

# Microambiente inmunológico asociado al ovario y su modulación durante el envejecimiento

Ovarian associated immune microenvironment and Its Modulation During Aging

Cattaneo A<sup>1</sup>, Gallino L<sup>2</sup>, Castagnola L<sup>2</sup>, Schafir A<sup>2</sup>, Materazzi L<sup>2</sup>, Irigoyen M<sup>1</sup>, Martínez G<sup>1</sup>, Gnocchi D<sup>1</sup>, Tessari L<sup>1</sup>, Rodríguez Y<sup>1</sup>, Grasso E<sup>2</sup>, Gori MS<sup>2</sup> y Ramhorst R<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> FERTILIS Medicina Reproductiva, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Laboratorio de Inmunofarmacología, Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN) CONICET e Universidad de Buenos Aires, Argentina

## RESUMEN

Durante mucho tiempo, la investigación en la biología ovárica se centró en el folículo, la unidad funcional del ovario. Sin embargo, evidencias científicas recientes indican la relevancia de la respuesta inmunológica en la modulación de la función ovárica. En este sentido, se ha propuesto el concepto de “Microambiente Inmunológico Reproductivo” que estudia el microambiente en tejidos asociados a la reproducción, tales como el espacio intersticial de los testículos, el estroma ovárico y el endometrio, y su relación con las células inmunes residentes en los mismos.

Particularmente, en el ovario, múltiples evidencias demuestran el rol clave de las células inmunes en la fisiología ovárica. Entre las células presentes, se encuentran los macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, células NK y mastocitos, quienes aportan a la regulación inmune, la síntesis de estrógenos y la ovogénesis entre otros procesos. De estas poblaciones inmunes, los macrófagos son de especial interés ya que, por su capacidad de integrar

## ABSTRACT

*For a long time, ovarian research has been focused on the follicle, the functional unit of the ovary. However, recent scientific evidence remarks the relevance of the immune response in ovarian function. In this sense, it has been proposed the concept of “Reproductive Immune Microenvironment” that studies the microenvironment associated with reproductive tissues, such as testicular interstitial spaces, ovarian stroma and the endometrium, and its relationship with the resident immune cells.*

*Particularly in the ovary, multiple evidences prove the key role of the immune cells in the ovarian physiology. Among the present cells we can find macrophages, T cells, dendritic cells, NK cells and mastocytes, that contribute to the regulation of the immune response, estrogen synthesis and oogenesis among other processes. Of these populations, macrophages are of special interest since, due to their ability to integrate information from the nervous, immune and endocrine systems together with their functional*

información de los sistemas nervioso, inmune y endocrino junto a su plasticidad funcional y capacidad de secreción de múltiples factores, están involucrados en prácticamente toda la fisiología del ovario. Otro concepto recientemente propuesto es el “inflammaging” que hace referencia a la inflamación asociada a la edad. Esta inflamación es sistémica, crónica y de bajo grado, asociada a un aumento de mediadores proinflamatorios, diferenciándose de la inflamación local aguda que caracteriza a las lesiones o infecciones por patógenos. Además de forma parte del proceso de envejecimiento normal, el inflammaging se lo ha asociado con diversas patologías. En el ovario, distintos reportes relacionan la respuesta inmune inflamatoria y la fibrosis características del envejecimiento ovárico al proceso de inflammaging. En esta actualización discutiremos estos nuevos conceptos del microambiente inmunológico reproductivo y el inflammaging y cómo repercuten en el envejecimiento ovárico afectando la calidad ovocitaria.

**Palabras clave:** Inmunomodulación, Microambiente inmune reproductivo, Inflammaging, Envejecimiento ovárico, Calidad ovocitaria.

