύο κυττάρων [2]. Λαμβάνοντας υπόψη τα προαναφερθέντα, μελέτες τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζωικά μοντέλα παρέχουν δεδομένα που δείχνουν ότι η μεταμόσχευση με BMSCs θα μπορούσε να είναι μια αποτελεσματική θεραπεία όσον αφορά στην αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας σε γυναίκες με POI, με POR και με AMA [92,93].

Μετά από τα ενθαρρυντικά δημοσιευμένα στοιχεία που δείχνουν την πιθανή χρήση των BMSCs για την αντιμετώπιση της ανεπάρκειας των ωοθηκών, το θεραπευτικό δυναμικό άλλων πηγών βλαστοκυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπινων αμνιακών βλαστοκυττάρων (hAFC=human amniotic fluid cells), των ανθρώπινων ενδομήτριων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων (EnSCs= endometrial mesenchymal stem cells), του μεσεγχυματικού στελέχους του ομφάλιου λώρου (UCMSCs= umbilical's cord mesenchymal stem cells) και τα προερχόμενα από λιπώδη κύτταρα αρχέγονα κύτταρα (ADSCs= adipose derived stem cells), έχει διερευνηθεί σε αρκετές πρόσφατες μελέτες που χρησιμοποιούν μοντέλα ζώων με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια [92]. Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι τα βλαστοκύτταρα που προέρχονται από τις προαναφερθείσες πηγές είναι ικανά να επάγουν αναγεννητικά φαινόμενα σε αυτές τις ωοθήκες, παρόμοια με εκείνα που αναφέρθηκαν μετά από μεταμόσχευση με BMSCs [94-98]. Αυτές οι παρατηρήσεις έχουν μεγάλη σημασία επειδή η θεραπεία με την συγκεκριμένη ομάδα βλαστοκυττάρων απαιτεί επεμβατικές διαδικασίες σχετικά με την αυτόλογη μεταμόσχευση ή συμβατούς δότες σε περιπτώσεις ετερόλογης μεταμόσχευσης, καθιστώντας την μεταμόσχευση αρκετά δύσκολη στην κλινική πρακτική. Τα αποτελέσματα από τις προαναφερθείσες μελέτες

αποδεικνύουν ότι υπάρχουν αρκετές εύκολα προσβάσιμες πηγές βλαστοκυττάρων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αναζωογόνηση των ωοθηκών.

Παρά τα ενδιαφέροντα αποτελέσματα που προέκυψαν από μελέτες σε ζώα σχετικά με τη θεραπεία βλαστοκυττάρων στην ωοθηκική ανεπάρκεια, μόνο μερικές κλινικές μελέτες έχουν μέχρι σήμερα διερευνήσει την πιθανή θεραπευτική αξία αυτών των κυττάρων στον άνθρωπο. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι υπάρχουν αρκετοί περιορισμοί που πηγάζουν από τη μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων, παρότι έχουν παρουσιαστεί ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Στη μελέτη των Eddesy et al. (2016), δέκα γυναίκες που παρουσιάζουν ιδιοπαθή πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση αυτόλογων βλαστοκυττάρων στις ωοθήκες. Τα βλαστοκύτταρα συλλέχθηκαν από τον μυελό των οστών των γυναικών και εγχύθηκαν λαπαροσκοπικά στις ωοθήκες. Η αποκατάσταση της εμμήνου ρύσεως επιτεύχθηκε τρεις μήνες μετά την αυτόλογη μεταμόσχευση για δύο γυναίκες, και οδήγησε στη γέννηση ενός ζώντος υγιούς απογόνου [99]. Σε άλλη μελέτη που δημοσιεύθηκε από τους Gabr et. al. (2016), 30 γυναίκες με ιδιοπαθή πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια που υποβλήθηκαν επίσης σε μεταμόσχευση αυτόλογων βλαστοκυττάρων στις ωοθήκες, τα βλαστοκύτταρα συλλέχθηκαν από τον μυελό των οστών των γυναικών. Η κινητοποίηση του μυελού των οστών επιτεύχθηκε μέσω διέγερσης με τον G-CSF. Μετά τη χορήγηση του παράγοντα αυτού, αναρροφήθηκαν 60 ml μυελού των οστών και στη συνέχεια απομονώθηκαν τα βλαστοκύτταρα. Τα βλαστοκύτταρα εγχύθηκαν στις ωοθήκες σε δύο διαφορετικές θέσεις ως εξής: 3-5 εκατομμύρια εγχύθηκαν με λαπαροσκόπηση στον φλοιό των ωοθηκών και 3-5 εκατομμύρια εγχύθηκαν στην ωοθήκη αρτηρία. Η αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης των επιπέδων γοναδοτροπίνης και της αύξησης των οιστρογόνων και της αντι-μυλλέριου ορμόνης (AMH= anti-mullerian hormone), παρατηρήθηκε σε διάρκεια ενός μήνα. Η θεραπευτική αποτελεσματικότητα διατηρήθηκε εντυπωσιακά κατά τη διάρκεια μιας παρακολούθησης 48 εβδομάδων. Τρεις γυναίκες πέτυχαν εγκυμοσύνη μέσω της θεραπείας με IVF και μία γυναίκα ανέφερε εγκυμοσύνη μετά από φυσική σύλληψη [100]. Στην προοπτική πιλοτική μελέτη που δημοσιεύτηκε από τους

Herraiz et al. (2018), αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του πρωτοκόλλου της μεταμόσχευσης βλαστοκυττάρων στις ωοθήκες με αυτόλογο πρωτόκολλο (πρωτόκολλο ASCOT) σε γυναίκες με πτωχή ανταπόκριση των ωοθηκών. Αυτή ήταν η πρώτη κλινική μελέτη που διερεύνει τη θεραπεία με βλαστοκύτταρα για την αναζωογόνηση των ωοθηκών σε γυναίκες που ήταν πτωχές ανταποκρίτριες. Μετά την κινητοποίηση μυελού των οστών με χορήγηση του παράγοντα G-CSF και συλλογή βλαστοκυττάρων με αφαίρεση από περιφερικό αίμα, οι δεκαεπτά γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη υποβλήθηκαν σε έγχυση CD133 + BMSC στις ωοθήκες μέσω ενδοαρτηριακού καθετηριασμού υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση. Το χρονικό πλαίσιο μεταξύ συλλογής βλαστικών κυττάρων και έγχυσής τους ήταν λιγότερο από 24 ώρες για όλες τις γυναίκες. Δύο εβδομάδες μετά την αγωγή με πρωτόκολλο ASCOT παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στον αριθμό των θυλακίων στις ωοθήκες (AFC= antral follicle count). Όπως αναμενόταν, παρατηρήθηκε επίσης αύξηση των επιπέδων της AMH. Μετά από ελεγχόμενη θεραπεία με πρωτόκολλο ανερχόμενης διέγερσης των ωοθηκών (COS), παρατηρήθηκε αύξηση σε σχέση με τον αριθμό των ωοθυλακίων στις ωοθήκες και των ωαρίων που ελήφθησαν κατά τη διάρκεια της ωοληψίας, σε σύγκριση με το προηγούμενο ιατρικό ιστορικό των γυναικών. Ωστόσο, το ποσοστό εμφύτευσης εμβρύου αναφέρθηκε ότι είναι χαμηλό. Πέντε εγκυμοσύνες επιτεύχθηκαν, δύο μετά από έναν κύκλο IVF και τρεις μέσω φυσικής σύλληψης [70]. Η δυνητική αποτελεσματικότητα της θεραπείας με βλαστοκύτταρα καταγράφηκε επίσης σε μια 45χρονη περιεμμηνοπαυσιακή γυναίκα. Η γυναίκα υποβλήθηκε σε αναρρόφηση μυελού των οστών και ελήφθησαν 16 ml BMSCs. Τα βλαστοκύτταρα εγχύθηκαν στις ωοθήκες της γυναίκας μέσω λαπαροσκόπησης. Οκτώ εβδομάδες μετά τη θεραπεία με βλαστοκύτταρα παρατηρήθηκε σημαντική βελτίωση όσον αφορά τον αριθμό των θυλακίων στις ωοθήκες και τα επίπεδα της AMH. Η γυναίκα πέτυχε μια εγκυμοσύνη μέσω ενός IVF κύκλου με κρυοσυντηρημένο έμβρυο. Η γυναίκα υποβλήθηκε σε μη επεμβατική προγεννητική εξέταση που υποδείκνυε φυσιολογικό καρυότυπο και τελικά επιτεύχθηκε μια γέννηση ζώντος νεογνού με καισαρική τομή στις 38 εβδομάδες κύησης. Να σημειωθεί πως δεν παρατηρήθηκαν επιπλοκές στην παιδιατρική παρακολούθηση του νεογνού [101].

Η θεραπεία με βλαστοκύτταρα φαίνεται να είναι μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση. Παρ'όλα αυτά, για να το εφαρμόσουμε με ασφάλεια στην κλινική πρακτική για την αντιμετώπιση της ανεπάρκειας των ωοθηκών στο πλαίσιο της υπογονιμότητας, θα πρέπει να τονιστεί ότι είναι εξίσου απαραίτητο να εξεταστούν τόσο τα πλεονεκτήματα όσο και τα μειονεκτήματα.

Παρά το γεγονός ότι το μεσεγχυματικό στέλεχος του ομφαλίου λώρου (UCMSCs) χαρακτηρίζεται από χαμηλό ανοσολογικό προφίλ, η μεταμόσχευση αλλογενών βλαστοκυττάρων θα μπορούσε να οδηγήσει σε σοβαρή απόρριψη μοσχεύματος, που θέτει σε κίνδυνο την υγεία των γυναικών. Μελέτες αποδεικνύουν ότι η μεταμόσχευση αυτόλογων βλαστοκυττάρων σχετίζεται με αυξημένη θεραπευτική αποτελεσματικότητα, σε σύγκριση με ετερόλογη μεταμόσχευση. Μια από τις 4 γυναίκες που υποβλήθηκαν σε ετερόλογη μεταμόσχευση θα μπορούσε να αντιμετωπίσει σοβαρή χρόνια γυναικολογική παθολογία [93,102]. Στον αντίποδα, μια μεταμόσχευση αυτόλογων βλαστοκυττάρων θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως πιθανή λύση σε μια προσπάθεια εξάλειψης του κινδύνου απόρριψης του μοσχεύματος. Ωστόσο, μέχρι σήμερα, η μεταμόσχευση αυτόλογων βλαστοκυττάρων απαιτεί επεμβατικές διαδικασίες, συγκεκριμένα την αναρρόφηση μυελού των οστών και / ή τη χορήγηση του παράγοντα G-CSF. Αυτό συνδέεται με την επεμβατική φύση της έγχυσης βλαστοκυττάρων στις ωοθήκες, που πραγματοποιείται μέσω λαπαροσκόπησης ή ενδοαρτηριακού καθετηριασμού, αυξάνοντας σημαντικά το επίπεδο διεισδυτικότητας. Έτσι, είναι πολύ σημαντικό να διερευνηθεί η πιθανή χρήση άλλων πηγών βλαστοκυττάρων για αυτόλογη μεταμόσχευση, εκτός από τα BMSCs, συγκεκριμένα τα ανθρώπινα EnSCs και τα αρχέγονα ADSCs. Αυτές οι κατηγορίες βλαστοκυττάρων έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία ως πιθανό θεραπευτικό εργαλείο για την αντιμετώπιση της ανεπάρκειας των ωοθηκών σε ζωικά μοντέλα. Παρόλα αυτά, μελέτες σε ανθρώπους δεν έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα. Μια επισκόπηση των ήδη υπαρχουσών μελετών σχετικά με τη νέα προσέγγιση της χορήγησης βλαστοκυττάρων, υποδεικνύοντας τον σχεδιασμό μελέτης, τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους, τα αποτελέσματα και τις ενδεχόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες, παρατίθενται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1:Επισκόπηση δημοσιευμένων μελετών σχετικά με την νέα προσέγγιση της χορήγησης βλαστικών κυττάρων(Sfakianoudis, K., Rapani, A., Grigoriadis, S., Retsina, D., Maziotis, E., Tsioulou, P., ... & Mastorakos, G. (2020). Novel Approaches in Addressing Ovarian Insufficiency in 2019: Are We There Yet?. Cell Transplantation, 29, 0963689720926154.).

Δημοσίευση	Σχεδιασμός Μελέτης	Τύπος Ωοθηκικής Ανεπάρκειας	Παρέμβαση	Χρησιμοποιούμενη Μέθοδος	Αποτέλεσμα	Ανεπιθύμητες Ενέργειες
Saloojaetal. (1994)	Αναδρομική Μελέτη Παρατήρησης.	Ιατρογενής POI.	Θεραπεία για AML με χημειοθεραπεία υψηλής δόσης με μεταμόσχευση αυτόλογου BM.	Αυτόλογη μεταμόσχευση BM.	Αποκατάσταση κύκλου σε νέες ασθενείς (21-32 ετών). Φυσικές συλλήψεις.	Δεν αναφέρονται.
Sandersetal. (1995)	Αναδρομική Μελέτη Παρατήρησης.	Ιατρογενής POI.	Χημειοθεραπεία υψηλής δόσης με μεταμόσχευση TBI και BM για απλαστική αναιμία.	Αυτόλογη μεταμόσχευση BM.	Αποκατάσταση κύκλου. Ωορρηξία. Φυσικές συλλήψεις.	Κίνδυνος αυτόματης αποβολής. Κίνδυνος πρόωρου τοκετού. Κίνδυνος SGA.
Saloojaetal. (2001)	Αναδρομική Μελέτη Παρατήρησης.	Ιατρογενής POI.	Χημειοθεραπεία, ολική ακτινοβολήση σώματος με μεταμόσχευση περιφερικού αίματος ή BM.	Ετερόλογη ή αυτόλογη μεταμόσχευση περιφερικού αίματος ή BM.	Αποκατάσταση κύκλου. Ωορρηξία. Φυσικές συλλήψεις.	Υψηλός κίνδυνος για μητρικές και εμβρυικές επιπλοκές σε ασθενείς με αλλογενή μοσχεύματα.
Johnsonetal. (2005)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα(ποντίκια).	Ιατρογενές μοντέλο POI. Ataxiatelangiectasi a- μεταλλαγμένο γονίδιο-ελλειμματικό μοντέλο.	Ποντίκια που αποστειρώθηκαν με χημειοθεραπεία, καθώς και ποντίκια με ataxiatelangiectasia- μεταλλαγμένο γονίδιο-ελλειμματικό μοντέλο.	Μεταμόσχευση BM.	Αποκατάσταση κύκλου. Ωορρηξία. Το BM μπορεί να διατηρήσει την παραγωγή ωαρίων κατά την ενηλικίωση.	Δεν αναφέρονται.
Egganetal. (2006)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Ιατρογενές μοντέλο POI.	Παραβιοτικοί ποντικοί που υποβλήθηκαν σε χημειοθεραπεία.	Παραβιοτικό μοντέλο.	Αποκατάσταση κύκλου. Ωορρηξία. BMSC's "homing".	Δεν αναφέρονται.
Veitiaetal. (2007)	Αναφορά σειράς ασθενών.	Αμνηνορροϊκοί ασθενείς με αναιμία fanconi.	Ετερόλογη μεταμόσχευση BM λόγω απλαστικής αναιμίας.	Ετερόλογη μεταμόσχευση BM.	Αποκατάσταση κύκλου. Ωορρηξία. Ορμονική αποκατάσταση. Φυσικές συλλήψεις.	Δεν αναφέρονται.
Leeetal. (2007)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Ιατρογενές μοντέλο POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση BM.	Ετερόλογη μεταμόσχευση BM μέσω της φλέβας της ουράς.	Διατήρηση της γονιμότητας σε ποντίκια που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με μη θανατηφόρες δόσεις χημειοθεραπείας.	Δεν αναφέρονται.
Abd-Allahetal. (2013)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (αρουραίοι).	Ιατρογενές μοντέλο POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση BM.	Ετερόλογη μεταμόσχευση BM μέσω της φλέβας του αυτιού.	Αποκατάσταση ορμονών. Αύξηση αριθμού ωοθηλακίων. Παραγωγή VEGF.	Δεν αναφέρονται.
Guoetal. (2013)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (αρουραίοι).	Ιατρογενές μοντέλο POI. Περιεμμηνοπαυσιακό μοντέλο.	Χημειοθεραπεία και απομόνωση GCs και BMSCs.	Τα απομονωμένα GCs καλλιεργούνται με BMSCs.	Αυξημένη απόπτωση GCs σε περιεμμηνοπαυσιακά ποντίκια. Μείωση της απόπτωσης μετά από καλλιέργεια μαζί με BMSCs.	Δεν αναφέρονται.
Laietal. (2013)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Ιατρογενές μοντέλο POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση hAFCs.	Έγχυση hAFCs μέσα στις ωθήκες.	Αποκατάσταση ορμονών. Πολλαπλασιασμός GCs.	Δεν αναφέρονται.
Sunetal. (2013)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Ιατρογενές μοντέλο POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση ADSCs.	Μεταμόσχευση ADSCs μέσω έγχυσης στις ωθήκες ή/και ενδοφλέβια έγχυση.	Αύξηση του αριθμού των ωαρίων. Ωορρηξία.	Δεν αναφέρονται.
Liuetal. (2014)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (αρουραίοι).	Ιατρογενές μοντέλο POI.	Χημειοθεραπεία και έγχυση BMSCs.	Έγχυση BMSCs μέσω της ουραίας φλέβας.	Αποκατάσταση ορμονών. Αύξηση του αριθμού των ωαρίων.	Δεν αναφέρονται.
Laietal. (2015)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Ιατρογενές μοντέλο POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση EnSCs.	Έγχυση EnSCs μέσω της ουραίας φλέβας.	Αποκατάσταση κύκλου. Μείωση της εξάντλησης των GSCs.	Δεν αναφέρονται.

Edessyetal. (2016)	Προοπτική μελέτη παρατήρησης.	Ιδιοπαθής POI.	Αναρρόφηση BM και μεταμόσχευση αυτόλογων BMSCs.	Έγχυση BMSCs μέσα στις ωθήκες μέσω λαπαροσκόπησης.	Αποκατάσταση κύκλου. Αποκατάσταση ορμονών. Αυθόρμητες συλλήψεις. Ζώντα νεογνά.	Δεν αναφέρονται.
Garbetal. (2016)	Προοπτική μελέτη παρατήρησης.	Ιδιοπαθής POI.	Χορήγηση G-CSF για κινητοποίηση των BM, αναρρόφηση BM και μεταμόσχευση αυτόλογων BMSCs.	Έγχυση BMSCs μέσα στις ωθήκες από δύο διαφορετικές εισόδους: έγχυση μέσα στον ωθητικό φλοιό μέσω λαπαροσκόπησης και μέσω της ωθηκικής αρτηρίας.	Αποκατάσταση κύκλου. Αποκατάσταση ορμονών. Επανενεργοποίηση της ανάπτυξης των ωθηλακίων. Επιτυχία εγκυμοσύνης μέσω IVF ή μέσω φυσικής σύλληψης.	Δεν αναφέρονται.
Wang et al. (2017)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Ιατρογενές μοντέλο POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση MenSCs.	Έγχυση MenSCs μέσω της ουράιας φλέβας.	Αποκατάσταση ορμονών. Επανενεργοποίηση της ανάπτυξης των ωθηλακίων. Περιορισμός της απόπτωσης των GCs.	Δεν αναφέρονται.
Herraizetal. (2018)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Μοντέλο POR.	SCID ποντίκια που έχουν υποβληθεί σε ωθηκεκτομή, έχουν μεταμοσχευθεί με ετερόλογο φλοιό ωθηκών από ασθενείς με POR και έχουν υποβληθεί σε αγωγή με ανθρώπινα BMSCs.	Έγχυση ανθρώπινων C133+ BMSCs μέσω της ουράιας φλέβας.	Αποκατάσταση ορμονών. Επανενεργοποίηση της ανάπτυξης των ωθηλακίων. Περιορισμός της απόπτωσης των GCs. Αυθόρμητες συλλήψεις.	Δεν αναφέρονται.
Mohamedeta I. (2018)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Ιατρογενές μοντέλο POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση BMSCs.	Έγχυση BMSCs ενδοωθηκικά.	Αποκατάσταση ορμονών. Επανενεργοποίηση της ανάπτυξης των ωθηλακίων. Αυθόρμητες συλλήψεις.	Δεν αναφέρονται.
Herraizetal. (2018)	Πιλοτική μελέτη.	POR	Χορήγηση G-CSF για κινητοποίηση των BM, αναρρόφηση BM, μεταμόσχευση αυτόλογων ωθηκικών βλαστοκυττάρων. (πρωτόκολλο ASCOT)	Έγχυση BMSCs στις ωθήκες μέσω καθετηριασμού της αρτηρίας κάτω από υπερηχογραφική καθοδήγηση.	Αποκατάσταση ορμονών. Επανενεργοποίηση της ανάπτυξης των ωθηλακίων. Επιτυχία εγκυμοσύνης μέσω IVF ή μέσω φυσικής σύλληψης.	Χαμηλός ρυθμός ευπλοϊκών εμβρύων.
Mohamedeta I. (2019)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Ιατρογενές μοντέλο POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση UCMSCs.	Μεταμόσχευση ωθηκικών UCMSCs μέσω λαπαροτομής.	Αποκατάσταση ορμονών. Αυθόρμητες εγκυμοσύνες.	Δεν αναφέρονται.
Guptaetal. (2019)	Αναφορά σειράς ασθενών.	Γυναίκες στην κλιμακτήριο (AMA).	Αναρρόφηση BM, μεταμόσχευση αυτόλογων ωθηκικών BMSCs.	Έγχυση BMSCs στις ωθήκες μέσω λαπαροσκόπησης.	Αποκατάσταση ορμονών. Επανενεργοποίηση της ανάπτυξης των ωθηλακίων. Επιτυχία εγκυμοσύνης μέσω IVF. Πιθανότητα ευπλοϊκών εμβρύων. Ζώντα νεογνά.	Δεν αναφέρονται.