*plasticity and ability to secrete multiple factors, results in them being involved in practically all ovarian physiology.*

*Another concept that has recently been proposed is the Inflammaging, which refers to the inflammation associated to aging. This inflammation is systemic, chronic and low-grade associated with an increase in proinflammatory mediators, different from the local acute inflammation due to lesions and infections. Besides being part of the normal aging process, the inflammaging has been associated with different pathologies. In the ovaries, several reports relate the inflammatory response and fibrosis characteristic of ovarian aging with inflammaging.*

*In this work, we discuss these new concepts of reproductive immune microenvironment and inflammaging, and how they impact on ovarian aging as well as in oocyte quality.*

**Key words:** Immunomodulation, Reproductive immune microenvironment, Inflammaging, Ovarian aging, Oocyte quality.

## Una nueva mirada integrada del Microambiente Inmunológico Reproductivo

El abordaje del estudio compartimentalizado del útero y ovario ha permitido comprender la salud reproductiva, pero carece de una visión holística de la respuesta inmune en los órganos y tejidos reproductivos. Recientemente, se ha propuesto el concepto de “*Microambiente Inmunológico Reproductivo*” (RIM, por sus siglas en inglés), el cual resume características comunes y las funciones básicas del microambiente tisular en el que residen las células inmunes, incluido el espacio intersticial de los testículos, el estroma ovárico y el endometrio<sup>(1)</sup>.

El establecimiento del concepto de RIM no solo se centra en la descripción completa de la respuesta inmune en los tejidos reproductivos, sino también proporciona una perspectiva macroscópica que permite una comprensión más profunda de su impacto en el sistema reproductivo.

En este artículo, realizaremos una actualización de la información asociada al microambiente inmunológico ovárico y cómo cambia durante el envejecimiento afectando la calidad ovocitaria.

### Microambiente inmunológico asociado al ovario

El ovario es un órgano que tiene como principal función la de generar, almacenar, desarrollar y liberar los oocitos, formados durante la vida fetal, como gametas competentes para ser fecundadas y permitir el desarrollo embrionario (función gametogénica). Es, además, el principal portador de las células secretoras de hormonas femeninas generando un ambiente propicio para la implantación y desarrollo del cigoto (función endócrina)<sup>(2)</sup>.

Durante mucho tiempo, la investigación

en la biología ovárica se ha centrado en cómo se forma el folículo, la unidad funcional del ovario; pero recientemente evidencias científicas indican la relevancia de la respuesta inmunológica en la modulación de la función ovárica abriendo una nueva frontera en investigación<sup>(2)</sup>. Comprender cómo operan estos mecanismos complejos en el ovario, permitirá entender procesos fisiológicos asociados a la disminución de la calidad ovocitaria y al envejecimiento ovárico.

En ese sentido, resulta clave estudiar la interacción entre las distintas poblaciones celulares y las células inmunes de origen hematopoyético. El ovario se divide en una zona cortical que comprende al estroma ovárico (formado por tejido conectivo laxo, fibroblastos y precursores de células tecales, folículos en distintos estadios de maduración, atrésicos y cuerpos lúteos) y la zona medular que se encuentra muy vascularizada e inervada y contiene células de tipo muscular y tejido conectivo laxo<sup>(2)</sup>. En este contexto, pueden encontrarse células del sistema inmune residentes y aquellas que serán reclutadas desde los vasos hacia los folículos.

Las células inmunes juegan un papel clave en la fisiología ovárica contribuyendo a través de múltiples funciones, aportando a la ovogénesis, la síntesis de estrógenos y la presentación de antígenos<sup>(2,3)</sup>.

Ya hace casi 3 décadas que se propuso que el proceso de ovulación se asocia a una respuesta inflamatoria, dado que los folículos ovulatorios tienen muchas características similares a las del tejido inflamado<sup>(4)</sup>. A lo largo de estos años, fue creciendo el número de evidencias sobre el rol central que cumplen las células inmunes no solo en la generación de esta respuesta fisiológica inflamatoria asociada a la ovulación, sino también en la regulación de la misma<sup>(5)</sup>.

A su vez, el fluido folicular no solo representa el microambiente del ovocito, sino que se asocia a la calidad del mismo<sup>(6)</sup>. Por lo tanto, la caracterización de células inmunes recuperadas de los fluidos foliculares de pacientes que responden a la estimulación ovárica constituye un abordaje muy representativo de los cambios del microambiente ovárico asociados a distintas patologías y al envejecimiento.