*POI: premature ovarian insufficiency, POR: poor ovarian response, AMA: advanced maternal age, BMSCs: bone marrow stem cells, UCMSCs: umbilical's cord mesenchymal stem cells, MenSCs: mesenchymal stem cells, EnSCs: endometrial mesenchymal stem cells, ADSCs: adipose derived stem cells, GCs: gamete stem cells, hAFCs: human amniotic fluid cells, hESCs: human embryonic stem cell, GCs: gamete cells, BM: bone marrow, SGA: small for gestational age, AML: acute myeloid leukemia, TBI: total body irradiation, G-CSF: granulocyte colony stimulating factor, VEGF: vascular endothelial growth factor

Αναφερόμενοι στην ασφάλεια της θεραπείας με βλαστοκύτταρα στην ανεπάρκεια των ωθηκών, θα πρέπει να επισημανθούν σοβαροί προβληματισμοί, ιδίως υπό το πρίσμα της έλλειψης δημοσιευμένων στοιχείων που αφορούν τυχόν παρενέργειες που σχετίζονται με αυτή τη νέα προσέγγιση. Η κυριότερη δυνητική ανεπιθύμητη ενέργεια είναι ότι, δυστυχώς, τα έντονα γεγονότα πολλαπλασιασμού των κυττάρων που συμβαίνουν μετά

τη μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων μπορεί να προκαλέσουν κακοήγη σχηματισμό. Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι μακροχρόνια καλλιεργημένα μεσεγγυματικά βλαστοκύτταρα θα μπορούσαν να προκαλέσουν ογκογένεση και μετάσταση. Μετά την απομόνωση των αρχέγονων κυττάρων από την πηγή προέλευσής τους, απαιτείται τυπικά η εξάπλωση του κυτταρικού πληθυσμού *in vitro* για την επίτευξη κλινικώς κατάλληλου αριθμού βλαστοκυττάρων. Ωστόσο, τα βλαστοκύτταρα σε μεγαλύτερο πληθυσμό θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε μετασχηματισμό κακοήθων κυττάρων [92]. Λαμβάνοντας υπόψη τα προαναφερθέντα, είναι σημαντικό να προσδιορισθεί τόσο η κατάλληλη δόση όσο και ο συγκεκριμένος χρόνος χορήγησης μετά τη συλλογή των βλαστοκυττάρων, προκειμένου να επιτευχθεί ισορροπία μεταξύ ασφάλειας και αποτελεσματικότητας. Φαίνεται ότι η κατάλληλη διαχείριση της γυναίκας απαιτεί εξατομικευμένη διαχείριση από τον γιατρό της. Παρόλα αυτά, είναι επιτακτική ανάγκη να κατανοήσουμε πλήρως τους βασικούς μηχανισμούς που ρυθμίζουν τη θεραπεία των βλαστοκυττάρων.

Όσον αφορά την κατάλληλη μέθοδο χορήγησης βλαστοκυττάρων για τη μεταμόσχευση τους στις ωοθήκες, τα διαθέσιμα δεδομένα που υπάρχουν μέχρι σήμερα είναι ασαφή. Έχουν προταθεί δύο πιθανές μέθοδοι χορήγησης, συγκεκριμένα η έγχυση βλαστοκυττάρων στον φλοιό των ωοθηκών μέσω λαπαροσκόπησης και ο ενδοαρτηριακός καθετηριασμός των ωοθηκών υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση [97-102]. Και οι δύο αυτές μέθοδοι φαίνεται να είναι εξίσου αποτελεσματικές. Λαμβάνοντας όμως υπόψη το επίπεδο διεισδυτικότητας, ο ενδοαρτηριακός καθετηριασμός μπορεί να θεωρηθεί πιο φιλικός προς την ασθενή. Ωστόσο, σε ορισμένες ομάδες γυναικών, όπως οι AMA γυναίκες, η πρακτική του ενδοαρτηριακού καθετηριασμού που στοχεύει σε ατροφικές ωοθήκες με μειωμένο όγκο λόγω της γήρανσης καθιστά την διαδικασία πιο δύσκολη [103]. Οι μελλοντικές τυχαίοποιημένες κλινικές δοκιμές (RCT= randomized control trial) που συγκρίνουν τις δύο μεθόδους σχετικά με την παθοφυσιολογία των γυναικών, θα δώσουν μια βαθύτερη επίδραση στην κατηγοριοποίηση αυτού του ζητήματος και στην αντιμετώπιση των δυσκολιών που συνεπάγεται.

Συμπερασματικά, τα ισχυρά δεδομένα που θα παρέχονται από τις RCTs και οι καλά σχεδιασμένες κλινικές δοκιμές είναι ζωτικής σημασίας για την

εξακρίβωση ασφαλών συμπερασμάτων σε σχέση με μια σειρά κρίσιμων ερωτημάτων που παραμένουν αναπάντητα, και ίσως ακόμη και απροσδιόριστα. Η κατάλληλη δόση και ο συγκεκριμένος χρόνος χορήγησης μετά τη συλλογή βλαστοκυττάρων, η κατάλληλη μέθοδος χορήγησης, η διάρκεια της περιόδου ανάρρωσης και η ενδεχόμενη αντιγραφή της θεραπείας είναι όλα σημαντικά θέματα που χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης. Επιπλέον, θα πρέπει να υποβάλλονται μελέτες κόστους-αποτελεσματικότητας μαζί με μελέτες που εστιάζουν στην εκτίμηση της συμπεριφοράς των γυναικών και της ωοθηκικής τους ανταπόκρισης, όταν συγκρίνουν τη θεραπεία με βλαστοκύτταρα με τις άλλες συμβατικές θεραπευτικές επιλογές τους. Όσον αφορά στο κόστος της θεραπείας με βλαστοκύτταρα, μπορεί να είναι ασφαλές να συμπεράνουμε ότι συνήθως αντιστοιχεί σε ένα ιδιαίτερα υψηλό κόστος ανά κύκλο θεραπείας, το οποίο μπορεί να κυμαίνεται από 2-5 φορές υψηλότερο από το κόστος ενός συμβατικού κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης ανάλογα με τη χώρα όπου γίνεται η θεραπεία [104,105]. Αυτό το γεγονός μόνο μπορεί να εγείρει σημαντικά βιοηθικά ζητήματα. Λαμβάνοντας υπόψη την πολύπλευρη φύση της ωοθηκικής ανεπάρκειας που ενέχει πολλές διαφορετικές παθοφυσιολογικές καταστάσεις, απαιτούνται σχολαστικές παρατηρήσεις και τεκμηρίωση προκειμένου να προσδιοριστούν οι συγκεκριμένες ομάδες γυναικών για τις οποίες η θεραπεία με βλαστοκύτταρα μπορεί να είναι αποτελεσματική και ασφαλής. Μέχρι τότε, η μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων για την αναζωογόνηση των ωοθηκών θα πρέπει να θεωρείται μια θεραπεία σε πειραματικό στάδιο και οι επαγγελματίες θα πρέπει να απέχουν από την κλινική εφαρμογή της, καθώς βρίσκεται εκτός ενός εγκεκριμένου ερευνητικού πρωτοκόλλου.

4.2. Πλάσμα εμπλουτισμένο με αιμοπετάλια (PRP)

Το PRP αποτελείται από σημαντικά συστατικά που εντοπίζονται σε μηχανισμούς επιδιόρθωσης που εμπλέκονται σε θεμελιώδεις φυσιολογικές διαδικασίες σε ένα υγιές άτομο. Πολλοί φυσιολογικοί μηχανισμοί εμπλέκονται στο πολυδιάστατο φαινόμενο της διαδικασίας αποκατάστασης ιστών, συμπεριλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού, της αγγειογένεσης και του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου [106], τα οποία αποδίδονται στην

πολύτιμη συνέργεια των παραγόντων που προκαλούνται από τα αιμοπετάλια, δηλαδή τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF= vascular endothelial growth factor), τον αυξητικό παράγοντα AB (PDGF-AB= platelet derived growth factor- AB) και τον παράγοντα μετασχηματισμού TOP-β1 [107-109]. Επιπρόσθετα, οι αυξητικοί παράγοντες ενεργοποιούνται με την παρουσία χημειοκινών και κυτοκινών που εμπλέκονται, με σκοπό την ενορχήστρωση των ιστών [110]. Το σκεπτικό πίσω από την εφαρμογή της PRP θεραπείας στο πλαίσιο της διαχείρισης των παθολογιών που επηρεάζουν την ακεραιότητα των ιστών βασίστηκε στα προαναφερθέντα βασικά συστατικά που επαληθεύθηκαν αρχικά από τη συμμετοχή τους στη διαδικασία επισκευής ιστών. Η εφαρμογή της PRP μεθόδου μπορεί να επεκταθεί για την αποκατάσταση αυτών των φυσιολογικών διαδικασιών σε ένα σύστημα που έχει ταυτοποιηθεί με παθήσεις που διακυβεύουν τη λειτουργία του.

Η εφαρμογή της θεραπείας PRP έχει σημειώσει σημαντική επιτυχία σε διάφορα συστήματα [111-115]. Μετά την επιτυχή εφαρμογή του PRP στη θεραπεία των παθολογιών που σχετίζονται με διάφορα συστήματα, αναμετρήθηκε η πιθανή χρήση του στο πλαίσιο του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος. Υπό το πρίσμα του γεγονότος ότι η μηνιαία ωορρηξία στο θηλυκό αναπαραγωγικό σύστημα έχει περιγραφεί ως μικροτραυματισμός με κάποια απώλεια αίματος [116], η ορθολογική πρόσληψη PRP μαζί με τα ζωικά συστατικά του που εμπλέκονται στην επισκευή των ιστών μπορεί να θεωρηθεί ως ένας τρόπος για να δικαιολογηθεί η εφαρμογή του σχετικά με την αποκατάσταση των ωοθηκικών λειτουργιών.

Η ενδο-ωοθηκική έγχυση PRP σε ζωικά μοντέλα και η επακόλουθη αύξηση της παραγωγής ωαρίων εισήχθη αρχικά στη βιβλιογραφία που περιγράφει την έγχυση αυξητικών παραγόντων στις ωοθήκες. Αυτές οι μελέτες οδήγησαν σε αυξημένη ανάπτυξη των ωοθυλακίων και μείωση των αποπτωτικών σε ζωικά μοντέλα [117, 118]. Τα δεδομένα αποκαλύπτουν ότι ενεργοποιείται και αναζωογονείται μια ωοθήκη μέσω της αυτόλογης χορήγησης εμπλουτισμένου πλάσματος, παρέχοντας μια συγκεντρωμένη ομάδα αιμοπεταλίων ικανή να παράγει βασικούς αυξητικούς παράγοντες. Η εφαρμογή της PRP θεραπείας όσον αφορά την αποκατάσταση της λειτουργίας των ωοθηκών εισήχθη από

τις μελέτες που πραγματοποιήθηκαν από τους Sfakianoudis et al., 2018 και Sills et al., 2018. [59, 103, 119, 120]. Αναφορικά με τη μέθοδο και την τεχνική που περιγράφουν για την εφαρμογή της θεραπείας με πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια, έχουν περιγραφεί διάφορα πρωτόκολλα για την παρασκευή του εμπλουτισμένου πλάσματος με αιμοπετάλια [103,120].

Η πρώτη έκθεση σχετικά με την κλινική εφαρμογή του πλάσματος πλούσιο σε αιμοπετάλια στις ωοθήκες του ανθρώπου περιελάμβανε γυναίκες σε εμμηνόπαυση και πρόωρα εμμηνοπαυσιακά άτομα με ατροφικές ωοθήκες που είχαν εξερευνήσει εναλλακτικές λύσεις για την αντιμετώπιση της υπογονιμότητας και την προσπάθεια επίτευξης εγκυμοσύνης. Αυτές οι γυναίκες υποβλήθηκαν σε θεραπεία με διάχυση PRP μέσα στην ωοθήκη [121]. Η αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας μαζί με την αποκατάσταση μέσω της επαναφοράς του εμμηνορρυσιακού κύκλου παρατηρήθηκε 1-3 μήνες μετά τη θεραπεία. Επιπλέον, οι γυναίκες που συμπεριλήφθηκαν στην έρευνα υποβλήθηκαν σε φυσικούς κύκλους εξωσωματικής γονιμοποίησης που απέδωσαν ένα εύρος 1-5 ωαρίων ανά κύκλο θεραπείας. Οι γυναίκες με πτωχή ανταπόκριση καθώς και οι γυναίκες με μειωμένο αποθεματικό των ωοθηκών έχουν επίσης ερευνηθεί με αναφορές που αποκαλύπτουν εντυπωσιακή ορμονική αποκατάσταση, βελτιωμένη συσσώρευση ωαρίων, κλινικές εγκυμοσύνες και επακόλουθες ζώντες γεννήσεις σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη θεραπεία [119,120,122]. Με βάση τις παρατηρήσεις σχετικά με την ορμονική αποκατάσταση μετά την εφαρμογή πλάσματος πλούσιο σε αιμοπετάλια, αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι οι ωοθήκες με μειωμένη λειτουργία μετά από την εφαρμογή PRP φαίνεται να μιμούνται τη φυσιολογία και να υιοθετούν αντίστοιχη ενδοκρινολογική συμπεριφορά με μια λειτουργική ωοθήκη ακόμη και για ένα συγκεκριμένο χρονικό πλαίσιο. Ωστόσο, η έλλειψη συμπερασματικών δεδομένων δεν επιτρέπει περαιτέρω συμπεράσματα σχετικά με τη χαρτογράφηση των λειτουργικών οδών διασύνδεσης σχετικά με την αλληλεπίδραση μεταξύ του πλάσματος πλούσιο σε αιμοπετάλια και των αναπαραγωγικών οργάνων. Μια επισκόπηση των παρουσιαζόμενων μελετών σχετικά με τη νέα προσέγγιση της χορήγησης πλάσματος πλούσιο σε αιμοπετάλια, υποδεικνύοντας τον σχεδιασμό της

μελέτης, το αποτέλεσμα και τις ενδεχόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες, παρατίθενται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Επισκόπηση των δημοσιευμένων μελετών σχετικά με την νέα προσέγγιση της χορήγησης PRP (Sfakianoudis, K., Rapani, A., Grigoriadis, S., Retsina, D., Maziotis, E., Tsioulou, P., ... & Mastorakos, G. (2020). *Novel Approaches in Addressing Ovarian Insufficiency in 2019: Are We There Yet?. Cell Transplantation*, 29, 0963689720926154.).

Δημοσίευση	Σχεδιασμός Μελέτης	Τύπος Ωοθηκικής Ανεπάρκειας	Παρέμβαση	Χρησιμοποιούμενη Μέθοδος	Αποτέλεσμα	Ανεπιθύμητες Ενέργειες
Quintanaetal. (2004)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Δεν αναφέρονται	Έγχυση αυξητικού παράγοντα στις ωοθήκες μέσω της αγγείωσης του ενδοθελίου.	Έγχυση αυξητικού παράγοντα.	Η απευθείας έγχυση των VEGF στις ωοθήκες των ποντικών έχουν σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη ενός ενισχυμένου αγγειακού δικτύου που προάγει την ανάπτυξη των ωοθηλακίων και μειώνει την απόπτωση.	Δεν αναφέρονται.
Danfortetal. (2013)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (αρουραίοι).	Ανώριμες ωοθήκες.	Έγχυση αυξητικού παράγοντα στις ωοθήκες μέσω της αγγείωσης του ενδοθελίου.	Έγχυση αυξητικού παράγοντα.	VEGF διεγείρει την προεγχειρητική εξέλιξη των ωοθηλακίων και εξωγενή οιστρογόνα ρυθμίζουν την έκφραση των VEGF στις ωοθήκες και ενισχύουν την πρόωρη ανάπτυξη των ωοθηλακίων.	Δεν αναφέρονται.
Sillsetal. (2018)	Πιλοτική μελέτη.	Κακή πρόγνωση (Ασθενείς άνω των 35 ετών με το λιγότερο μία ωοθήκη, υπογονιμότητα για πάνω από 1 χρόνο, τουλάχιστον ένας κύκλος εξωσωματικής απέτυχε ή ακυρώθηκε, αμηνόρροια για 3 μήνες το λιγότερο)	Ενεργοποίηση PRP και έγχυση μέσα στις ωοθήκες.	Ενεργοποίηση PRP με γλυκονικό ασβέστιο και τοποθέτηση κάτω από την κάψουλα των ωοθηκών.	Βελτίωσης λειτουργίας των ωοθηκών.	Δεν αναφέρονται.
Sfakianoudietal. (2018)	Αναφορά ασθενούς.	Πρόωρη εμμηνοπάυση.	Έγχυση στο εσωτερικό των ωοθηκών PRP.	Έγχυση στο εσωτερικό των ωοθηκών PRP.	Ορμονική αποκατάσταση φυσικού κύκλου. Η προσπάθεια IVF μπορεί να προκαλέσει βιοχημική εγκυμοσύνη.	Δεν αναφέρονται.
Sillsetal. (2019)	Μελέτη με ερωτηματολόγια.	Ασθενείς με όχι και τόσο λειτουργικές ωοθήκες και/ή ασθενείς με τουλάχιστον μία αποτυχημένη προσπάθεια IVF.	Ωοθηκικά PRP.	Ωοθηκικά PRP.	Ωοθηκική ορμονική αναζωογόνηση ανιστρέφοντας το χαμηλό ή απών αποθεματικό των ωοθηκών.	Δεν αναφέρονται.
Wangetal. (2019)	EXVivo	Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα από υγιή άτομα.	PRP ως υποκινητές του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης.	Τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται λόγω των PRP.	Τα PRPs με διαφορετικές συγκεντρώσεις αιμοπεταλίων ασκούν οστεογενή, λιπογενή και χονδρογενή διαφοροποίηση.	Δεν αναφέρονται.
Farimanietal. (2019)	Αναφορά σειράς ασθενών.	Κακή απόκριση των ωοθηκών.	Έγχυση στο εσωτερικό των ωοθηκών PRP.	Έγχυση στο εσωτερικό των ωοθηκών PRP.	Βελτίωση της απόδοσης ωαρίων, των αυθόρμητων συλλήψεων και των ζωντανών γεννήσεων.	Δεν αναφέρονται.
Sfakianoudietal. (2019b)	Αναφορά σειράς	Κακή απόκριση των ωοθηκών.	Έγχυση στο εσωτερικό των	Έγχυση στο εσωτερικό των	Ορμονική βελτίωση, φυσικές συλλήψεις και ζωντανές	Δεν αναφέρονται.

	ασθενών.		ωοθηκών PRP.	ωοθηκών PRP.	γεννήσεις.	
Pantosetal. (2019)	Αναφορά σειράς ασθενών.	Πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια.	Έγχυση στο εσωτερικό των ωοθηκών PRP.	Έγχυση στο εσωτερικό των ωοθηκών PRP.	Βελτίωση του ορμονικού προφίλ της εμμήνου ρύσεως, φυσικές συλλήψεις.	Δεν αναφέρονται.

*PRP: platelet-rich plasma, VEGF: vascular endothelial growth factor, IVF: in vitro fertilization

Σε μια προσπάθεια να διασαφηνιστούν όλες οι πτυχές σχετικά με την εφαρμογή του PRP ως θεραπευτική επιλογή για την ανεπάρκεια των ωοθηκών, θα πρέπει να τονιστεί ότι είναι εξίσου επιτακτική ανάγκη να εξεταστούν τόσο τα πλεονεκτήματα όσο και τα μειονεκτήματα. Η θεραπεία με PRP αποτελεί ένα αυτόλογο προϊόν ελαχιστοποιώντας το δυναμικό των παρενεργειών που μπορεί να σχετίζονται με τη χορήγηση ενός ετερόλογου δείγματος. Παρόλο που η χορήγηση πλάσματος πλούσιο σε αιμοπετάλια περιγράφεται στη βιβλιογραφία ως μια απλή διαδικασία [103], η διαδικασία της εφαρμογής της συνεπάγεται προβλεπόμενες προκλήσεις αναφορικά με την διεισδυτική της φύση και το γεγονός ότι η κλινική εφαρμογή ενδο-ωοθηκικής ένεσης απαιτεί σχολαστικό χειρισμό και αντίστοιχη εξατομικευμένη διαχείριση από τον επαγγελματία. Για ορισμένες ομάδες γυναικών, όπως οι γυναίκες με εμμηνόπαυση, η πρακτική της ενδο-ωοθηκικής έγχυσης που στοχεύει στις ατροφικές ωοθήκες μικρού όγκου λόγω της γήρανσης, προσθέτει ένα άλλο επίπεδο πολυπλοκότητας καθιστώντας τη διαδικασία δύσβατη [103]. Επιπλέον, φαίνεται ότι απαιτούνται πολλαπλά σημεία διάχυσης, επομένως το επίπεδο της εισόδου μπορεί να θεωρηθεί σημαντικό. Όσον αφορά το κόστος αυτής της νέας προσέγγισης, έχει προταθεί ενδεικτικά μια προσιτή τιμή για την προετοιμασία δειγμάτων αίματος με εκτιμώμενο κόστος \$ 10 [123]. Ωστόσο, στην κλινική πράξη το κόστος αυτής της υπηρεσίας συνήθως υπερβαίνει το 100πλάσιο αυτού που αντιστοιχεί σε περίπου το 20% ενός συμβατικού κόστους κύκλου εξωσωματικής γονιμοποίησης, ανάλογα με τη χώρα όπου παρέχεται η θεραπεία [124]. Η έγχυση PRP παραμένει μια επεμβατική διαδικασία που διεξάγεται υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση με τους αναμενόμενους κινδύνους που δεν έχουν διασαφηνιστεί επαρκώς. Η έλλειψη δημοσιευμένων αποδεικτικών στοιχείων σχετικά με τυχόν παρενέργειες απέχει πολύ από τη διαβεβαίωση για καλά σχεδιασμένες κλινικές δοκιμές. Εκτός από τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα που έχουν ήδη δημοσιευτεί για μερικές ομάδες γυναικών,

έχουν υπάρξει κάποιες ανησυχίες για την επίδραση της εφαρμογής του συγκεκριμένου πλάσματος. Ο έντονος πολλαπλασιασμός κυττάρων που συμβαίνει μπορεί να προκαλέσει κακοήθεις σχηματισμούς πιθανώς λόγω διαφοροποίησης των βλαστοκυττάρων που υπάρχουν στις ωοθήκες [125]. Παρ' όλα αυτά, η παρουσία βλαστοκυττάρων στις ωοθήκες αντιπροσωπεύει μια έντονη συζήτηση [126] με αντίθετες σκέψεις που αναδύονται, υποστηρίζοντας τον κανόνα του περιορισμένου αποθέματος ωαρίων έναντι της επαναστατικής αντίληψης της έγχυσης βλαστοκυττάρων στην ωοθήκη ικανών να αναζωογονήσουν τον ωοθηκικό ιστό.

Ενώ διερευνούνται οι δυνατότητες εφαρμογής της θεραπείας με PRP, θα πρέπει να μελετηθούν τα ακριβή πρωτογενή και δευτερογενή αποτελέσματα, προκειμένου να εκδοθεί οριστική έκθεση σχετικά με την αποτελεσματικότητα της θεραπείας. Αναμφισβήτητα, η μοριακή αλληλεπίδραση πρέπει να διασαφηνιστεί πριν από το σχεδιασμό μεγάλων τυχαίων ελεγχόμενων δοκιμασιών ώστε να υπάρξει αναμφισβήτητα ασφάλεια κατά την πράξη. Έχει εκφραστεί ότι η συγκέντρωση PRP μπορεί να διαδραματίσει βασικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων. Η διαχείριση διαφόρων παθολογιών μπορεί να απαιτεί διαφορετικές συγκεντρώσεις. Αυτό μπορεί να εξηγήσει την ετερογένεια των αποτελεσμάτων που τεκμηριώνονται και παρατηρούνται μετά την εφαρμογή της θεραπείας με PRP μεταξύ των γυναικών [127]. Πρέπει να επιδιωχθεί μια εξατομικευμένη προσέγγιση λαμβάνοντας υπόψη την εκάστοτε παθολογία. Θα πρέπει να εξεταστούν διάφοροι παράγοντες που ενδεχομένως επηρεάζουν το τελικό αποτέλεσμα, δηλαδή τα χρονικά διαστήματα μεταξύ των εφαρμογών του πλάσματος, τον όγκο που χορηγείται, καθώς και το όριο του μέγιστου αριθμού επιτρεπόμενων παρεμβάσεων. Αναφορικά με το εάν το PRP έχει μια θέση στην κλινική πράξη για την αντιμετώπιση της ωοθηκικής ανεπάρκειας, μια μελέτη υπέδειξε ότι εκτός από πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα στην φυσιολογία των ωοθηκών έχει σημειωθεί σημαντική βελτίωση στην ποιότητα ζωής των γυναικών. Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί ευλόγως στην ορμονική υποκατάσταση που καταγράφηκε μετά την επέμβαση [128], ενθαρρύνοντας την εφαρμογή του εμπλουτισμένου σε αιμοπετάλια

πλάσματος και επεκτείνοντας τις συνέπειες αυτής πέρα από ένα αυστηρό φυσιολογικό και μοριακό πλαίσιο.

Το πρόβλημα του ωθητικού αποθέματος μπορεί να είναι πολύπλευρο θέμα, οπότε η διαχείριση αυτών των γυναικών μπορεί να απαιτεί πληθώρα διαθέσιμων εργαλείων και τεχνικών. Μέχρι τώρα, η περίπλοκη σύζευξη μεταξύ των συστατικών του PRP και των ωθηκών παραμένει να αποκρυπτογραφηθεί. Η χορήγηση του PRP παραμένει μία δαπανηρή υπηρεσία. Παρ' όλα αυτά, τα αρχικάδεδομένα παρουσιάζουν τις δυνατότητές του να θεωρηθεί ως πρωτοποριακή ιατρική καινοτομία.

4.3. Μεταμόσχευση ιστού ωθηκών

Η κρυοσυντήρηση των ιστών των ωθηκών δεν μπορεί να θεωρηθεί ως μια μοναδική καινοτομία. Από την πρώτη εφαρμογή, γεννήθηκαν περισσότερα από 130 νεογνά [129]. Ωστόσο, εξακολουθεί να θεωρείται ως μια πειραματική προσέγγιση [130]. Διάφορες εκθέσεις επιχειρούν να καθιερώσουν μια κοινώς αποδεκτή τεχνική για μεταμόσχευση ωθηκών. Σε περίπτωση ορθότοπης μεταμόσχευσης, ο ιστός μεταμοσχεύεται στην πυελική κοιλότητα ενώ αν πραγματοποιηθεί ετερότοπη μεταμόσχευση, ο ωθητικός ιστός μεταφυτεύεται σε διαφορετική θέση [131]. Η ορθότοπη μεταμόσχευση μπορεί να παρουσιαστεί ως βέλτιστη πρακτική, καθώς το μικρο-περιβάλλον γύρω από τον μεταμοσχευμένο ιστό είναι το πλέον κατάλληλο για την ανάπτυξη των ωοθυλακίων [132]. Από την άλλη πλευρά, υπάρχει περιορισμένος αριθμός θραυσμάτων ιστού που επιτρέπεται να μεταφέρονται λόγω της στενότητας του χώρου, ενώ το επίπεδο της διεισδυτικότητας παρουσιάζεται ως ένας σημαντικός περιορισμός που οδηγεί σε σοβαρές συμφύσεις της πυέλου [133]. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι η φυσική σύλληψη μπορεί να επιτευχθεί σε περιπτώσεις ορθότοπης μεταμόσχευσης, συνεπώς οι διαδικασίες εξωσωματικής γονιμοποίησης μπορεί να μην επιδιώκονται σε τέτοιες περιπτώσεις ως μόνη επιλογή. Η μέθοδος της μεταμόσχευσης του ωθητικού ιστού μπορεί να θεωρηθεί τεχνικά ελκυστική δεδομένου ότι ο χρησιμοποιημένος ωθητικός ιστός χαρακτηρίζεται από μια στερεή δομή εξωκυτταρικής μήτρας συνδυαζόμενη με πολύπλοκα κύτταρα. Επιπλέον,

εισάγονται βιοϋλικά προκειμένου να ενισχυθεί η δομή και η ακεραιότητα του ωοθηκικού ιστού βελτιώνοντας την προσκόλληση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των εμπλεκόμενων κυττάρων. Τα φυσικά βιοϋλικά παρουσιάζουν σημαντική ετερογένεια στο φάσμα της σύνθεσής τους, ενώ η ικανότητα των συνθετικών βιοϋλικών να προάγουν την αναδιαμόρφωση του ιστού περιορίζεται [134]. Έτσι και οι δύο πηγές παρουσιάζουν εξίσου αδυναμίες όσον αφορά τη διαμόρφωση ενός βέλτιστου μοντέλου μεταμόσχευσης ωοθηκικού ιστού.

Δεδομένου ότι η μεταμόσχευση αυτόλογου ωοθηκικού ιστού απαιτεί τη συλλογή ιστού πριν αναγνωριστούν και εντοπιστούν σημάδια της ανεπάρκειας των ωοθηκών, αυτή η στρατηγική απευθύνεται συνήθως σε μια συγκεκριμένη ομάδα γυναικών. Αυτές οι γυναίκες συνήθως είναι που προορίζονται να βιώσουν μια αναμενόμενη δυσλειτουργία των ωοθηκών μετά από θεραπεία για καρκίνο, χωρίς να αποκλειστεί η ομάδα γυναικών που θα βιώσει την αναμενόμενη μείωση γαμετών, λόγω της πιθανότητας εμφάνισης πρόωρης ωοθηκικής ανεπάρκειας. Σε περιπτώσεις διαγνωστικής κακοήθειας, προτείνεται η κρυοσυντήρηση του ωοθηκικού ιστού για μεταγενέστερη μεταμόσχευση, καθώς θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί σε σύντομο χρονικό διάστημα χωρίς να καθυστερήσει η έναρξη της θεραπείας. Από τις πρώτες προσπάθειες μεταμόσχευσης ωοθηκικών ιστών πριν από σχεδόν 20 χρόνια [135], υπήρξαν πολλές επιτυχημένες γεννήσεις που δημοσιεύθηκαν στη βιβλιογραφία [136-140], έκτοτε εισήχθη στο προσκήνιο και καθιερώθηκε ως μια νέα γραμμή προσέγγισης της ανεπάρκειας των ωοθηκών.

Αξιόλογες παρατηρήσεις έχουν τεκμηριωθεί στη βιβλιογραφία που αναφέρεται στην αποκατάσταση της γονιμότητας, στην αποκατάσταση της ωοθηκικής λειτουργίας, στην επανενεργοποίηση της ενδοκρινικής λειτουργίας και στην ανάπτυξη ωοθυλακίων [132,141]. Επιπλέον, η μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού έχει προταθεί αυστηρά για την ανανέωση των ωοθηκών, οδηγώντας σε αυτό που μπορεί να περιγραφεί ως μια ορμονική επανενεργοποίηση των ωοθηκών ανεξάρτητα από την επιδίωξη της θεραπείας της γονιμότητας. Η κρυοσυντήρηση του ωοθηκικού ιστού θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να επεκτείνει τα γόνιμα χρόνια μαζί με την παροχή ορμονικής αναζωογόνησης και ευεξίας για τις γυναίκες που πλησιάζουν στο τέλος της αναπαραγωγικής

ζωής τους. Αυτή η προσέγγιση συνεπάγεται την κρυσυντήρηση του ωθητικού ιστού για νεαρά υγιή άτομα όταν οι γυναίκες βρίσκονται στην κορυφή του αναπαραγωγικού τους δυναμικού. Στη συνέχεια, η μεταμόσχευση θα προγραμματιστεί σε μια μελλοντική ηλικία κοντά στην εμμηνόπαυση, στο πλαίσιο της επέκτασης του μελλοντικού αναπαραγωγικού δυναμικού τους [129]. Η μεταμόσχευση ωθητικού ιστού επιτρέπει μια ορμονική αποκατάσταση που διαρκεί μια περίοδο περίπου επτά ετών [141], η οποία προβλέπεται να επεκταθεί σε μια δωδεκαετή περίοδο αποκατάστασης όταν η διαδικασία θα επαναληφθεί [132]. Παρόλα αυτά, δεν πρέπει να παραλείψουμε ότι αυτή η επεμβατική διαδικασία ελαχιστοποιεί και δυνητικά θέτει σε κίνδυνο το υπάρχον αποθεματικό των ωθηκών για την γυναίκα, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται ανησυχίες για τη βιοηθική αναφορικά με την κλινική εφαρμογή.

Ένας σημαντικός περιορισμός που πρέπει να ληφθεί υπόψη είναι ότι η αυτόλογη μεταμόσχευση συνεπάγεται τον κίνδυνο επαναφοράς καρκινικών κυττάρων στις ωθήκες που υποβλήθηκαν σε θεραπεία [142]. Επιπλέον, η ανοσολογική απόρριψη αποτελεί σημαντική επιπλοκή για αυτή τη γραμμή προσέγγισης, αν και η αυτόλογη πηγή ιστού μπορεί να συμβάλει στην αποτροπή αυτής της παρενέργειας. Η ισχαιμία έχει επίσης περιγραφεί ως δευτερογενής παρενέργεια μετά από μεταμόσχευση ωθητικού ιστού [143]. Η κύρια αιτία αυτού του γεγονότος είναι η έλλειψη αναστόμωσης των αγγείων κατά τη διάρκεια της διαδικασίας μεταμόσχευσης ιστών. Ως αποτέλεσμα, ο μεταμοσχευμένος ωθητικός ιστός εκτίθεται για μια ορισμένη χρονική περίοδο πέντε ημερών [144] σε ένα υποξικό και ισχαιμικό περιβάλλον, το οποίο απαιτεί επείγουσα παρέμβαση στην επαγωγική αγγειοποίηση. Σε αυτό το πλαίσιο, επιχειρήθηκαν διάφορες προσεγγίσεις για τη βελτιστοποίηση του αποτελέσματος, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης αυξητικών παραγόντων, με σκοπό την έγκαιρη ολοκλήρωση της αγγειογένεσης [145]. Ωστόσο, η εφαρμογή τους στα ανθρώπινα μοντέλα δεν είναι καθόλου κοντά, αν και οι τρέχουσες μελέτες σε ζώα συνέβαλαν σε ευνοϊκά αποτελέσματα. Έχουν προκύψει ανησυχίες σχετικά με τη μετέπειτα διάγνωση του καρκίνου, παρόλα αυτά, θεωρήθηκαν ως ένα γεγονός χαμηλής πιθανότητας όταν ο ιστός προέρχεται από νεαρές γυναίκες ηλικίας 20-25 ετών [146]. Η τεχνική της

κρυοσυντήρησης και η αντίστοιχη αποτελεσματικότητά της θα πρέπει να ληφθούν περαιτέρω υπόψη ως μία πρόκληση αναφορικά με την μεταμόσχευση ωθηκικού ιστού. Η τεχνική κρυοσυντήρησης είναι αυτή που μπορεί ίσως να οδηγήσει στο επιθυμητό αποτέλεσμα που παραπλανητικά αποδίδεται στην τεχνική της μεταμόσχευσης. Μελετώντας την τεχνική της μεταμόσχευσης ωθηκικού ιστού για την αποκατάσταση της ενδοκρινικής λειτουργίας σε γυναίκες με εμμηνόπαυση, η διαδικασία είναι λιγότερο επεμβατική, καθώς η περιοχή του μοσχεύματος μπορεί να μην περιλαμβάνει τη πυελική κοιλότητα. Επιπλέον, μπορεί να πραγματοποιηθεί με τοπική αναισθησία, ενώ σε περίπτωση εμφάνισης νεοπλασματος στις ωθήκες, το εμφύτευμα ωθηκικού ιστού μπορεί να εξαχθεί αμέσως [146]. Μια επισκόπηση των παρουσιαζόμενων μελετών σχετικά με τη νέα προσέγγιση της μεταμόσχευσης ωθηκικού ιστού, η οποία υποδεικνύει το σχεδιασμό της μελέτης, τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους, τα αποτελέσματα και τις ενδεχόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες, παρατίθενται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Επισκόπηση των δημοσιευθέντων μελετών σχετικά με την νέα προσέγγιση της μεταμόσχευσης των ωθηκών(Sfakianoudis, K., Rapani, A., Grigoriadis, S., Retsina, D., Maziotis, E., Tsioulou, P., ... & Mastorakos, G. (2020). *Novel Approaches in Addressing Ovarian Insufficiency in 2019: Are We There Yet?. Cell Transplantation*, 29, 0963689720926154.).

Δημοσίευση	Σχεδιασμός Μελέτης	Τύπος Ωθηκικής Ανεπάρκειας	Παρέμβαση	Χρησιμοποιούμενη Μέθοδος	Αποτέλεσμα	Ανεπιθύμητες Ενέργειες
OktayK., &KarlikayaG . (2000)	Αναφορά ασθενούς.	Ιατρογενής POI.	Σαλπινγγο-ωθηκεκτομή και μεταμόσχευση ωθηκικού ιστού.	Ο ιστός συρράφεται κάτω από το αριστερό πυελικό περιτόναιο με λαπαροσκοπική μέθοδο.	Μακροπρόθεσμη ωθηλακιορρηξία, εμφάνιση ωθηλακίων, επιβίωση μοσχεύματος και επακόλουθη εμμηνόρροια μετά από διέγερση των ωθηκών.	Δεν αναφέρονται.
Donnezetal. (2004)	Αναφορά ασθενούς.	Ιατρογενής POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση ωθηκικού ιστού.	Ορθότοπη αυτόλογη μεταμόσχευση φλοιώδους ιστού των ωθηκών με λαπαροσκοπική μέθοδο.	Ανάκτηση των κανονικών κύκλων ωορρηξίας.	Υπάρχει κίνδυνος επανεμφάνισης της νόσου μετά την εμφύτευση και η ποιότητα των ωαρίων εξαρτάται από την μεταμόσχευση ετερότοπης θέσης.
Meirowetal. (2005)	Αναφορά ασθενούς.	Ιατρογενής POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση ωθηκικού ιστού.	Λωρίδες αποψυγμένου ιστού που υπέστησαν εκφυλισμό μεταμοσχεύονται στην αριστερή ωθήκη και μικρά θραύσματα εγχύονται στην δεξιά ωθήκη.	Εμμηνόρροια και ζωντανή γέννηση μετά από IVF που χρησιμοποιήθηκε ένας φυσικός κύκλος.	Κίνδυνος εμφάνισης κακοηθών κυττάρων.
Silbertetal. (2005)	Αναφορά ασθενούς.	Πρώρη εμμηνόπαυση.	Μεταμόσχευση ωθηκών μεταξύ	Εμβολιασμός του φλοιού των ωθηκών.	Ζωντανή γέννηση μετά από φυσική σύλληψη.	Κίνδυνος θυλακοειδούς ατρησίας.