Al respecto, las células inmunes presentes en el ovario son mayoritariamente macrófagos, neutrófilos y linfocitos T dispersos por el estroma ovárico quiescente. En menor frecuencia, se encuentran células *natural killer* (NK) y mastocitos<sup>(2,7)</sup>.

En este contexto, los macrófagos, en su papel de “centinelas” residentes, integran información proveniente de los sistemas nervioso, inmune y endócrino, respondiendo rápidamente a dichos estímulos, modificando sus funciones y secreción de citoquinas<sup>(8,9)</sup>. Dada la relevancia de los mismos, describiremos su contribución a la función ovárica a lo largo del trabajo.

A esta población de células inmunes se suman los mastocitos, localizados en el hilio del ovario y representando la principal fuente de histamina ovárica, un mediador importante en el proceso de desarrollo del folículo y en la ovulación<sup>(7)</sup>.

Con respecto a las células NK, la subpoblación descrita es la caracterizada por la expresión del marcador CD56 y la falta de expresión CD16 (CD56+CD16-) la cual presenta funciones pro angiogénicas, principalmente a través de la producción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)<sup>(10)</sup>.

En cuanto a las células dendríticas (CD), algunos trabajos reportan su presencia en los fluidos foliculares<sup>(11-13)</sup>. Aunque se necesitan más evidencias y estudios funcionales para conocer el rol que cumplen allí, su

maduración se correlaciona positivamente con la respuesta ovárica a gonadotropinas, lo que sugiere que están relacionadas con la ovulación<sup>(11)</sup>.

Por otra parte, los linfocitos T corresponden a otra población inmune relevante en el ovario. Particularmente los linfocitos T regulatorios (Tregs) CD4+Foxp3+ controlan la actividad de los linfocitos T activados para prevenir la regresión lútea prematura<sup>(2)</sup>. Asimismo, se ha demostrado en casos de insuficiencia ovárica prematura la importancia de este grupo celular para mejorar la secreción de hormonas ováricas y también contribuir al desarrollo normal de los folículos<sup>(14,15)</sup>.

### **Relevancia de los macrófagos en el microambiente ovárico**

Los macrófagos (MA) son las células inmunes mayoritarias en el ovario y desempeñan múltiples funciones asociadas al crecimiento del folículo, ovulación, atresia, formación y regresión del cuerpo lúteo<sup>(16,17)</sup>.

En otras palabras, la función ovárica depende de las diversas actividades de los MA, incluida la fagocitosis durante la atresia y la luteólisis, la disolución de la matriz y la remodelación del tejido durante la ovulación y en la formación del cuerpo lúteo<sup>(18,19)</sup>. Un punto clave se centra en la capacidad de los MA de secretar factores de crecimiento y citoquinas durante el crecimiento folicular. En ese sentido, la función paracrina a través de la producción de citoquinas y factores de crecimiento, como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), VEGF y el factor de crecimiento transformante (TGF)  $\alpha$  y  $\beta$  participan en la regulación de los folículos primordiales<sup>(20)</sup>. Estos factores de crecimiento también son producidos por

otras células del ovario, como las células de la granulosa y las células de la teca, justamente, es por ello que la relevancia de los MA ha sido relegada durante mucho tiempo<sup>(20)</sup>.

Sin embargo, los MA son células de linaje hematopoyético especializados en producir un abanico de mediadores en altas concentraciones, a diferencia del resto de las subpoblaciones celulares presentes en el ovario.

Sumado a su capacidad de producir diversos mediadores, los MA también presentan la capacidad de producir y secretar vesículas extracelulares (VEs)<sup>(21)</sup>. Las VEs son vesículas de tamaño nanométrico con una bicapa lipídica y representan un medio de comunicación intercelular ya que transportan proteínas, lípidos o ARN específicos. Dado que el contenido depende de cada célula y a su vez cambia según el contexto fisiológico o patológico, presentan diferente bioinformación y ejercen diversas funciones en la homeostasis del tejido<sup>(22)</sup>.