			υγιών μονοζυγωτικών διδύμων.			
Demeestere etal. (2007)	Αναφορά ασθενούς.	Ιατρογενής POI.	Χημειοθεραπεία και μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού.	Ορθότοπη και ετερότοπη μεταμόσχευση κρυοσυντηρημένου ωοθηκικού ιστού.	Αποκατάσταση της λειτουργίας των ωοθηκών, ζωντανή γέννηση.	Επανεμφάνιση των κακοηθών κυττάρων και ισχαιμική βλάβη κατά τη διάρκεια επαναγγείωσης, περιορισμένη διάρκεια ζωής του μοσχεύματος.
Anderseneta I. (2008)	Αναφορά σειράς ασθενών.	Ιατρογενής POI.	Μεταμόσχευση κατεψυγμένου/ αποψυγμένου ωοθηκικού ιστού από το ίδιο άτομο και υποβοηθούμενη αναπαραγωγή.	Ορθότοπη και ετερότοπη μεταμόσχευση φλοιώδους ιστού των ωοθηκών από το ίδιο άτομο.	Αποκατάσταση της εμμηνορροίας, της σύλληψης και ζωντανές γεννήσεις.	Δεν αναφέρονται.
Schubertetal (2008)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα(ποντί κια).	Ιατρογενής POI.	Μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού άλλου ατόμου.	Εμβολιασμός των ποντικών με φρέσκο ή κατεψυγμένο ανθρώπινο φλοιό των ωοθηκών.	Αύξηση των πρωτογενών και των δευτερογενών ωοθηλακίων, μείωση των αρχέγονων ωοθηλακίων.	Μαζικό οξειδωτικό στρες.
VanEycketal (2009)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Ιστός που προέρχεται από ασθενείς με καλοήθεις γυναικολογικές παθήσεις.	Λαπαροσκοπική χειρουργική για μη καλοήθεις γυναικολογικές παθήσεις στις ωοθήκες και μεταμόσχευση ιστού.	Κατεψυγμένα/αποψυγμέ να θραύσματα ανθρώπινου ωοθηκικού ιστού εμβολιασμένα στην ενδοπεριτοναϊκή κοιλότητα των ποντικών.	Επαναγγείωση μοσχεύματος.	Ισχαιμική βλάβη ιστού.
Kimetal. (2012)	Αναφορά σειράς ασθενών.	Ιατρογενής POI.	Λαπαροσκοπική ωοθηκεκτομή και λαπαροτομία.	Μεταμόσχευση ετερότοπης θέσης.	Αποκατάσταση ενδοκρινικής λειτουργίας των ωοθηκών.	Cryoinjury των αρχέγονων θυλακίων.
Kongetal. (2017)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Ιατρογενής POI.	Αμφίδρομη ωοθηκεκτομή σε ποντίκια.	Ωοθηκικός ιστός βοδινού μεταμοσχεύεται σε ποντίκια.	Η χορήγηση του Ang-2 και VEGF πριν από τη μεταμόσχευση ανακουφίζει από την ισχαιμική βλάβη και διατηρεί την κανονικότητα και την πυκνότητα του ωοθηλακίου και μειώνει τα επίπεδα απόπτωσης και ίνωσης από τα μοσχεύματα.	Δεν αναφέρονται.

*POI: premature ovarian insufficiency, VEGF: vascular endothelial growth factor, Ang-2: angiotensin-2

Όλα τα παραπάνω συνιστούν θετικές ενδείξεις υπέρ αυτής της θεραπευτικής επιλογής. Παρόλα αυτά, παρόμοια με όλες τις προσεγγίσεις αντικατάστασης ορμονών που αποσκοπούν στην αναβολή της μόνιμης αδρανοποίησης των ωοθηκών για γυναίκες που φθάνουν στο τέλος της αναπαραγωγικής τους ζωής, η μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού ενέχει κινδύνους. Εκτός από τις ανησυχίες που προκύπτουν όταν η αναζωογόνηση είναι το κύριο ενδιαφέρον των γυναικών, οι επαγγελματίες φαίνονται διστακτικοί να ξεκινήσουν αυτή την προτεινόμενη προσέγγιση. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στη διαπίστωση ότι η μεταμόσχευση των ωοθηκών εδώ και αρκετές δεκαετίες, αποτυγχάνει να καθιερωθεί ως μια εναλλακτική προσέγγιση στην κλινική πρακτική που θα μπορούσε να προσφέρει στους ειδικούς την ασφάλεια όσον αφορά στην εφαρμογή της.

4.4. Τεχνητές ωοθήκες

Ένα πρόσθετο βήμα στην προετοιμασία των ωοθηκικών ιστών πριν από την εμφύτευση προτάθηκε σε μια προσπάθεια αντιμετώπισης του κινδύνου αποκατάστασης. Περιλαμβάνει το σχηματισμό του ιστού των ωοθηκών, όπου εμφανίζονται τα ωάρια, αναπτύσσονται και στη συνέχεια "συσσωρεύονται". Μέχρι τώρα, αυτή η προσέγγιση έχει εφαρμοσθεί σε ζωικά μοντέλα, στα οποία συλλέχθηκαν κοκκώδη σύμπλοκα κυττάρων-ωαρίων και υποβλήθηκαν σε καλλιέργεια *in vitro*. Μετά από τον πρότυπο πολλαπλασιασμό, η απόδοση των ωαρίων ήταν υψηλότερη από ότι θα μπορούσε να επιτευχθεί σε μία συμβατική προσέγγιση μέσω της τεχνικής της εξωσωματικής γονιμοποίησης [147]. Ομοίως, έγινε προσπάθεια για δημιουργία μιας τεχνητής ωοθήκης, με σκοπό την επιτυχή ενσωμάτωση, διαφοροποίηση και ενεργοποίηση της ωρίμανσης ανθρώπινων ωαρίων [148]. Οι περισσότερες από τις προηγούμενες προσπάθειες απέτυχαν εξαιτίας του κοινού παρονομαστή της υλοποίησης μιας σταθερής δομής, με στόχο την λειτουργία ζωτικών ενδοκρινικών και παρακρινών οδών. Τρεις τύποι κυττάρων των ωοθηκών περιλαμβάνονταν συγκεκριμένα τα κύτταρα της θήκης (thecacells), τα οποία παρουσιάζουν ενδοκρινή ρόλο στην ωοθήκη, τα κοκκώδη κύτταρα και τα ωάρια [148]. Συμπεριλαμβάνοντας τα κύτταρα theca ως βασικό συστατικό της 3D ωοθήκης, επιτεύχθηκε ορμονική παραγωγή. Είναι ενδιαφέρον ότι η εφαρμογή ιστών κολλαγόνου ή αλγινικού άλατος απέτυχε να εδραιώσει παρόμοια απόκριση όσον αφορά την ενδοκρινολογία. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αυξημένη αλληλεπίδραση μεταξύ των κυτταρικών τύπων, συνωμοτώντας την ανάπτυξη ενός φυσιολογικού μοντέλου. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, η ωρίμανση και η ανάπτυξη των αρχέγονων ωαρίων μπορεί να επιτευχθούν [148]. Η καινοτομία πίσω από αυτή την προσέγγιση είναι αδιαμφισβήτητη, ωστόσο το γεγονός ότι αποτελεί αυτό που μπορεί να περιγραφεί, ως ένα "απομονωμένο" σύστημα που στερείται της πολυπλοκότητας πολλών αλληλεπιδράσεων με άλλα φυσιολογικά συστήματα θα πρέπει να μελετηθεί.

Οι στρατηγικές βιοϊατρικής για την αποκατάσταση της γονιμότητας και την αντιμετώπιση της ωοθηκικής ανεπάρκειας περιλαμβάνουν τη μεταμόσχευση φρέσκου ή κρυοσυντηρημένου ωοθηκικού ιστού, συνδυαστικά με διαδικασίες

που περιλαμβάνουν την έγχυση αυξητικών παραγόντων, βλαστοκυττάρων, πολυδύναμων βλαστοκυττάρων, μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων και βιοϋλικών [134]. Το ποσοστό των επιζώντων που πάσχουν από καρκίνο αυξάνεται και μεταφράζεται σε γυναίκες οι οποίες, παρά την επιτυχία στην αντιμετώπιση της νόσου, υποβάλλονται σε μία αναπαραγωγική δοκιμασία με διαγνωσμένη υπογονιμότητα που αποδίδεται στη βλάβη των γονάδων κατά τη διάρκεια της θεραπείας [149]. Πολλές επιτυχείς προσπάθειες για την εκτέλεση της κρυοσυντήρησης των ωοθηκικών ιστών και την επακόλουθη μεταμόσχευσή τους, αποκαλύπτουν πολύτιμα δεδομένα σχετικά με την αποτελεσματικότητα της προσέγγισης αυτής. Ωστόσο, λίγα είναι γνωστά σε ό, τι αφορά το γεγονός ότι η προσέγγιση αυτή θα πρέπει να θεωρηθεί ως μια μέθοδος για την καθυστέρηση της έναρξης της εμμηνόπαυσης - μια τάση που φαίνεται να εξελίσσεται ταχέως. Όσον αφορά την έννοια της τεχνητής ωοθήκης, πρέπει να ληφθούν υπόψη περαιτέρω σκέψεις. Η επισκόπηση των παρουσιαζόμενων μελετών σχετικά με τη νέα προσέγγιση των τεχνητών ωοθηκών, που δείχνει το σχεδιασμό της μελέτης, τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους, τα αποτελέσματα και τις ενδεχόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες που παρατίθενται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4: Επισκόπηση των δημοσιευθέντων μελετών σχετικά με την νέα προσέγγιση της δημιουργίας τεχνητών ωοθηκών (Sfakianoudis, K., Rapani, A., Grigoriadis, S., Retsina, D., Maziotis, E., Tsioulou, P., ... & Mastorakos, G. (2020). *Novel Approaches in Addressing Ovarian Insufficiency in 2019: Are We There Yet?. Cell Transplantation*, 29, 0963689720926154.).

Δημοσίευση	Σχεδιασμός Μελέτης	Τύπος Ωοθηκικής Ανεπάρκειας	Παρέμβαση	Χρησιμοποιούμενη Μέθοδος	Αποτέλεσμα	Ανεπιθύμητες Ενέργειες
Pangasetal. (2003)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα (ποντίκια).	Αφαιρεμένες ωοθήκες.	Απομόνωση κοκκιωδών συμπλόκων ωαρίων από τους ποντικούς.	Έγχυση BMSCs μέσω της ουραίας φλέβας.	Αποκατάσταση των ορμονών. Αύξηση του αριθμού των ωοθηλακίων.	Δεν αναφέρονται.
Krotzetal. (2010)	ΕΧVivo μελέτη	Ωοθηκεκτομή με καλοήθεις ενδείξεις.	Ωοθηκεκτομή και δημιουργία τεχνητών ωοθηκών.	Τα κύτταρα της θήκης και τα κοκκώδη κύτταρα εμβολιάζονται σε μορφή μικρο-μορφοποιημένων τζελ και αυτοδημιουργούν πολύπλοκους 3D μικρούς ιστούς.	Μία τεχνητή ανθρώπινη ωοθήκη μπορεί να δημιουργηθεί με ανθρώπινα κύτταρα θήκης και κοκκώδη κύτταρα που αυτοδημιουργούν πολύπλοκους μικρούς ιστούς.	Δεν αναφέρονται.

*BMSCs: bone marrow stem cells, 3D: 3 dimensional.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι η έκθεση ενός ευαίσθητου ιστού σε μεταβαλλόμενο περιβάλλον μπορεί να συνεπάγεται ορισμένους επιγενετικούς κινδύνους οι οποίοι με τη σειρά τους μπορεί να προκαλέσουν βιοηθικά ζητήματα.

4.5. Τεχνητοί γαμέτες

Υπάρχουν τέσσερις βασικοί τύποι κυττάρων που χρησιμοποιούνται στον σχηματισμό τεχνητών γαμετών, συμπεριλαμβανομένων βλαστοκυττάρων, πολυδύναμων βλαστοκυττάρων (iPSCs= induced pluripotent stem cells), τη μεταφορά πυρηνικών σωματικών κυττάρων σε εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα (SCNT= somatic cell nuclear transfer) και τη μεταφορά πυρηνικών σωματικών κυττάρων (SCNT) σε ωάρια δότριας. Η επιτυχής εφαρμογή που έχει ως αποτέλεσμα τη γέννηση ζώντος νεογνού με τεχνητούς γαμέτες έχει αναφερθεί μόνο σε ζωικά μοντέλα [150], επομένως οι τεχνητοί γαμέτες αποτελούν μια πειραματική διαδικασία.

Η επιλογή της χρησιμοποίησης τεχνητών γαμετών έχει εισαχθεί ως εναλλακτική λύση για τις γυναίκες που δεν έχουν τη δυνατότητα να παράγουν λειτουργικούς γαμέτες, όπως για παράδειγμα οι POI γυναίκες [151]. Στον άνθρωπο έχει περιγραφεί η ανάπτυξη τεχνητών ωαρίων, ενώ επιτυχής γονιμοποίηση έχει επιβεβαιωθεί σε μία μόνο [150]. Όπως αναφέρθηκε από τους White et al., ανθρώπινα ωογενή βλαστοκύτταρα (OSC= ovarian stem cells) μεταμοσχεύθηκαν σε ανθρώπινο ιστό ωοθηκών μεταμοσχευμένο σε ποντικούς μετά από in vitro πολλαπλασιασμό, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη τεχνητών ωαρίων [152]. Μια διαδικασία σχηματισμού γαμετών που προέρχεται από ανθρώπινα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα έχει περιγραφεί, ωστόσο φάνηκε να είναι ανεπαρκής αφού η διαφοροποίηση των εμβρυϊκών κυττάρων σε συστήματα καλλιέργειας συνεπάγεται ορισμένες τεχνικές δυσκολίες στην εκτέλεσή τους [153]. Τα UCSCs έχουν επίσης δοκιμαστεί με επιτυχία σε μια προσπάθεια σχηματισμού τεχνητών γαμετών [154]. Επιπλέον, η δέσμευση των ανθρώπινων ηπατικών κυτταρικών γραμμών για την δημιουργία νέων κυττάρων βλαστικής σειράς είχε ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό δομών που μοιάζουν με θυλάκιο, επακόλουθες δομές που μοιάζουν με βλαστοκύστη και τελικά με βλαστικά κύτταρα / εμβρυονικούς

όγκους μετά από παρατεταμένη καλλιέργεια [155]. Μια επισκόπηση των παρουσιαζόμενων μελετών της νέας προσέγγισης των τεχνητών γαμετών, η οποία υποδεικνύει το σχεδιασμό της μελέτης, τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους, τα αποτελέσματα και τις ενδεχόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες, παρατίθενται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5:Επισκόπηση των δημοσιευθέντων μελετών σχετικά με την νέα προσέγγιση της δημιουργίας τεχνητών γαμετών(Sfakianoudis, K., Rapani, A., Grigoriadis, S., Retsina, D., Maziotis, E., Tsioulou, P., ... & Mastorakos, G. (2020). *Novel Approaches in Addressing Ovarian Insufficiency in 2019: Are We There Yet?. Cell Transplantation*, 29, 0963689720926154.).

Δημοσίευση	Σχεδιασμός Μελέτης	Τύπος Ωοθηκικής Ανεπάρκειας	Παρέμβαση	Χρησιμοποιούμενη Μέθοδος	Αποτέλεσμα	Ανεπιθύμητες Ενέργειες
Aflatoonianetal. (2009)	EXVivo μελέτη.	Κυτταρικές σειρές.	Ανθρώπινα εμβρυικά βλαστοκύτταρα.	Η διαφοροποίηση προκλήθηκε.	Αρχέγονα ανθρώπινα βλαστοκύτταρα καθώς και μειωτικά σπερματοζώρια σχηματίστηκαν in vitro. Ανιχνεύθηκαν στεροειδείς ορμόνες.	Δεν αναφέρονται.
Chengetal. (2012)	EXVivo μελέτη.	Βλαστοκύτταρα από το ανθρώπινο αμνιακό υγρό.	Διαφοροποίηση σε κύτταρα που μοιάζουν με ωάρια.	Διαφοροποίηση σε κύτταρα που μοιάζουν με ωάρια.	Κύτταρα παρόμοια με ωάρια και μορφολογία που μοιάζει με pellucida.	Δεν αναφέρονται.
Whiteetal. (2012)	Μελέτη σε ζωικά μοντέλα(ποντίκια).	Ωοθήκες που απομονώνονται από υγιείς νεαρές κοπέλες για σκοπούς αλλαγής φύλου.	Έγχυση ογκογονικών βλαστοκυττάρων μέσα στην ωοθήκη και ξένα μοσχεύματα.	Έγχυση ογκογονικών βλαστοκυττάρων μέσα στην ωοθήκη και ξένα μοσχεύματα.	Σχηματισμός ωοθηλακίων.	Δεν αναφέρονται.
Maetal. (2013)	EXVivo μελέτη.	Ανθρώπινη βλαστική ηπατική σειρά.	Σχηματισμός κυττάρων βλαστικής σειράς.	Σχηματισμός κυττάρων βλαστικής σειράς.	In vitro αναπτύχθηκαν δομές που έμοιαζαν με ωοθυλάκιο και παρήγαγαν κύτταρα παρόμοια με τα ωάρια και στη συνέχεια αναπτύχθηκαν σε μία δομή που έμοιαζε με βλαστοκύστη.	Ηπατικά τερατώματα.

Είναι ζωτικής σημασίας να αντιμετωπίζονται διεξοδικά οι ανησυχίες σχετικά με την ασφάλεια, ακόμη και αν δυσκολέψει η πορεία προς την κλινική εφαρμογή της μεθόδου. Παρά τους βιολογικούς κινδύνους που συνεπάγεται, υπάρχουν σημαντικές ηθικές ανησυχίες που τίθενται σε κοινωνικό επίπεδο, οι οποίες θα πρέπει να αντιμετωπιστούν πριν επιδιώξουν οι επαγγελματίες υγείας την επιλογή αυτή ως μια σταθερή καινοτόμα προσέγγιση για τη διαχείριση της ωοθηκικής ανεπάρκειας. [156] Μια σαφής παρουσίαση στις γυναίκες για τις

οποίες μπορεί να υιοθετηθεί αυτή η προσέγγιση είναι εκτός από ωφέλιμη και επιτακτική [157].

4.6. Θεραπεία μιτοχονδριακής αντικατάστασης

Τα μιτοχόνδρια ορίζονται ως "η δύναμη του κυττάρου". Ο ρόλος των μιτοχονδρίων στην ανάπτυξη του προ-εμφυτευτικού εμβρύου και του δυναμικού εμφύτευσης έχει μελετηθεί για τουλάχιστον δύο δεκαετίες [158]. Οι διαδικασίες γονιμοποίησης και κατάλληλης εμβρυϊκής ανάπτυξης απαιτούν μεγάλες ποσότητες ενέργειας ATP (τριφωσφορική αδενοσίνη) που παράγονται από τα μιτοχόνδρια [60]. Τα μιτοχόνδρια παρουσιάζουν μια απότομη αύξηση του αριθμού τους κατά την ωρίμανση των ωαρίων [159] και το σχήμα τους σε ωάρια μετάφασης II (MII) είναι διαφορετικό σε σύγκριση με αυτά που υπάρχουν στα σωματικά κύτταρα [158]. Η περιεκτικότητα σε μιτοχονδριακό DNA των ωαρίων (mtDNA) έχει συσχετιστεί με την πτωχή ποιότητα των ωαρίων και την ανεπάρκεια των ωοθηκών [160]. Η προγνωστική αξία του αριθμού των αντιγράφων υπήρξε αντικείμενο διαμάχης στη βιβλιογραφία, καθώς αρκετές μελέτες παρατήρησαν στατιστικά σημαντικό αριθμό αντιγράφων μιτοχονδριακού DNA σε έμβρυα που είχαν ως αποτέλεσμα την αποτυχία της εμφύτευσης [161], ενώ άλλες μελέτες δεν κατέδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά [162].

Παρ' όλα αυτά, είναι προφανές ότι η μητρική γήρανση είναι η αιτία της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας, μέσω της διόγκωσης και της διαταραχής της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων στα ωάρια [163]. Η χρήση μιτοχονδρίων από μία νέα υγιή δότρια υποτίθεται ότι παρέχει στο έμβρυο πριν από την εμφύτευση ένα καλύτερο και πιο ισχυρό αναπτυξιακό περιβάλλον κατά τα αρχικά του στάδια [164]. Αυτό μπορεί να χρησίμευσε ως οδηγός σε πρώιμες προσπάθειες μιτοχονδριακής αντικατάστασης, η οποία αρχικά πλησίαζε την πραγματοποίηση της ωοπλασματικής μεταφοράς, όπως περιγράφεται για πρώτη φορά από τον Cohen [164]. Παρόλο που η ωοπλασματική μεταφορά παρουσίασε με επιτυχία την βελτίωση της ποιότητας του εμβρύου, με αποτέλεσμα την αναφορά της κλινικής εγκυμοσύνης και της γέννησης [165], ο FDA (food and drug administration) αποφάσισε να

απαγορεύσει την εφαρμογή της το 2001, λόγω ηθικών και ιατρικών προβλημάτων που σχετίζονται κυρίως με το ετερόπλασμα και τις αλληλένδετες ανεπιθύμητες ενέργειες σαν αποτελέσματα [165].

Περισσότερο από μια δεκαετία μετά την απαγόρευση του FDA, έχουν εφαρμοστεί νέες προσεγγίσεις σχετικά με τη μεταφορά μιτοχονδρίων προκειμένου να επιτευχθεί μία βελτιωμένη λειτουργία των ωοθηκών. Για να αποφευχθούν οι ανησυχίες που δημιουργήθηκαν με την ενσωμάτωση μίας ετερόλογου δότης, η αρχική προσέγγιση χρησιμοποίησε την Αυτόλογη Μιτοχονδριακή Ενεργειακή Μεταφορά (AUGMENT). Το πρωτόκολλο του AUGMENT περιλαμβάνει την απομόνωση των μιτοχονδρίων από τους OSC της γυναίκας, την επεξεργασία και την εμφύτευση στα ωάρια της ασθενούς κατά τη διάρκεια της ενδο-κυτταροπλασματικής σπερματέγχυσης [166].

Η πρώτη εφαρμογή του πρωτοκόλλου AUGMENT εκτελέστηκε από τον Fakiη και τους συναδέλφους του [166] που στόχευσαν σε γυναίκες που παρουσίαζαν ωάρια ή / και έμβρυα χαμηλής ποιότητας, διαγνωσμένες με μειωμένο αποθεματικό των ωοθηκών, δυσλειτουργία της ωορρηξίας, πολυκυστικές ωοθήκες, κάποιο πρόβλημα στον σαλπιγγικό παράγοντα και ενδομητρίωση. Συνολικά 93 γυναίκες από δύο κέντρα εξωσωματικής γονιμοποίησης έλαβαν μέρος στη μελέτη. Τα αποτελέσματα της μελέτης υποστήριξαν έναν ευεργετικό ρόλο για το πρωτόκολλο AUGMENT (Αυτόλογη μιτοχονδριακή ενεργειακή μεταφορά) καθώς το κλινικό ποσοστό εγκυμοσύνης που επιτεύχθηκε ήταν 35% και 22% για κάθε κέντρο αντίστοιχα, σε αντίθεση με το 11% και 4% που αντιστοιχούσε στο κλινικό ποσοστό εγκυμοσύνης των ίδιων γυναικών πριν την εφαρμογή του πρωτοκόλλου AUGMENT. Στην ίδια μελέτη, τα ωάρια κάθε γυναίκας από 25 γυναίκες χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες, η μία σχεδιάστηκε για να υποβληθεί στη θεραπεία με χρήση του πρωτοκόλλου AUGMENT και μια ομάδα ελέγχου. Από τις 25 γυναίκες, 2 υποβλήθηκαν σε εμβρυομεταφορά με έμβρυα προερχόμενα από την ομάδα ελέγχου, για εννιά γυναίκες δεν πραγματοποιήθηκε εμβρυομεταφορά και 14 γυναίκες υποβλήθηκαν σε εμβρυομεταφορά με έμβρυα προερχόμενα από την ομάδα που έκανε χρήση του πρωτοκόλλου AUGMENT. Οκτώ εγκυμοσύνες παρατηρήθηκαν όλες προερχόμενες από την πειραματική ομάδα. Μια δεύτερη, αν και μικρότερη μελέτη, που διεξήχθη από τους Oktay et al., 2015

[167] περιλάμβανε 15 γυναίκες που υποβάλλονταν σε αυτόλογη μεταμόσχευση μιτοχονδρίων ενεργειακής γενετικής γραμμής, που περιγράφεται ως αυτόλογη μιτοχονδριακή μεταφορά (AMI) από τους συγγραφείς. Από τις 15 γυναίκες που έλαβαν μέρος στη μελέτη, μόνο 10 υποβλήθηκαν σε εμβρυομεταφορά, και 4 από αυτές είχαν κλινική εγκυμοσύνη.

Αυτά τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα αντικρούστηκαν από την ενδιάμεση ανάλυση μιας διακοπτόμενης μεγάλης κλίμακας τριπλής τυφλής τυχαιοποιημένης μελέτης [61]. Μετά την εγγραφή περίπου του 31% του συνολικού πληθυσμού της μελέτης ($n = 59/190$), πραγματοποιήθηκε ενδιάμεση ανάλυση. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, η εφαρμογή του πρωτοκόλλου AUGMENT δεν αύξησε ούτε το ρυθμό γονιμοποίησης ούτε το ρυθμό σχηματισμού των ευπλοειδικών βλαστοκυττάρων. Αντίθετα, ο ρυθμός σχηματισμού βλαστοκύστεων μειώθηκε στην πειραματική ομάδα. Επιπλέον, η ταξινόμηση εμβρύων σύμφωνα με τα κριτήρια του ASEBIR (spanish embryology association) ήταν πτωχότερη και τα ποσοστά ζωντανών γεννήσεων ήταν χαμηλότερα στην πειραματική ομάδα. Αυτές οι παρατηρήσεις στην ενδιάμεση ανάλυση κατέστησαν περιττή την πρόσληψη περισσότερων γυναικών και η μελέτη τερματίστηκε, αν και η κλινική εγκυμοσύνη και τα ποσοστά ζωντανών γεννήσεων που παρουσιάστηκαν στη μελέτη ήταν καλύτερα σε σύγκριση με τις άλλες μελέτες σχετικά με την αυτόλογη μεταφορά μιτοχονδρίων. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι οι γυναίκες που συμπεριλήφθηκαν στην τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή δεν είχαν απαραίτητως πτωχή λειτουργία των ωοθηκών, καθώς ήταν νεότερες από 42 ετών, με διάμεση τιμή AMH1,69ng / ml και με διατεταρτημοριακό εύρος από 0,97 έως 3,24 ng / ml. Αυτός είναι ένας λόγος που εφιστά την προσοχή μας σε όλες τις μελέτες που χρησιμοποιούν αυτόλογη μεταφορά μιτοχονδρίων. Ο εγγεγραμμένος πληθυσμός πρέπει να είναι κυρίως ένας μικτός πληθυσμός με λίγες μόνο συμμετέχουσες που διαγιγνώσκονται με μειωμένη ή πτωχή απόκριση των ωοθηκών. Μπορεί να είναι πιθανό η αυτόλογη μεταφορά μιτοχονδρίων να είναι κατάλληλη για έναν συγκεκριμένο πληθυσμό ο οποίος παραμένει ακόμα προς ταυτοποίηση.

Εκτός από τη μεταφορά αυτόλογων μιτοχονδρίων, η ετερόλογη μεταφορά μιτοχονδρίων, γνωστή ως θεραπεία μιτοχονδριακής αντικατάστασης (MRT=

mitochondrial replacement therapy), χρησιμοποιήθηκε κυρίως για λόγους αποφυγής μετάδοσης μιτοχονδριακών νοσημάτων [168-170]. Υπάρχουν διαθέσιμα τέσσερα πρωτόκολλα για μιτοχονδριακή αντικατάσταση, την προπυρηνική μεταφορά (PNT), τη μεταφορά πολικού σωματιδίου (PBT), τη μεταφορά της ατράκτου της μητέρας (MST) και τη μετάδοση φυσαλιδίων (GVT) [168,171]. Οι τρεις τελευταίες τεχνικές απαιτούν την χρήση ωαρίων μετάφασης II που δεν έχουν πυρηνική ενέργεια, ενώ η PNT απαιτεί την χρήση ενός ζυγώτη της δότριας μετά την αφαίρεση των προπυρηνίων και των πολικών σωματιδίων. Στην προπυρηνική μεταφορά και οι δύο γονικοί προπυρήνες μεταφέρονται στον ζυγώτη της δότριας. Η GVT απαιτεί τη μεταφορά του μητρικού σπερματικού κυστιδίου που περικλείει το πυρηνικό DNA στο πυρηνικό ωάριο της δότριας, η PBT απαιτεί τη μεταφορά του πολικού σωματιδίου του μητρικού ωαρίου MII (μετάφασης II) στον πυρήνα του ωαρίου της δότριας. Η MST απαιτεί τη μεταφορά της ατράκτου που περικλείει το πυρηνικό DNA στον πυρήνα των ωαρίων της δότριας. Η προπυρηνική μεταφορά και η μεταφορά πολικών σωματιδίων έχουν αξιολογηθεί ως πιθανές μέθοδοι για MRT, με έμβρυα να φτάνουν στο στάδιο της βλαστοκύστης χωρίς να προχωρήσουν σε εμφύτευση ή εγκυμοσύνη [172,173]. Ο Zhang και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν την PNT μέθοδο για να επιτύχουν εγκυμοσύνη για μια γυναίκα 30 ετών με μιτοχονδριακή νόσο [174]. Η ίδια ομάδα πέτυχε μια εγκυμοσύνη χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της MST, για μια γυναίκα με σύνδρομο Leigh (νευρολογική διαταραχή με ψυχοκινητική παλινδρόμηση) [175,176]. Πρέπει να αναφερθεί ότι αν και αρχικά χορηγήθηκε άδεια μακροχρόνιας παρακολούθησης, οι γονείς των απογόνων αποφάσισαν να παραιτηθούν από την άδεια, επομένως δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία για την παρακολούθηση των παιδιών που γεννήθηκαν [177]. Στο πλαίσιο της χρήσης της MRT, η MST είναι η μόνη τεχνική που εφαρμόζεται σε μια προσπάθεια αντιμετώπισης της πτωχής ανταπόκρισης των ωοθηκών. Η κλινική δοκιμή [178] έχει μέχρι στιγμής οδηγήσει σε μία ζωντανή γέννηση, από μία 32χρονη γυναίκα, πτωχή ανταποκρίτρια, με τέσσερις προηγούμενες αποτυχημένες προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης. Αυτή η τεχνική έχει εγείρει σημαντικές ηθικές ανησυχίες. Η ESHRE (European society of human reproduction and embryology) εξέδωσε επίσημη οδηγία για την ισχυρή αποθάρρυνση και την αποδοκιμασία όσον αφορά στην εφαρμογή της τεχνικής

στο πλαίσιο της αντιμετώπισης της πτωχής ανταπόκρισης των ωοθηκών. Οι κλινικοί γιατροί θα πρέπει να απέχουν από την υιοθέτηση της κλινικής πρακτικής της MST για οτιδήποτε άλλο εκτός από την αποφυγή μετάδοσης μιτοχονδριακής κληρονομικής διαταραχής, για την οποία δεν υπάρχει άλλη εναλλακτική λύση. Αυτή η προσέγγιση έχει απαιτήσει αυστηρά καθεστώς ρύθμισης από το HFEA (Human fertilization and embryology authority) στο Ηνωμένο Βασίλειο [179]. Είναι σαφές ότι στο πλαίσιο της θεραπείας μιτοχονδριακής αντικατάστασης, υπάρχει έλλειψη επαρκών δεδομένων που υποδεικνύουν την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της μεθόδου, η οποία διατηρείται επί του παρόντος σε πειραματικό στάδιο. Μια επισκόπηση των παρουσιαζόμενων μελετών σχετικά με τη νέα προσέγγιση της θεραπείας με μιτοχονδριακή αντικατάσταση, αναφέροντας το σχεδιασμό μελέτης, τις χρησιμοποιούμενες μεθόδους, τα αποτελέσματα και τις ενδεχόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες παρατίθενται στον Πίνακα 6.

Πίνακας 6:Επισκόπηση των δημοσιευθέντων μελετών σχετικά με την νέα προσέγγιση του MRT (Sfakianoudis, K., Rapani, A., Grigoriadis, S., Retsina, D., Maziotis, E., Tsioulou, P., ... & Mastorakos, G. (2020). *Novel Approaches in Addressing Ovarian Insufficiency in 2019: Are We There Yet?. Cell Transplantation*, 29, 0963689720926154.).

Δημοσίευση	Σχεδιασμός Μελέτης	Τύπος Οθηκικής Ανεπάρκειας	Παρέμβαση	Χρησιμοποιούμενη Μέθοδος	Αποτέλεσμα	Ανεπιθύμητες Ενέργειες
Fakihetal. (2015)	Προοπτική κοόρτη μελέτη.	Μειωμένο απόθεμα ωοθηκών.	Θεραπεία με μιτοχονδριακή αντικατάσταση.	AUGMENT	Αυξημένο ποσοστό κλινικής εγκυμοσύνης.	Δεν αναφέρονται.
Oktayetal. (2015)	Αναφορά σειράς ασθενών.	Μεικτός πληθυσμός.	Θεραπεία με μιτοχονδριακή αντικατάσταση.	AUGMENT	Αυξημένο ποσοστό κλινικής εγκυμοσύνης.	Δεν αναφέρονται.
Labartaetal. (2019)	RCT	Χαμηλή ποιότητα εμβρύου.	Θεραπεία με μιτοχονδριακή αντικατάσταση.	AUGMENT	Καμία στατιστικά σημαντική βελτίωση.	Μειωμένη ταχύτητα σχηματισμού βλαστικών κυττάρων.
ISRCTN 11455145	Προοπτική κοόρτη μελέτη.	Χαμηλή ποιότητα εμβρύου.	Θεραπεία με μιτοχονδριακή αντικατάσταση.	Μητρική μεταφορά ατράκτου.	Τα αποτελέσματα δεν έχουν αναφερθεί.	Δεν αναφέρονται.

*RCT: Randomized controlled trial, AUGMENT: autologous germline mitochondrial energy transfer.

Απαιτείται μακροπρόθεσμη παρακολούθηση των θεραπειών με MRT προκειμένου να αναφερθεί η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της διαδικασίας. Η διεξαγωγή περισσότερων τυχαιοποιημένων μελετών είναι απαραίτητη. Οι τυχαιοποιημένες μελέτες πρέπει να παρουσιάζουν αυστηρά

κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού από τη διαδικασία και δεν πρέπει να χρησιμοποιούν μεικτό πληθυσμό. Είναι επιτακτική ανάγκη να αξιολογηθεί η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα μιας τεχνικής που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένα από τα σημεία της πρακτικής θεραπείας με μιτοχονδριακή αντικατάσταση. Επιπλέον, μολονότι η MST φαίνεται να είναι η μοναδική επιλογή για την παροχή ευνοϊκών αποτελεσμάτων στον άνθρωπο, όλα τα πρωτόκολλα θα πρέπει να αξιολογούνται πριν αποφασιστεί η εφαρμογή του. Παρόλο που τα επίπεδα ετεροπλάσματος φαίνεται να είναι χαμηλά με την εφαρμογή των νέων τεχνικών θεραπείας MRT, οι αλληλεπιδράσεις που συμβαίνουν κατά την εφαρμογή τους ένα θέμα έρευνας. Δύο μεταanalύσεις που πραγματοποιήθηκαν σε ζωικά μοντέλα ανέφεραν αντιφατικά αποτελέσματα [180,181]. Η πρώτη χρονολογικά δημοσιευμένη μετανάλυση ανέφερε ότι οι αλληλεπιδράσεις των μιτοχονδριακών πυρήνων δεν δημιουργούν παρενέργεια στην μιτοχονδριακή αντικατάσταση [180]. Η δεύτερη μετανάλυση ανέφερε ότι η συγκεκριμένη θεραπεία μπορεί να επηρεάζει τα βιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά του απογόνου με αποτέλεσμα τη μεγάλης κλίμακας αλληλεπίδραση της μιτοχονδριακής πυρηνικής ενέργειας, η οποία φαίνεται να είναι ακόμη μεγαλύτερη στους ανθρώπους [181]. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι η δεύτερη μετανάλυση έχει αμφισβητηθεί σχετικά με το σχεδιασμό της από τον συγγραφέα της πρώτης [182]. Μέχρι να εκτελεστούν εκτεταμένες μελέτες σε ανθρώπους, η επιστημονική κοινότητα πρέπει να ασκεί επιφυλακτική στάση και να διατηρεί την επαγρύπνησή της προκειμένου να περιορίσει τις πιθανές και ίσως μακροπρόθεσμες παρενέργειες που επί του παρόντος μπορεί να μην αναγνωρίζονται και να μην γίνονται αντιληπτές, ώστε να αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά.

Η MRT έχει προσελκύσει την υπερβολική προσοχή των μέσων ενημέρωσης, απεικονίζοντας την περίπτωση του "μωρού τριών γονέων". Είναι γνωστό ότι το mtDNA περιέχει μόνο περίπου 16500 νουκλεοτίδια, που κωδικοποιούν 13 πρωτεΐνες [183], που αντιπροσωπεύουν μόνο ένα μικρό κλάσμα ολόκληρου του ανθρώπινου γονιδιώματος. Παρ' όλα αυτά, η γενετική κληρονομιά, συμπεριλαμβανομένων τριών διαφορετικών ανθρώπων, υπάρχει και δημιουργούνται ανησυχίες για τη βιοηθική. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι η

MRT μετά την πρώτη απαγόρευση του FDA επαναλήφθηκε για να επιτρέψει στα ζευγάρια να αποφύγουν την κληρονομικότητα των μιτοχονδριακών ασθενειών στους απογόνους τους. Δεν είναι πολύς καιρός που η τεχνική χρησιμοποιήθηκε για την παροχή βοήθειας έσχατης ανάγκης σε γυναίκες με μειωμένο ωθητικό απόθεμα. Επιπλέον, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη το υψηλότερο οικονομικό κόστος στις θεραπείες σχετιζόμενες με την εξωσωματική γονιμοποίηση που κυμαίνονται από 5-10 φορές ακριβότερες από το κόστος για έναν συμβατικό κύκλο εξωσωματικής γονιμοποίησης ανάλογα με τη χώρα όπου παρέχεται η θεραπεία (HFEA και Τμήμα Υγείας). Στην πραγματικότητα περιγράφεται ως η ακριβότερη μεταξύ των νέων τεχνικών που χρησιμοποιούνται στον άνθρωπο μέχρι στιγμής. Το γεγονός αυτό θέτει μόνο του τα όρια σε σχέση με την εφαρμογή της και μπορεί να θεωρηθεί ότι την κατευθύνει αποκλειστικά για λόγους μέγιστης ανάγκης αναφορικά με τη χρήση της MRT στο πλαίσιο της αποφυγής της κληρονομικότητας των μιτοχονδριακών ασθενειών [184.185]. Η χρήση της εκτός του πεδίου της αποφυγής της κληρονομιάς των ασθενειών μπορεί να θεωρηθεί ότι έχει σταματήσει, καθώς οι σοβαρές κοινωνικές ανισότητες μπορεί να προκύψουν στον τομέα της εξωσωματικής γονιμοποίησης. Φαίνεται ότι η κριτική επιτροπή της επιστημονικής κοινότητας εξακολουθεί να βρίσκεται σε συζήτηση για την εφαρμογή αυτής της μεθόδου. Παρ' όλα αυτά, η κατανόηση της θεωρίας γήρανσης του mtDNA έχει ακόμα πολύ δρόμο, καθώς οι σχέσεις αιτίου-αποτελέσματος παραμένουν ασαφείς [186]. Το εάν ένα απλό mtDNA είναι ο πραγματικός "κακοποιός" ή ένας "συνεργός" στη διαδικασία της γήρανσης εξακολουθεί να βρίσκεται υπό διερεύνηση. Μετά από αυτή την υπόθεση, κάποιος μπορεί να σκεφτεί την πιθανότητα να εξεταστεί το σενάριο της θεραπείας MRT ως μέσου για να ξεπεραστεί η γήρανση του ωαρίου σκεπτόμενος πάντα όμως πως ο στόχος παραμένει να έχουμε σαν αποτέλεσμα έναν υγιή απόγονο.