Dada la gran capacidad de producir distintos mediadores según el contexto, los MA presentan una gran plasticidad dando origen a subpoblaciones con funciones características como aquellos que participan en las respuestas inmunes de defensa, los reparadores tisulares asociados a los procesos de cicatrización y los que regulan la respuesta inmune<sup>(9)</sup>. Más aún, estos perfiles se funden entre sí para dar origen a poblaciones con características intermedias<sup>(9)</sup>. Los más estudiados en el contexto ovárico refiere a los denominados M1 como activados en perfil inflamatorio y los M2 como activados en perfil anti inflamatorio o regulador<sup>(23,6)</sup>.

Resultados obtenidos en modelos murinos revelaron que los MA ováricos tienen un perfil similar a los MA inflamatorios

(denominados M1, caracterizados por la expresión de CD11c+), mientras que los MA anti inflamatorios (denominados M2, caracterizados por la expresión de CD206+) están involucrados en la foliculogénesis<sup>(24,25)</sup>.

### Relevancia de los macrófagos en la foliculogénesis

Las mujeres nacen con un número finito de folículos primordiales. Estos folículos se conservan en estado latente y se consumen progresivamente con el avance de la edad<sup>(26)</sup>. Aunque la fecundidad femenina alcanza su punto máximo aproximadamente a los 25 años, sorprendentemente, la disminución de la misma comienza a los 30 años. Durante este período, el número de folículos cae desde 130.000 a los 25 años a sólo 30.000 a la edad de 35 años y el agotamiento de los folículos ocurre en la menopausia (~51 años de edad) cuando quedan menos de 1000 folículos<sup>(27)</sup>. (*Ver detalle de la foliculogénesis en el recuadro 1*)

Durante mucho tiempo, se ha aceptado que la activación de los folículos primordiales es independiente de las gonadotropinas y que la transición de primordial a primario está regulada principalmente por factores regulatorios presentes en el entorno circundante<sup>(28)</sup>. Hasta ahora, no está claro por qué sólo una pequeña cantidad de folículos primordiales son reclutados en el folículo en crecimiento mientras que la mayoría de los folículos permanecen inactivos durante décadas.

La activación de los folículos primordiales no es aleatoria; más bien, requiere los esfuerzos coordinados de factores de crecimiento y citoquinas que actúan de manera autocrina o paracrina. En ese sentido, recientemente, el grupo de Xiao et al. demostró un aumento gradual en el

reclutamiento selectivo de MA en cada folículo en cada ciclo menstrual<sup>(29)</sup>.

En el modelo murino, determinaron que la infiltración local de MA inflamatorios media la activación del folículo primordial circundante. Básicamente, los MA activados en un perfil M1 activan los folículos, mientras que los diferenciados a un perfil anti-inflamatorio o M2 mantienen a los folículos primordiales en un estado latente. Además, al explorar la regulación diferencial de la activación del folículo primordial, evidenciaron que los MA producen distintas VEs, de acuerdo a su perfil de diferenciación, que modulan el microambiente ovárico<sup>(29)</sup>.

### **La respuesta inflamatoria fisiológica asociada a la ovulación**

Durante la ovulación, el aumento de la hormona luteinizante (LH) viene acompañado de una afluencia de leucocitos en el ovario preovulatorio promoviendo la llegada de MA y la respuesta inflamatoria. Los eventos secuenciales durante la ovulación están restringidos espacialmente al microambiente inflamatorio específico dentro del folículo o compartimentos intersticiales circundantes, lo que permite la expulsión exitosa del complejo cúmulo-ovocito del folículo roto<sup>(30)</sup>.

En ese sentido, los MA de tipo M1 contribuyen con la producción de citoquinas inflamatorias, como la IL-1 $\beta$  y el TNF $\alpha$ , permitiendo la ruptura del folículo y la liberación del ovocito maduro<sup>(31)</sup>. Es interesante destacar que esta respuesta inflamatoria asociada a la ovulación es estéril, ósea que no depende de la presencia de microorganismos.

Más aún, el TNF- $\alpha$  secretado por MA ováricos y por las células de la granulosa-lútea también contribuye con la síntesis de progesterona<sup>(32)</sup>. Sin embargo, los

experimentos realizados en el modelo animal murino han demostrado que un alto nivel de TNF- $\alpha$  puede reducir el número de folículos primarios u ovocitos al inducir apoptosis celular<sup>(33)</sup>.