5. Συζήτηση

Η ιδέα της αναζωογόνησης των ωθηκών προσέλκυσε πρόσφατα έντονο ενδιαφέρον. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στην αύξηση του ποσοστού των ασθενών που διαγιγνώσκονται με ωθηκική ανεπάρκεια, οι οποίες αναζητούν

αποτελεσματικές επιλογές για τη διαχείριση της υπογονιμότητάς τους. Η αύξηση αυτή μπορεί να δικαιολογηθεί με βάση τα αξιοσημείωτα αποτελέσματα και τα αυξημένα ποσοστά επιβίωσης από την αντιμετώπιση των καρκινοπαθών. Αυτές οι γυναίκες μπορούν πλέον να απολαύσουν μια παρατεταμένη διάρκεια ζωής, η οποία ωστόσο μπορεί να ελοχεύει υπογονιμότητα και αναπαραγωγικά διλήμματα. Σε άλλη σημείωση, η έννοια της καθυστέρησης της γήρανσης έχει προωθηθεί εντατικά στα μέσα ενημέρωσης. Αυτή η πραγματικότητα, οδηγεί τους υπευθύνους για να υιοθετήσουν νέες προσεγγίσεις, κάτι που πηγάζει από τις ανάγκες των γυναικών. Στον αντίποδα, οι κλινικοί ιατροί φαίνεται να διστάζουν στις νέες προτεινόμενες επιλογές, δεδομένου ότι τα δεδομένα είναι συχνά αντιφατικά ή από μελέτες χαμηλής ποιότητας. Παρ'όλα αυτά, αναφορές στη βιβλιογραφία που περιγράφουν σειρές ασθενών και πιλοτικές μελέτες καταδεικνύουν ότι η κλινική εφαρμογή των νέων -που δεν βρίσκονται ακόμα στο επίπεδο της κλινικής εφαρμογής - προσεγγίσεων μπορεί να αποτελέσει μία επιλογή. Δεν είναι ασυνήθιστο ορισμένες πρακτικές να επενδύουν στη βελτιστοποίηση μιας νέας γραμμής θεραπείας για πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια. Η ποικιλία προσεγγίσεων που περιλαμβάνουν τα βλαστοκύτταρα, το PRP, τη μεταμόσχευση ωοθηκικού ιστού, το σχηματισμό τεχνητών γαμετών, ακόμα και την τελευταία αναδυόμενη ιδέα της MRT απαιτεί εξειδίκευση και εμπειρία από τους κλινικούς επαγγελματίες. Μια σημαντική αξιολόγηση που παρέχει μια συγκριτική προοπτική μεταξύ όλων των νέων προσεγγίσεων, σχετικά με ζητήματα που έχουν σημασία για τον επαγγελματία από το κόστος και τις πρακτικές πτυχές της εφαρμογής, στην καινοτομία, τις δεοντολογικές ανησυχίες που ανακύπτουν και τη δυνατότητα μελλοντικής κλινικής εφαρμογής παρουσιάζεται στον Πίνακα 7.

Λαμβάνοντας υπόψη το αντίστοιχο νομικό πλαίσιο σχετικά με την εφαρμογή νέων προσεγγίσεων στην MRT, οι ασθενείς μπορεί να έχουν πρόσβαση σε τέτοιες θεραπείες που επιτρέπονται από τη διασυνοριακή αναπαραγωγική φροντίδα [187].

Πίνακας 7: Κριτική αξιολόγηση και προοπτική σύγκριση μεταξύ όλων των νέων προσεγγίσεων σχετικά με ζητήματα που αφορούν τον επαγγελματία, από το κόστος και τις πρακτικές πτυχές της εφαρμογής, έως τις ηθικές ανησυχίες της καινοτομίας και το δυναμικό μελλοντικής κλινικής εφαρμογής (Sfakianoudis, K., Rapani, A., Grigoriadis, S., Retsina, D., Maziotis, E., Tsioulou, P., ... & Mastorakos, G. (2020). *Novel Approaches in Addressing Ovarian Insufficiency in 2019: Are We There Yet?*. *Cell Transplantation*, 29, 0963689720926154.).

Προσέγγιση.	Κόστος	Επιθετικότητα της εφαρμογής όσον αφορά τον ασθενή.	Δυσμενείς επιπτώσεις της εφαρμογής όσον αφορά τον ασθενή.	Χρονικό πλαίσιο δράσης	Καινοτομία	Ηθικές ανησυχίες	Δυνατότητες για κλινική εφαρμογή.
Βλαστικά κύτταρα.	++	++++	+++	++++	+++	++	+++
Πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια.	+	+++	++	++++	++	+	++++
Μεταμόσχευση ωοθήκης.	+++	+++++	++++	+++	+	+	+++
Τεχνητή ωοθήκη.	++++	+	+	++	++++	++++	+
Τεχνητοί γαμέτες.	++++	+	+	+	++++	+++++	+
Θεραπεία με μιτοχονδριακή αντικατάσταση.	+++	++	+	+	+++	+++	++

*+: πολύ χαμηλό, ++: χαμηλό, +++: μέτριο, ++++: υψηλό, +++++: πολύ υψηλό.

Οι επαγγελματίες υγείας καλούνται να παραμείνουν πιστοί στον Ιπποκράτειο όρκο τους "Πρώτον, μην βλάψετε", να δουν πέρα από τη διαφημιστική εκστρατεία και την ελπίδα που πηγάζουν από τις καινοτομίες της θεραπείας. Λόγω της έλλειψης ισχυρών δεδομένων από τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες που θα μπορούσαν να παρέχουν ένα δίκτυο ασφαλείας της αποτελεσματικότητας των μεθόδων αυτών, αλλά και με δημοσιεύσεις σχετικά με τις νέες προσεγγίσεις αναφορικά με την επιλογή MRT, είναι υποχρέωσή μας να αμφισβητούμε την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της εφαρμογής τους.

Προκειμένου να αξιολογηθούν σωστά ποικίλα ερωτήματα που προκύπτουν από την εφαρμογή των νέων αυτών προσεγγίσεων, πρέπει να προταθούν και να θεσπιστούν ορισμένες κατευθυντήριες γραμμές. Ο κοινός παρονομαστής όλων των νέων προσεγγίσεων στην υπηρεσία της υπερνίκησης της ωοθηκικής ανεπάρκειας όπως παρουσιάζεται εδώ, έγκειται σε ασαφή αλλά

μάλλον ελπιδοφόρα δεδομένα. Η αποκατάσταση της γονιμότητας μπορεί να είναι ο κύριος στόχος της δημοσιευμένης βιβλιογραφίας. Ωστόσο, η αποκατάσταση της γονιμότητας μετά από διάγνωση της ανεπάρκειας των ωοθηκών, μπορεί να οριστεί με πολυάριθμα κριτήρια, που επιτεύχθηκαν από διάφορες προσεγγίσεις, και επιβεβαίωσαν τη χρήση διαφορετικών μέτρων έκβασης ανάλογα με το σχεδιασμό της μελέτης και την ταυτότητα του πληθυσμού. Είναι ενδιαφέρουσα, όπως φαίνεται εδώ, η αντίληψη ενός επιτυχημένου αποτελέσματος που ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των ερευνητών. Αυτό μπορεί να περιγραφεί μόνο με συγκεκριμένες μελέτες που εξετάζουν τα αποτελέσματα τόσο σε κλινικό όσο και σε ερευνητικό επίπεδο. Οι καλά σχεδιασμένες μελέτες παρουσιάζουν σαφώς οριοθετημένα μέτρα, περιορισμούς και συγχυτικούς παράγοντες, ενώ παράλληλα επιβεβαιώνουν ότι μπορούν να επιταχύνουν την επίτευξη ενός ασφαλούς συμπεράσματος για το εάν η εισαγωγή αυτών των μεθόδων στην κλινική ρουτίνα θα ήταν ωφέλιμη ή επιζήμια. Και ενώ εκτιμάται το κόστος και η αποτελεσματικότητα των προαναφερθέντων προσεγγίσεων, δεν πρέπει να παραλείψουμε να εξετάσουμε το οικονομικό και ψυχολογικό κόστος που συνεπάγεται - σε εξατομικευμένη βάση - στην αντιμετώπιση της ανεπάρκειας των ωοθηκών. Κάτι που μπορεί να χαρακτηριστεί ως συμβατική και παραδοσιακή προσέγγιση είναι η δωρεά των ωαρίων. Ο τομέας της ιατρικής πρακτικής υπόσχεται να ξεκινήσει την εφαρμογή καινοτόμων ιδεών αποκλειστικά με βάση τις ανάγκες των γυναικών, βασιζόμενη στα πολλά υποσχόμενα δεδομένα, τα οποία συνοδεύουν μια νέα τεχνική μέσα στις μελέτες που δημοσιεύονται, παρά τα ερωτηματικά γύρω από αυτήν. Είναι σημαντικό να υπάρχει διαφάνεια στην δημοσιευμένη πληροφόρηση που παρέχεται ώστε να καθίσταται δυνατή μια δίκαιη και αμερόληπτη αξιολόγηση, καθώς δεν μπορούν όλες να θεωρηθούν ως εξίσου ελπιδοφόρες. Λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι υπάρχει αύξηση του κόστους της υγειονομικής περίθαλψης [188] που επεκτείνεται στη θεραπεία υπογονιμότητας, η τεκμηριωμένη ιατρική στον τομέα της μιτοχονριακής αντικατάστασης βρίσκεται στο επίκεντρο της έρευνας που αποσκοπεί σε μια πιο προσεγμένη και αποδεδειγμένη προσέγγιση για τη διαχείριση παθήσεων όπως η ανεπάρκεια των ωοθηκών.

Μπορεί να μην υπάρξει υπέρβαση των αναγκών που πρέπει να ανακαλυφθούν για την αντιμετώπιση του προβλήματος της πρόωρης ωοθηκικής ανεπάρκειας, ιδίως υπό το πρίσμα της ανομοιογένειας των γυναικών. Αν και νέες διαθέσιμες επιλογές μπορεί να εμφανίζονται συνεχώς, πρέπει να υπάρχει μεγάλη προσοχή καθώς μπορεί να πραγματοποιούνται καλά σχεδιασμένες μελέτες, οι οποίες θα αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητά τους. Η υιοθέτηση καινοτόμων προσεγγίσεων και η αναγνώριση του τι οδηγεί στην εμφάνισή τους είναι ζωτικής σημασίας. Η ενδοκρινολογία της αναπαραγωγής και ο κόσμος της υπογονιμότητας θα επωφεληθούν από την διασφάλιση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητάς τους, καλύπτοντας όμως παράλληλα την επιθυμία των γυναικών για εναλλακτική θεραπεία και παρέχοντας ταυτόχρονα δεδομένα με σεβασμό στην τεκμηριωμένη ιατρική.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

1. Wang, J.; Sauer, M.V. In vitro fertilization (IVF): a review of 3 decades of clinical innovation and technological advancement. *Ther. Clin. Risk Manag.***2006**, 2, 355.
2. Herraiz, S.; Buigues, A.; Díaz-García, C.; Romeu, M.; Martínez, S.; Gómez-Seguí, I.; Simón, C.; Hsueh, A.J.; Pellicer, A. Fertility rescue and ovarian follicle growth promotion by bone marrow stem cell infusion. *Fertil. Steril.***2018**, 109, 908-918.e2.
3. Simopoulou, M.; Sfakianoudis, K.; Tsioulou, P.; Rapani, A.; Giannelou, P.; Kiriakopoulos, N.; Pantou, A.; Vlahos, N.; Anifandis, G.; Bolaris, S.; et al. What will the future hold for artificial organs in the service of assisted reproduction: prospects and considerations. *Front. Med.***2019**.

4. Marder, W.; Fisseha, S.; Ganser, M.A.; Somers, E.C. Ovarian Damage During Chemotherapy in Autoimmune Diseases: Broad Health Implications beyond Fertility. *Clin. Med. Insights Reprod. Health***2012**, *6*, 9–18.
5. Torrealday, S.; Kodaman, P.; Pal, L. Premature Ovarian Insufficiency - an update on recent advances in understanding and management. *F1000Research***2017**, *6*.
6. Rudnicka, E.; Kruszewska, J.; Klicka, K.; Kowalczyk, J.; Grymowicz, M.; Skórska, J.; Pięta, W.; Smolarczyk, R. Premature ovarian insufficiency – aetiopathology, epidemiology, and diagnostic evaluation. *PrzeglądMenopauzalny Menopause Rev.***2018**, *17*, 105–108.
7. Ubaldi, F.M.; Cimadomo, D.; Vaiarelli, A.; Fabozzi, G.; Venturella, R.; Maggiulli, R.; Mazzilli, R.; Ferrero, S.; Palagiano, A.; Rienzi, L. Advanced Maternal Age in IVF: Still a Challenge? The Present and the Future of Its Treatment. *Front. Endocrinol.***2019**, *10*, 94.
8. Bedoschi, G.; Navarro, P.A.; Oktay, K. Chemotherapy-induced damage to ovary: mechanisms and clinical impact. *Future Oncol.***2016**, *12*, 2333–2344.
9. Chapman, C.; Cree, L.; Shelling, A.N. The genetics of premature ovarian failure: current perspectives. *Int. J. Womens Health***2015**, *7*, 799–810.
10. Loffler, K.A.; Zarkower, D.; Koopman, P. Etiology of ovarian failure in blepharophimosis ptosis epicanthus inversus syndrome: FOXL2 is a conserved, early-acting gene in vertebrate ovarian development. *Endocrinology***2003**, *144*, 3237–3243.
11. PETERSON, P.; PITKÄNEN, J.; SILLANPÄÄ, N.; KROHN, K. Autoimmune polyendocrinopathy candidiasis ectodermal dystrophy (APECED): a model disease to study molecular aspects of endocrine autoimmunity. *Clin. Exp. Immunol.***2004**, *135*, 348–357.
12. Erven, B. van; Berry, G.T.; Cassiman, D.; Connolly, G.; Forga, M.; Gautschi, M.; Gubbels, C.S.; Hollak, C.E.M.; Janssen, M.C.; Knerr, I.; et al. Fertility in adult women with classic galactosemia and primary ovarian insufficiency. *Fertil. Steril.***2017**, *108*, 168–174.
13. Fortuño, C.; Labarta, E. Genetics of primary ovarian insufficiency: a review. *J. Assist. Reprod. Genet.***2014**, *31*, 1573–1585.

14. Komorowska, B. Autoimmune premature ovarian failure. *PrzeglądMenopauzalny Menopause Rev.***2016**, *15*, 210–214.
15. Warren, B.D.; Kinsey, W.K.; McGinnis, L.K.; Christenson, L.K.; Jasti, S.; Stevens, A.M.; Petroff, B.K.; Petroff, M.G. Ovarian autoimmune disease: clinical concepts and animal models. *Cell. Mol. Immunol.***2014**, *11*, 510–521.
16. Ebrahimi, M.; Akbari Asbagh, F. The role of autoimmunity in premature ovarian failure. *Iran. J. Reprod. Med.***2015**, *13*, 461–472.
17. Simopoulou, M.; Sfakianoudis, K.; Maziotis, E.; Grigoriadis, S.; Giannelou, P.; Rapani, A.; Tsioulou, P.; Pantou, A.; Kalampokas, T.; Vlahos, N.; et al. The Impact of Autoantibodies on IVF Treatment and Outcome: A Systematic Review. *Int. J. Mol. Sci.***2019**, *20*.
18. Ferrari, M. de L.; Vilela, E.G.; Faria, L.C.; Couto, C.A.; Salgado, C.J.; Leite, V.R.; Brasileiro Filho, G.; Bambirra, E.A.; Mendes, C.M.; Carvalho, S. de C.; et al. Whipple's disease. Report of five cases with different clinical features. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo***2001**, *43*, 45–50.
19. Goswami, D.; Conway, G.S. Premature ovarian failure. *Hum. Reprod. Update***2005**, *11*, 391–410.
20. Karagiannis, A.; Harsoulis, F. Gonadal dysfunction in systemic diseases. *Eur. J. Endocrinol.***2005**, *152*, 501–513.
21. Zhang, D.; Keilty, D.; Zhang, Z.; Chian, R. Mitochondria in oocyte aging: current understanding. *Facts Views Vis. ObGyn***9**, 29–38.
22. Fragouli, E.; Wells, D. Mitochondrial DNA Assessment to Determine Oocyte and Embryo Viability. *Semin. Reprod. Med.***2015**, *33*, 401–409.
23. Fragouli, E.; Spath, K.; Alfarawati, S.; Kaper, F.; Craig, A.; Michel, C.-E.; Kokocinski, F.; Cohen, J.; Munne, S.; Wells, D. Altered levels of mitochondrial DNA are associated with female age, aneuploidy, and provide an independent measure of embryonic implantation potential. *PLoS Genet.***2015**, *11*, e1005241.
24. Fragouli, E.; McCaffrey, C.; Ravichandran, K.; Spath, K.; Grifo, J.A.; Munne, S.; Wells, D. Clinical implications of mitochondrial DNA quantification on pregnancy outcomes: a blinded prospective non-selection study. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.***2017**, *32*, 2340–2347.

25. Igarashi, H.; Takahashi, T.; Nagase, S. Oocyte aging underlies female reproductive aging: biological mechanisms and therapeutic strategies. *Reprod. Med. Biol.***2015**, *14*, 159–169.
26. Woods, D.C.; Khrapko, K.; Tilly, J.L. Influence of Maternal Aging on Mitochondrial Heterogeneity, Inheritance, and Function in Oocytes and Preimplantation Embryos. *Genes***2018**, *9*.
27. Omid, M.; Khalili, M.A.; Nahangi, H.; Ashourzadeh, S.; Rahimipour, M. Does women's age influence zona pellucida birefringence of metaphase II oocytes in in-vitro maturation program? *Iran. J. Reprod. Med.***2013**, *11*, 823–828.
28. Livshyts, G.; Podlesnaja, S.; Kravchenko, S.; Sudoma, I.; Livshits, L. A distribution of two SNPs in exon 10 of the FSHR gene among the women with a diminished ovarian reserve in Ukraine. *J. Assist. Reprod. Genet.***2009**, *26*, 29–34.
29. Dan, W.; Jing, G.; Liangbin, X.; Ting, Z.; Ying, Z. Association of follicle stimulating hormone receptor promoter with ovarian response in IVF-ET patients. *Iran. J. Reprod. Med.***2015**, *13*, 715–720.
30. Jirge, P.R. Poor ovarian reserve. *J. Hum. Reprod. Sci.***2016**, *9*, 63–69.
31. Conforti, A.; Esteves, S.C.; Cimadomo, D.; Vaiarelli, A.; Di Rella, F.; Ubaldi, F.M.; Zullo, F.; De Placido, G.; Alviggi, C. Management of Women With an Unexpected Low Ovarian Response to Gonadotropin. *Front. Endocrinol.***2019**, *10*.
32. Ferraretti, A.P.; La Marca, A.; Fauser, B.C.J.M.; Tarlatzis, B.; Nargund, G.; Gianaroli, L.; ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition ESHRE consensus on the definition of “poor response” to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.***2011**, *26*, 1616–1624.
33. Younis, J.S.; Ben-Ami, M.; Ben-Shlomo, I. The Bologna criteria for poor ovarian response: a contemporary critical appraisal. *J. Ovarian Res.***2015**, *8*.
34. Esteves, S.C.; Roque, M.; Bedoschi, G.M.; Conforti, A.; Humaidan, P.; Alviggi, C. Defining Low Prognosis Patients Undergoing Assisted Reproductive Technology: POSEIDON Criteria—The Why. *Front. Endocrinol.***2018**, *9*.

35. Yang, Y.; Sun, X.; Cui, L.; Sheng, Y.; Tang, R.; Wei, D.; Qin, Y.; Li, W.; Chen, Z.-J. Younger poor ovarian response women achieved better pregnancy results in the first three IVF cycles. *Reprod. Biomed. Online***2016**, *32*, 532–537.
36. Nakagawa, K.; Kuroda, K.; Sugiyama, R. Clinical strategies for ART treatment of infertile women with advanced maternal age. *Reprod. Med. Biol.***2019**, *18*, 27–33.
37. Yin, H.; Jiang, H.; He, R.; Wang, C.; Zhu, J.; Cao, Z. Cumulative live birth rate of advanced-age women more than 40 with or without poor ovarian response. *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.***2019**, *58*, 201–205.
38. Younis, J.S.; Ben-Ami, M.; Ben-Shlomo, I. The Bologna criteria for poor ovarian response: A contemporary critical appraisal. *J. Ovarian Res.***2015**, *8*.
39. Spandorfer, S.D.; Avrech, O.M.; Colombero, L.T.; Palermo, G.D.; Rosenwaks, Z. Effect of parental age on fertilization and pregnancy characteristics in couples treated by intracytoplasmic sperm injection. *Hum. Reprod.***1998**.
40. Wang, Y.A.; Healy, D.; Black, D.; Sullivan, E.A. Age-specific success rate for women undertaking their first assisted reproduction technology treatment using their own oocytes in Australia, 2002-2005. *Hum. Reprod.***2008**.
41. Rubio, C.; Bellver, J.; Rodrigo, L.; Castellón, G.; Guillén, A.; Vidal, C.; Giles, J.; Ferrando, M.; Cabanillas, S.; Remohí, J.; et al. In vitro fertilization with preimplantation genetic diagnosis for aneuploidies in advanced maternal age: a randomized, controlled study. *Fertil. Steril.***2017**, *107*, 1122–1129.
42. George, K.; Kamath, M. Fertility and age. *J. Hum. Reprod. Sci.***2010**.
43. Klitzman, R.L. How old is too old? Challenges faced by clinicians concerning age cutoffs for patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil. Steril.***2016**.
44. Berkowitz, G.S.; Skovron, M.L.; Lapinski, R.H.; Berkowitz, R.L. Delayed Childbearing and the Outcome of Pregnancy. *N. Engl. J. Med.***1990**.

45. Wang, Y.; Tanbo, T.; Åbyholm, T.; Henriksen, T. The impact of advanced maternal age and parity on obstetric and perinatal outcomes in singleton gestations. *Arch. Gynecol. Obstet.***2011**.
46. Andersen, A.-M.N. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ***2000**.
47. Tarlatzis, B.C.; Zepiridis, L. Perimenopausal conception. *Ann. N. Y. Acad. Sci.***2003**, 997, 93–104.
48. Peacock, K.; Ketvertis, K.M. Menopause. In *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island (FL), 2019.
49. Im, E.-O.; Lee, S.H.; Chee, W. Sub-Ethnic Differences in the Menopausal Symptom Experience: Asian American Midlife Women. *J. Transcult. Nurs. Off. J. Transcult. Nurs. Soc. Transcult. Nurs. Soc.***2010**, 21, 123–133.
50. Sfakianoudis, K.; Simopoulou, M.; Maziotis, E.; Giannelou, P.; Tsioulou, P.; Rapani, A.; Pantou, A.; Petroutsou, K.; Angeli, I.; Deligeoroglou, E.; et al. Evaluation of the Second Follicular Wave Phenomenon in Natural Cycle Assisted Reproduction: A Key Option for Poor Responders through Luteal Phase Oocyte Retrieval. *Med. Kaunas Lith.***2019**, 55.
51. Yang, S.; Chen, X.; Zhen, X.; Wang, H.; Ma, C.; Li, R.; Liu, P.; Qiao, J. The Prognosis of IVF in Poor Responders Depending on the Bologna Criteria: A Large Sample Retrospective Study from China. *BioMed Res. Int.***2015**, 2015.
52. Goldfarb, J.M. Cumulative pregnancy rates in women with poor ovarian response. *Fertil. Steril.***2018**, 109, 1004–1005.
53. Ubaldi, F.; Vaiarelli, A.; D'Anna, R.; Rienzi, L. Management of poor responders in IVF: is there anything new? *BioMed Res. Int.***2014**, 2014.
54. Gonda, K.J.; Domar, A.D.; Gleicher, N.; Marrs, R.P. Insights from clinical experience in treating IVF poor responders. *Reprod. Biomed. Online***2018**, 36, 12–19.
55. Diaz-Garcia, C.; Domingo, J.; Garcia-Velasco, J.A.; Herraiz, S.; Mirabet, V.; Iniesta, I.; Cobo, A.; Remohí, J.; Pellicer, A. Oocyte vitrification versus ovarian cortex transplantation in fertility preservation for adult women undergoing gonadotoxic treatments: a prospective cohort study. *Fertil. Steril.***2018**, 109, 478-485.e2.

56. Chae-Kim, J.J.; Gavrilova-Jordan, L. Premature Ovarian Insufficiency: Procreative Management and Preventive Strategies. *Biomedicines***2018**, *7*.
57. Rienzi, L.; Gracia, C.; Maggiulli, R.; LaBarbera, A.R.; Kaser, D.J.; Ubaldi, F.M.; Vanderpoel, S.; Racowsky, C. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum. Reprod. Update***2017**, *23*, 139–155.
58. Bowen-Simpkins, P.; Wang, J.J.; Ahuja, K.K. The UK's anomalous 10-year limit on oocyte storage: time to change the law. *Reprod. Biomed. Online***2018**, *37*, 387–389.
59. Pantos, K.; Simopoulou, M.; Pantou, A.; Rapani, A.; Tsioulou, P.; Nitsos, N.; Syrkos, S.; Pappas, A.; Koutsilieris, M.; Sfakianoudis, K. A Case Series on Natural Conceptions Resulting in Ongoing Pregnancies in Menopausal and Prematurely Menopausal Women Following Platelet-Rich Plasma Treatment. *Cell Transplant.***2019**, *28*, 1333–1340.
60. Cozzolino, M.; Marin, D.; Sisti, G. New Frontiers in IVF: mtDNA and autologous germline mitochondrial energy transfer. *Reprod. Biol. Endocrinol.***2019**, *17*, 55.
61. Labarta, E.; de Los Santos, M.J.; Herraiz, S.; Escribá, M.J.; Marzal, A.; Buigues, A.; Pellicer, A. Autologous mitochondrial transfer as a complementary technique to intracytoplasmic sperm injection to improve embryo quality in patients undergoing in vitro fertilization-a randomized pilot study. *Fertil. Steril.***2019**, *111*, 86–96.
62. Zakrzewski, W.; Dobrzyński, M.; Szymonowicz, M.; Rybak, Z. Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Res. Ther.***2019**, *10*, 68.
63. Li, H.-C.; Stoicov, C.; Rogers, A.B.; Houghton, J. Stem cells and cancer: Evidence for bone marrow stem cells in epithelial cancers. *World J. Gastroenterol. WJG***2006**, *12*, 363–371.
64. Schäffler, A.; Büchler, C. Concise review: adipose tissue-derived stromal cells--basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *Stem Cells Dayt. Ohio***2007**, *25*, 818–827.
65. Hare, J.M.; Traverse, J.H.; Henry, T.D.; Dib, N.; Strumpf, R.K.; Schulman, S.P.; Gerstenblith, G.; DeMaria, A.N.; Denktas, A.E.; Gammon, R.S.; et

- al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.***2009**, *54*, 2277–2286.
66. Lan, Y.-W.; Choo, K.-B.; Chen, C.-M.; Hung, T.-H.; Chen, Y.-B.; Hsieh, C.-H.; Kuo, H.-P.; Chong, K.-Y. Hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells attenuate bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Stem Cell Res. Ther.***2015**, *6*, 97.
 67. Liu, Y.-H.; Peng, K.-Y.; Chiu, Y.-W.; Ho, Y.-L.; Wang, Y.-H.; Shun, C.-T.; Huang, S.-Y.; Lin, Y.-S.; de Vries, A.A.F.; Pijnappels, D.A.; et al. Human Placenta-Derived Multipotent Cells (hPDMCs) Modulate Cardiac Injury: From Bench to Small and Large Animal Myocardial Ischemia Studies. *Cell Transplant.***2015**, *24*, 2463–2478.
 68. Fazeli, Z.; Abedindo, A.; Omrani, M.D.; Ghaderian, S.M.H. Mesenchymal Stem Cells (MSCs) Therapy for Recovery of Fertility: a Systematic Review. *Stem Cell Rev. Rep.***2018**, *14*, 1–12.
 69. Cervelló, I.; Gil-Sanchis, C.; Santamaría, X.; Cabanillas, S.; Díaz, A.; Faus, A.; Pellicer, A.; Simón, C. Human CD133(+) bone marrow-derived stem cells promote endometrial proliferation in a murine model of Asherman syndrome. *Fertil. Steril.***2015**, *104*, 1552-1560.e1–3.
 70. 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.
 71. Sobhani, A.; Khanlarkhani, N.; Baazm, M.; Mohammadzadeh, F.; Najafi, A.; Mehdinejadani, S.; Sargolzaei Aval, F. Multipotent Stem Cell and Current Application. *Acta Med. Iran.***2017**, *55*, 6–23.
 72. *Atlas of Human Pluripotent Stem Cells: Derivation and Culturing*; Amit, M., Itskovitz-Eldor, J., Eds.; Stem Cell Biology and Regenerative Medicine; Humana Press, 2012; ISBN 978-1-61779-547-3.
 73. Mirzaei, H.; Sahebkar, A.; Sichani, L.S.; Moridikia, A.; Nazari, S.; Sadri Nahand, J.; Salehi, H.; Stenvang, J.; Masoudifar, A.; Mirzaei, H.R.; et al. Therapeutic application of multipotent stem cells. *J. Cell. Physiol.***2018**, *233*, 2815–2823.

74. Liao, S.-Y.; Tse, H.-F. Multipotent (adult) and pluripotent stem cells for heart regeneration: what are the pros and cons? *Stem Cell Res. Ther.***2013**, *4*, 151.
75. Haynesworth, S.E.; Baber, M.A.; Caplan, A.I. Cytokine expression by human marrow-derived mesenchymal progenitor cells in vitro: effects of dexamethasone and IL-1 alpha. *J. Cell. Physiol.***1996**, *166*, 585–592.
76. Caplan, A.I.; Bruder, S.P. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends Mol. Med.***2001**, *7*, 259–264.
77. Doorn, J.; Moll, G.; Le Blanc, K.; van Blitterswijk, C.; de Boer, J. Therapeutic applications of mesenchymal stromal cells: paracrine effects and potential improvements. *Tissue Eng. Part B Rev.***2012**, *18*, 101–115.
78. Gneccchi, M.; He, H.; Noiseux, N.; Liang, O.D.; Zhang, L.; Morello, F.; Mu, H.; Melo, L.G.; Pratt, R.E.; Ingwall, J.S.; et al. Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.***2006**, *20*, 661–669.
79. Murphy, M.B.; Moncivais, K.; Caplan, A.I. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine. *Exp. Mol. Med.***2013**, *45*, e54.
80. Liu, J.; Zhang, H.; Zhang, Y.; Li, N.; Wen, Y.; Cao, F.; Ai, H.; Xue, X. Homing and Restorative Effects of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells on Cisplatin Injured Ovaries in Rats. *Mol. Cells***2014**, *37*, 865–872.
81. Sanders, J.E.; Hawley, J.; Levy, W.; Gooley, T.; Buckner, C.D.; Deeg, H.J.; Doney, K.; Storb, R.; Sullivan, K.; Witherspoon, R.; et al. Pregnancies following high-dose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total-body irradiation and bone marrow transplantation. *Blood***1996**, *87*, 3045–3052.
82. Salooja, N.; Chatterjee, R.; McMillan, A.K.; Kelsey, S.M.; Newland, A.C.; Milligan, D.W.; Franklin, I.M.; Hutchinson, R.M.; Linch, D.C.; Goldstone, A.H. Successful pregnancies in women following single autotransplant for acute myeloid leukemia with a chemotherapy ablation protocol. *Bone Marrow Transplant.***1994**, *13*, 431–435.

83. Salooja, N.; Szydlo, R.M.; Socie, G.; Rio, B.; Chatterjee, R.; Ljungman, P.; Van Lint, M.T.; Powles, R.; Jackson, G.; Hinterberger-Fischer, M.; et al. Pregnancy outcomes after peripheral blood or bone marrow transplantation: a retrospective survey. *Lancet Lond. Engl.***2001**, *358*, 271–276.
84. Johnson, J.; Bagley, J.; Skaznik-Wikiel, M.; Lee, H.-J.; Adams, G.B.; Niikura, Y.; Tschudy, K.S.; Tilly, J.C.; Cortes, M.L.; Forkert, R.; et al. Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell***2005**, *122*, 303–315.
85. Telfer, E.E.; Gosden, R.G.; Byskov, A.G.; Spears, N.; Albertini, D.; Andersen, C.Y.; Anderson, R.; Braw-Tal, R.; Clarke, H.; Gougeon, A.; et al. On regenerating the ovary and generating controversy. *Cell***2005**, *122*, 821–822.
86. Eggan, K.; Jurga, S.; Gosden, R.; Min, I.M.; Wagers, A.J. Ovulated oocytes in adult mice derive from non-circulating germ cells. *Nature***2006**, *441*, 1109–1114.
87. Veitia, R.A.; Gluckman, E.; Fellous, M.; Soulier, J. Recovery of female fertility after chemotherapy, irradiation, and bone marrow allograft: further evidence against massive oocyte regeneration by bone marrow-derived germline stem cells. *Stem Cells Dayt. Ohio***2007**, *25*, 1334–1335.
88. Lee, H.-J.; Selesniemi, K.; Niikura, Y.; Niikura, T.; Klein, R.; Dombkowski, D.M.; Tilly, J.L. Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long-term fertility in a preclinical mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.***2007**, *25*, 3198–3204.
89. Abd-Allah, S.H.; Shalaby, S.M.; Pasha, H.F.; El-Shal, A.S.; Raafat, N.; Shabrawy, S.M.; Awad, H.A.; Amer, M.G.; Gharib, M.A.; El Gendy, E.A.; et al. Mechanistic action of mesenchymal stem cell injection in the treatment of chemically induced ovarian failure in rabbits. *Cytotherapy***2013**, *15*, 64–75.
90. Guo, J.; Gao, X.; Lin, Z.; Wu, W.; Huang, L.; Dong, H.; Chen, J.; Lu, J.; Fu, Y.; Wang, J.; et al. BMSCs reduce rat granulosa cell apoptosis induced by cisplatin and perimenopause. *BMC Cell Biol.***2013**, *14*, 18.

91. Mohamed, S.A.; Shalaby, S.M.; Abdelaziz, M.; Brakta, S.; Hill, W.D.; Ismail, N.; Al-Hendy, A. Human Mesenchymal Stem Cells Partially Reverse Infertility in Chemotherapy-Induced Ovarian Failure. *Reprod. Sci. Thousand Oaks Calif***2018**, *25*, 51–63.
92. Yoon, S.Y. Mesenchymal stem cells for restoration of ovarian function. *Clin. Exp. Reprod. Med.***2019**, *46*, 1–7.
93. He, Y.; Chen, D.; Yang, L.; Hou, Q.; Ma, H.; Xu, X. The therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells in premature ovarian failure. *Stem Cell Res. Ther.***2018**, *9*, 263.
94. Lai, D.; Wang, F.; Chen, Y.; Wang, L.; Wang, Y.; Cheng, W. Human amniotic fluid stem cells have a potential to recover ovarian function in mice with chemotherapy-induced sterility. *BMC Dev. Biol.***2013**, *13*, 34.
95. Lai, D.; Wang, F.; Yao, X.; Zhang, Q.; Wu, X.; Xiang, C. Human endometrial mesenchymal stem cells restore ovarian function through improving the renewal of germline stem cells in a mouse model of premature ovarian failure. *J. Transl. Med.***2015**, *13*, 155.
96. Sun, M.; Wang, S.; Li, Y.; Yu, L.; Gu, F.; Wang, C.; Yao, Y. Adipose-derived stem cells improved mouse ovary function after chemotherapy-induced ovary failure. *Stem Cell Res. Ther.***2013**, *4*, 80.
97. Wang, Z.; Wang, Y.; Yang, T.; Li, J.; Yang, X. Study of the reparative effects of menstrual-derived stem cells on premature ovarian failure in mice. *Stem Cell Res. Ther.***2017**, *8*.
98. Mohamed, S.A.; Shalaby, S.; Brakta, S.; Elam, L.; Elsharoud, A.; Al-Hendy, A. Umbilical Cord Blood Mesenchymal Stem Cells as an Infertility Treatment for Chemotherapy Induced Premature Ovarian Insufficiency. *Biomedicines***2019**, *7*.
99. Edessy, M.; Hosni, H.N.; Shady, Y.; Waf, Y.; Bakr, S.; Kamel, M. Autologous stem cells therapy, The first baby of idiopathic premature ovarian failure. *Acta Medica Int.***2016**, *3*, 19.
100. HalaGabr, Wael Abo Elkheir and Ahmed El-Gazzar Autologous stem cell transplantation in patients with idiopathic premature ovarian failure. *J. Tissue Sci. Eng.***2016**, *7*.
101. Gupta, S.; Lodha, P.; Karthick, M.S.; Tandulwadkar, S.R. Role of Autologous Bone Marrow-Derived Stem Cell Therapy for Follicular

Recruitment in Premature Ovarian Insufficiency: Review of Literature and a Case Report of World's First Baby with Ovarian Autologous Stem Cell Therapy in a Perimenopausal Woman of Age 45 Year. *J. Hum. Reprod. Sci.***2018**, *11*, 125–130.

102. Tauchmanová, L.; Selleri, C.; De Rosa, G.; Sammartino, A.; Di Carlo, C.; Musella, T.; Martorelli, C.; Lombardi, G.; Rotoli, B.; Nappi, C.; et al. Estrogen-progestin therapy in women after stem cell transplant: our experience and literature review. *Menopause N. Y. N***2007**, *14*, 320–330.
103. Sfakianoudis, K.; Simopoulou, M.; Nitsos, N.; Rapani, A.; Pappas, A.; Pantou, A.; Chronopoulou, M.; Deligeoroglou, E.; Koutsilieris, M.; Pantos, K. Autologous Platelet-Rich Plasma Treatment Enables Pregnancy for a Woman in Premature Menopause. *J. Clin. Med.***2018**, *8*.
104. Costa, V.; McGregor, M.; Laneuville, P.; Brophy, J.M. The cost-effectiveness of stem cell transplantations from unrelated donors in adult patients with acute leukemia. *Value Health J. Int. Soc. Pharmacoeconomics Outcomes Res.***2007**, *10*, 247–255.
105. Ashfaq, K.; Yahaya, I.; Hyde, C.; Andronis, L.; Barton, P.; Bayliss, S.; Chen, Y.-F. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of stem cell transplantation in the management of acute leukaemia: a systematic review; NIHR Journals Library, 2010;
106. Gurtner, G.C.; Werner, S.; Barrandon, Y.; Longaker, M.T. Wound repair and regeneration. *Nature***2008**, *453*, 314–321.
107. Dhurat, R.; Sukesh, M.S. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: A review and author's perspective. *J. Cutan. Aesthetic Surg.***2014**, *7*, 189.
108. Sánchez-González, D.J.; Méndez-Bolaina, E.; Trejo-Bahena, N.I. Platelet-Rich Plasma Peptides: Key for Regeneration Available online: <https://www.hindawi.com/journals/ijpep/2012/532519/> (accessed on Sep 11, 2019).
109. Amable, P.R.; Carias, R.B.V.; Teixeira, M.V.T.; da Cruz Pacheco, Í.; Corrêa do Amaral, R.J.F.; Granjeiro, J.M.; Borojevic, R. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res. Ther.***2013**, *4*, 67.

110. Szafarowska, M.; Jerzak, M. [Ovarian aging and infertility]. *Ginekol. Pol.***2013**, *84*, 298–304.
111. Choi, J.; Minn, K.W.; Chang, H. The Efficacy and Safety of Platelet-Rich Plasma and Adipose-Derived Stem Cells: An Update. *Arch. Plast. Surg.***2012**, *39*, 585–592.
112. Mlynarek, R.A.; Kuhn, A.W.; Bedi, A. Platelet-Rich Plasma (PRP) in Orthopedic Sports Medicine. *Am. J. Orthop. Belle Mead NJ***2016**, *45*, 290–326.
113. Patel, A.N.; Selzman, C.H.; Kumpati, G.S.; McKellar, S.H.; Bull, D.A. Evaluation of autologous platelet rich plasma for cardiac surgery: outcome analysis of 2000 patients. *J. Cardiothorac. Surg.***2016**, *11*, 62.
114. Frautschi, R.S.; Hashem, A.M.; Halasa, B.; Cakmakoglu, C.; Zins, J.E. Current Evidence for Clinical Efficacy of Platelet Rich Plasma in Aesthetic Surgery: A Systematic Review. *Aesthet. Surg. J.***2017**, *37*, 353–362.
115. Merchán, W.H.; Gómez, L.A.; Chasoy, M.E.; Alfonso-Rodríguez, C.A.; Muñoz, A.L. Platelet-rich plasma, a powerful tool in dermatology. *J. Tissue Eng. Regen. Med.***2019**, *13*, 892–901.
116. Duffy, D.M.; Ko, C.; Jo, M.; Brannstrom, M.; Curry, T.E. Ovulation: Parallels With Inflammatory Processes. *Endocr. Rev.***2019**, *40*, 369–416.
117. Danforth, D.R.; Arbogast, L.K.; Ghosh, S.; Dickerman, A.; Rofagha, R.; Friedman, C.I. Vascular endothelial growth factor stimulates preantral follicle growth in the rat ovary. *Biol. Reprod.***2003**, *68*, 1736–1741.
118. Quintana, R.; Kopcow, L.; Sueldo, C.; Marconi, G.; Rueda, N.G.; Barañao, R.I. Direct injection of vascular endothelial growth factor into the ovary of mice promotes follicular development. *Fertil. Steril.***2004**, *82*, 1101–1105.
119. Sfakianoudis, K.; Simopoulou, M.; Nitsos, N.; Rapani, A.; Pantou, A.; Vaxevanoglou, T.; Kokkali, G.; Koutsilieris, M.; Pantos, K. A Case Series on Platelet-Rich Plasma Revolutionary Management of Poor Responder Patients. *Gynecol. Obstet. Invest.***2019**, *84*, 99–106.
120. Sills, E.S.; Rickers, N.S.; Li, X.; Palermo, G.D. First data on in vitro fertilization and blastocyst formation after intraovarian injection of calcium gluconate-activated autologous platelet rich plasma. *Gynecol. Endocrinol. Off. J. Int. Soc. Gynecol. Endocrinol.***2018**, *34*, 756–760.

121. Pantos K, Nitsos N, Kokkali G, Vaxevanoglou T, Markomichali C., Pantou A., Grammatidis M., Lazaros L., Sfakianoudis K. Ovarian rejuvenation and folliculogenesis reactivation in peri-menopausal women after autologous platelet-rich plasma treatment.; Human Reproduction: Helsinki, Finland.
122. Farimani, M.; Heshmati, S.; Poorolajal, J.; Bahmanzadeh, M. A report on three live births in women with poor ovarian response following intra-ovarian injection of platelet-rich plasma (PRP). *Mol. Biol. Rep.***2019**, *46*, 1611–1616.
123. Machado, E.S.; Leite, R.; dos Santos, C.C.; Artuso, G.L.; Gluszczyk, F.; de Jesus, L.G.; Caldas, J.M.P.; Bredemeier, M.; Machado, E.S.; Leite, R.; et al. Turn down - turn up: a simple and low-cost protocol for preparing platelet-rich plasma. *Clinics***2019**, *74*.
124. Martinez-Zapata, M.J.; Martí-Carvajal, A.J.; Solà, I.; Expósito, J.A.; Bolívar, I.; Rodríguez, L.; Garcia, J.; Zaror, C. Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds. *Cochrane Database Syst. Rev.***2016**.
125. Sills, E.S.; Wood, S.H. Autologous activated platelet-rich plasma injection into adult human ovary tissue: molecular mechanism, analysis, and discussion of reproductive response. *Biosci. Rep.***2019**, *39*.
126. Hanna, C.B.; Hennebold, J.D. Ovarian germline stem cells: an unlimited source of oocytes? *Fertil. Steril.***2014**, *101*, 20–30.
127. Wang, K.; Li, Z.; Li, J.; Liao, W.; Qin, Y.; Zhang, N.; Huo, X.; Mao, N.; Zhu, H. Optimization of the Platelet-Rich Plasma Concentration for Mesenchymal Stem Cell Applications. *Tissue Eng. Part A***2019**, *25*, 333–351.
128. Sills, E.S.; Li, X.; Rickers, N.S.; Wood, S.H.; Palermo, G.D. Metabolic and neurobehavioral response following intraovarian administration of autologous activated platelet rich plasma: First qualitative data. *Neuro Endocrinol. Lett.***2019**, *39*, 427–433.
129. Amorim, C.A.; Leonel, E.C.R.; Afifi, Y.; Coomarasamy, A.; Fishel, S. Cryostorage and retransplantation of ovarian tissue as an infertility treatment. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.***2019**, *33*, 89–102.
130. Silber, S. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: scientific implications. *J. Assist. Reprod. Genet.***2016**, *33*, 1595–1603.

131. Donfack, N.J.; Alves, K.A.; Araújo, V.R.; Cordova, A.; Figueiredo, J.R.; Smitz, J.; Rodrigues, A.P.R. Expectations and limitations of ovarian tissue transplantation. *Zygote Camb. Engl.***2017**, *25*, 391–403.
132. Donnez, J.; Dolmans, M.-M. Ovarian cortex transplantation: 60 reported live births brings the success and worldwide expansion of the technique towards routine clinical practice. *J. Assist. Reprod. Genet.***2015**, *32*, 1167–1170.
133. Demeestere, I.; Simon, P.; Emiliani, S.; Delbaere, A.; Englert, Y. Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Hum. Reprod. Update***2009**, *15*, 649–665.
134. Kuo, C.-Y.; Baker, H.; Fries, M.H.; Yoo, J.J.; Kim, P.C.W.; Fisher, J.P. Bioengineering Strategies to Treat Female Infertility. *Tissue Eng. Part B Rev.***2016**, *23*, 294–306.
135. Oktay, K.; Karlikaya, G. Ovarian function after transplantation of frozen, banked autologous ovarian tissue. *N. Engl. J. Med.***2000**, *342*, 1919.
136. Donnez, J.; Dolmans, M.M.; Demylle, D.; Jadoul, P.; Pirard, C.; Squifflet, J.; Martinez-Madrid, B.; van Langendonckt, A. Livebirth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet Lond. Engl.***2004**, *364*, 1405–1410.
137. Meirow, D.; Levron, J.; Eldar-Geva, T.; Hardan, I.; Fridman, E.; Zalel, Y.; Schiff, E.; Dor, J. Pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a patient with ovarian failure after chemotherapy. *N. Engl. J. Med.***2005**, *353*, 318–321.
138. Silber, S.J.; Lenahan, K.M.; Levine, D.J.; Pineda, J.A.; Gorman, K.S.; Friez, M.J.; Crawford, E.C.; Gosden, R.G. Ovarian transplantation between monozygotic twins discordant for premature ovarian failure. *N. Engl. J. Med.***2005**, *353*, 58–63.
139. Demeestere, I.; Simon, P.; Emiliani, S.; Delbaere, A.; Englert, Y. Fertility preservation: successful transplantation of cryopreserved ovarian tissue in a young patient previously treated for Hodgkin's disease. *The Oncologist***2007**, *12*, 1437–1442.
140. Andersen, C.Y.; Rosendahl, M.; Byskov, A.G.; Loft, A.; Ottosen, C.; Dueholm, M.; Schmidt, K.L.T.; Andersen, A.N.; Ernst, E. Two successful

- pregnancies following autotransplantation of frozen/thawed ovarian tissue. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.***2008**, 23, 2266–2272.
141. Kim, S.S. Assessment of long term endocrine function after transplantation of frozen-thawed human ovarian tissue to the heterotopic site: 10 year longitudinal follow-up study. *J. Assist. Reprod. Genet.***2012**, 29, 489–493.
 142. Atala, A. Tissue engineering of reproductive tissues and organs. *Fertil. Steril.***2012**, 98, 21–29.
 143. Schubert, B.; Canis, M.; Darcha, C.; Artonne, C.; Smits, J.; Grizard, G. Follicular growth and estradiol follow-up after subcutaneous xenografting of fresh and cryopreserved human ovarian tissue. *Fertil. Steril.***2008**, 89, 1787–1794.
 144. Van Eyck, A.-S.; Jordan, B.F.; Gallez, B.; Heilier, J.-F.; Van Langendonckt, A.; Donnez, J. Electron paramagnetic resonance as a tool to evaluate human ovarian tissue reoxygenation after xenografting. *Fertil. Steril.***2009**, 92, 374–381.
 145. Kong, H.S.; Lee, J.; Youm, H.W.; Kim, S.K.; Lee, J.R.; Suh, C.S.; Kim, S.H. Effect of treatment with angiopoietin-2 and vascular endothelial growth factor on the quality of xenografted bovine ovarian tissue in mice. *PLOS ONE***2017**, 12, e0184546.
 146. Donnez, J.; Dolmans, M.-M. Natural hormone replacement therapy with a functioning ovary after the menopause: dream or reality? *Reprod. Biomed. Online***2018**, 37, 359–366.
 147. Pangas, S.A.; Saudye, H.; Shea, L.D.; Woodruff, T.K. Novel approach for the three-dimensional culture of granulosa cell-oocyte complexes. *Tissue Eng.***2003**, 9, 1013–1021.
 148. Krotz, S.P.; Robins, J.C.; Ferruccio, T.-M.; Moore, R.; Steinhoff, M.M.; Morgan, J.R.; Carson, S. In vitro maturation of oocytes via the pre-fabricated self-assembled artificial human ovary. *J. Assist. Reprod. Genet.***2010**, 27, 743–750.
 149. Kim, S.; Lee, Y.; Lee, S.; Kim, T. Ovarian tissue cryopreservation and transplantation in patients with cancer. *Obstet. Gynecol. Sci.***2018**, 61, 431–442.

150. Hendriks, S.; Dancet, E.A.F.; van Pelt, A.M.M.; Hamer, G.; Repping, S. Artificial gametes: a systematic review of biological progress towards clinical application. *Hum. Reprod. Update***2015**, *21*, 285–296.
151. Moreno, I.; Míguez-Forjan, J.M.; Simón, C. Artificial gametes from stem cells. *Clin. Exp. Reprod. Med.***2015**, *42*, 33–44.
152. White, Y.A.R.; Woods, D.C.; Takai, Y.; Ishihara, O.; Seki, H.; Tilly, J.L. Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. *Nat. Med.***2012**, *18*, 413–421.
153. Aflatoonian, B.; Ruban, L.; Jones, M.; Aflatoonian, R.; Fazeli, A.; Moore, H.D. In vitro post-meiotic germ cell development from human embryonic stem cells. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.***2009**, *24*, 3150–3159.
154. Cheng, X.; Chen, S.; Yu, X.; Zheng, P.; Wang, H. BMP15 gene is activated during human amniotic fluid stem cell differentiation into oocyte-like cells. *DNA Cell Biol.***2012**, *31*, 1198–1204.
155. Ma, Z.; Liu, R.; Wang, X.; Huang, M.; Gao, Q.; Lu, Y.; Liu, C. Spontaneous germline potential of human hepatic cell line in vitro. *Mol. Hum. Reprod.***2013**, *19*, 216–226.
156. Hendriks, S.; Dondorp, W.; de Wert, G.; Hamer, G.; Repping, S.; Dancet, E.A.F. Potential consequences of clinical application of artificial gametes: a systematic review of stakeholder views. *Hum. Reprod. Update***2015**, *21*, 297–309.
157. Segers, S.; Mertes, H.; de Wert, G.; Dondorp, W.; Pennings, G. Balancing Ethical Pros and Cons of Stem Cell Derived Gametes. *Ann. Biomed. Eng.***2017**, *45*, 1620–1632.
158. Jansen, R.P.; de Boer, K. The bottleneck: mitochondrial imperatives in oogenesis and ovarian follicular fate. *Mol. Cell. Endocrinol.***1998**, *145*, 81–88.
159. Motta, P.M.; Nottola, S.A.; Makabe, S.; Heyn, R. Mitochondrial morphology in human fetal and adult female germ cells. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.***2000**, *15 Suppl 2*, 129–147.
160. May-Panloup, P.; Chrétien, M.F.; Jacques, C.; Vasseur, C.; Malthiery, Y.; Reynier, P. Low oocyte mitochondrial DNA content in ovarian insufficiency. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.***2005**, *20*, 593–597.

161. Seli, E. Mitochondrial DNA as a biomarker for in-vitro fertilization outcome. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.***2016**, 28, 158–163.
162. Victor, A.R.; Brake, A.J.; Tyndall, J.C.; Griffin, D.K.; Zouves, C.G.; Barnes, F.L.; Viotti, M. Accurate quantitation of mitochondrial DNA reveals uniform levels in human blastocysts irrespective of ploidy, age, or implantation potential. *Fertil. Steril.***2017**, 107, 34-42.e3.
163. Grindler, N.M.; Moley, K.H. Maternal obesity, infertility and mitochondrial dysfunction: potential mechanisms emerging from mouse model systems. *Mol. Hum. Reprod.***2013**, 19, 486–494.
164. Cohen, J.; Scott, R.; Alikani, M.; Schimmel, T.; Munné, S.; Levron, J.; Wu, L.; Brenner, C.; Warner, C.; Willadsen, S. Ooplasmic transfer in mature human oocytes. *Mol. Hum. Reprod.***1998**, 4, 269–280.
165. Barritt, J.A.; Brenner, C.A.; Malter, H.E.; Cohen, J. Mitochondria in human offspring derived from ooplasmic transplantation. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.***2001**, 16, 513–516.
166. Fakih, M.H.; Shmoury, M.E.; Szeptycki, J.; Cruz, D.B. dela; Lux, C. de G.; Verjee, S.; Burgess, C.M.; Cohn, G.M.; Casper, R. The AUGMENT SM Treatment: Physician Reported Outcomes of the Initial Global Patient Experience.; 2015.
167. Oktay, K.; Baltaci, V.; Sonmezer, M.; Turan, V.; Unsal, E.; Baltaci, A.; Aktuna, S.; Moy, F. Oogonial Precursor Cell-Derived Autologous Mitochondria Injection to Improve Outcomes in Women With Multiple IVF Failures Due to Low Oocyte Quality: A Clinical Translation. *Reprod. Sci. Thousand Oaks Calif***2015**, 22, 1612–1617.
168. Greenfield, A.; Braude, P.; Flinter, F.; Lovell-Badge, R.; Ogilvie, C.; Perry, A.C.F. Assisted reproductive technologies to prevent human mitochondrial disease transmission. *Nat. Biotechnol.***2017**, 35, 1059–1068.
169. Herbert, M.; Turnbull, D. Progress in mitochondrial replacement therapies. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.***2018**, 19, 71–72.
170. Tachibana, M.; Kuno, T.; Yaegashi, N. Mitochondrial replacement therapy and assisted reproductive technology: A paradigm shift toward treatment of genetic diseases in gametes or in early embryos. *Reprod. Med. Biol.***2018**, 17, 421–433.

171. Labarta, E.; de Los Santos, M.J.; Escribá, M.J.; Pellicer, A.; Herraiz, S. Mitochondria as a tool for oocyte rejuvenation. *Fertil. Steril.***2019**, *111*, 219–226.
172. Hyslop, L.A.; Blakeley, P.; Craven, L.; Richardson, J.; Fogarty, N.M.E.; Fragouli, E.; Lamb, M.; Wamaitha, S.E.; Prathalingam, N.; Zhang, Q.; et al. Towards clinical application of pronuclear transfer to prevent mitochondrial DNA disease. *Nature***2016**, *534*, 383–386.
173. Ma, H.; O’Neil, R.C.; Marti Gutierrez, N.; Hariharan, M.; Zhang, Z.Z.; He, Y.; Cinnioglu, C.; Kayali, R.; Kang, E.; Lee, Y.; et al. Functional Human Oocytes Generated by Transfer of Polar Body Genomes. *Cell Stem Cell***2017**, *20*, 112–119.
174. Zhang, J.; Zhuang, G.; Zeng, Y.; Grifo, J.; Acosta, C.; Shu, Y.; Liu, H. Pregnancy derived from human zygote pronuclear transfer in a patient who had arrested embryos after IVF. *Reprod. Biomed. Online***2016**, *33*, 529–533.
175. Zhang, J.; Liu, H.; Luo, S.; Chavez-Badiola, A.; Liu, Z.; Yang, M.; Munne, S.; Konstantinidis, M.; Wells, D.; Huang, T. First live birth using human oocytes reconstituted by spindle nuclear transfer for mitochondrial DNA mutation causing Leigh syndrome. *Fertil. Steril.***2016**, *106*, e375–e376.
176. Zhang, J.; Liu, H.; Luo, S.; Lu, Z.; Chávez-Badiola, A.; Liu, Z.; Yang, M.; Merhi, Z.; Silber, S.J.; Munné, S.; et al. Live birth derived from oocyte spindle transfer to prevent mitochondrial disease. *Reprod. Biomed. Online***2017**, *34*, 361–368.
177. Reardon, S. Genetic details of controversial “three-parent baby” revealed. *Nat. News***2017**, *544*, 17.
178. ISRCTN - ISRCTN11455145: Spindle transfer for the treatment of infertility problems associated to poor egg quality: a pilot trial Available online: <http://www.isrctn.com/ISRCTN11455145> (accessed on Oct 20, 2019).
179. Welcome Available online: <https://www.eshre.eu/Press-Room/ESHRE-News#targetText=Spindle%20transfer%20in%20the%20treatment%20of%20infertility%3A%20an%20ESHRE%20position%20statement&targetTe>

xt=This%20treatment%2C%20also%20known%20as,aim%20of%20correcting%20cytoplasmic%20disorders. (accessed on Oct 20, 2019).

180. Eyre-Walker, A. Mitochondrial Replacement Therapy: Are Mito-nuclear Interactions Likely To Be a Problem? *Genetics***2017**, *205*, 1365–1372.
181. Dobler, R.; Dowling, D.K.; Morrow, E.H.; Reinhardt, K. A systematic review and meta-analysis reveals pervasive effects of germline mitochondrial replacement on components of health. *Hum. Reprod. Update***2018**, *24*, 519–534.
182. Eyre-Walker, A. Mitochondrial replacement and its effects on human health. *Hum. Reprod. Update***2019**, *25*, 392–394.
183. Li, M.; Schroeder, R.; Ko, A.; Stoneking, M. Fidelity of capture-enrichment for mtDNA genome sequencing: influence of NUMTs. *Nucleic Acids Res.***2012**, *40*, e137.
184. Castro, R.J. Mitochondrial replacement therapy: the UK and US regulatory landscapes. *J. Law Biosci.***2016**, *3*, 726–735.
185. Pompei, M.; Pompei, F. Overcoming bioethical, legal, and hereditary barriers to mitochondrial replacement therapy in the USA. *J. Assist. Reprod. Genet.***2019**, *36*, 383–393.
186. Härmäläinen, R.H.; Landoni, J.C.; Ahlqvist, K.J.; Goffart, S.; Ryytty, S.; Rahman, M.O.; Brilhante, V.; Icaý, K.; Hautaniemi, S.; Wang, L.; et al. Defects in mtDNA replication challenge nuclear genome stability through nucleotide depletion and provide a unifying mechanism for mouse progerias. *Nat. Metab.***2019**, *1*, 958–965.
187. Simopoulou, M.; Sfakianoudis, K.; Giannelou, P.; Pierouli, A.; Rapani, A.; Maziotis, E.; Galatis, D.; Bakas, P.; Vlahos, N.; Pantos, K.; et al. Treating Infertility: Current Affairs of Cross-border Reproductive Care. *Open Med. Wars. Pol.***2019**, *14*, 292–299.
188. Campbell, K.A.; Saltzman, B.M.; Mascarenhas, R.; Khair, M.M.; Verma, N.N.; Bach, B.R.; Cole, B.J. Does Intra-articular Platelet-Rich Plasma Injection Provide Clinically Superior Outcomes Compared With Other Therapies in the Treatment of Knee Osteoarthritis? A Systematic Review of Overlapping Meta-analyses. *Arthrosc. J. Arthrosc. Relat. Surg. Off. Publ. Arthrosc. Assoc. N. Am. Int. Arthrosc. Assoc.***2015**, *31*, 2213–2221.