De lo expuesto, se desprende que la desregulación de la respuesta inmune en el ovario afecta negativamente la ovulación, lo que conduce a una disfunción ovárica e infertilidad<sup>(34)</sup>. En ese sentido, patologías ováricas, incluido el síndrome de ovario poliquístico y la endometriosis, a menudo se asocian con niveles más altos de citoquinas inflamatorias foliculares y séricas, lo que sugiere la presencia de inflamación de bajo grado<sup>(35)</sup>.

Estudios realizados en ratones transgénicos, que permiten selectivamente depletar in vivo a los MA activados en un perfil inflamatorio, resultaron en el aumento de atresia, indicando la relevancia de los mismos al momento de la ovulación<sup>(36)</sup>.

De este modo, el proceso ovulatorio, que ocurre en los folículos maduros, sería similar a una herida y asociado con una respuesta inflamatoria que termina con la ruptura de la pared folicular y expulsión del ovocito.

### **Microambiente inmunológico en ovarios envejecidos: “inflammaging”**

Recientemente ha comenzado a estudiarse cómo se modula la respuesta inflamatoria durante el envejecimiento y cómo varían las poblaciones de células inmunes y sus perfiles inmunológicos, impactando en el microambiente ovárico. En los últimos años se ha propuesto el concepto de “*inflammaging*” para representar la inflamación asociada a la edad, la cual es sistémica, crónica y de bajo grado asociada con un aumento de mediadores proinflamatorios, distinta a la inflamación aguda que caracteriza a las lesiones o patógenos<sup>(37-39)</sup>.

Durante este proceso de envejecimiento, las células presentan un metabolismo activo pero alterado, asociado a cambios en la expresión de mediadores. De este modo, secretan una gran variedad de citoquinas proinflamatorias, quimioquinas y metaloproteasas de matriz extracelular. Estos mediadores median la comunicación de células con el microambiente circundante y facilitan el acceso de las células inmunes<sup>(40)</sup>.

El “*inflammaging*” o envejecimiento inflamatorio, no es sólo un sello distintivo del proceso de envejecimiento normal, sino también se lo ha asociado con diversas patologías relacionadas con la edad donde, de acuerdo con estudios previos, se demostró el aumento de factores proinflamatorios<sup>(41)</sup>. En ese sentido, el grupo de la Dra. Duncan estudió mujeres entre 27,7-44,8 años de edad e identificó un perfil de citoquinas particular en el fluido folicular asociado al envejecimiento. La producción de este perfil característico (IL-3, IL-7, IL-15, TGFβ1, TGFβ3 y MIP-1) aumentó con la edad cronológica y a su vez se correlacionó inversamente con los niveles de hormona antimülleriana<sup>(6)</sup>.

A su vez, la inflamación también juega un papel fundamental en la fibrosis. Por ejemplo, las principales citoquinas proinflamatorias como la IL-1β, IL-6 y TNF-α tienen funciones profibróticas y esto lleva a la remodelación tisular y vascular que caracteriza al ovario envejecido<sup>(42)</sup>. Cabe aclarar que la “fibroinflamación” debida al aumento de citoquinas inflamatorias no solo se asocia al envejecimiento ovárico, sino que es una característica del envejecimiento de los tejidos en general. Asimismo, se ha propuesto que el perfil de citoquinas fibroinflamatorias detectadas en el fluido folicular puede tener valor predictivo para los tratamientos de repro-

ducción asistida<sup>(6)</sup>. En conjunto, el ovario envejecido representa un cambio drástico del entorno tisular junto con niveles significativamente bajos de estrógeno y un número muy reducido de folículos.

Especialmente en el ovario no solo se ha reportado un aumento de fibroinflamación, sino también la presencia de células gigantes llamadas macrófagos espumosos (ME) o “*foamy*” debido a su apariencia, ya que poseen el citoplasma colmado de gotas lipídicas<sup>(20,43)</sup>. Durante la fase lútea, los fagocitos profesionales se encargan de sacar de circulación las células lúteas dañadas y células foliculares apoptóticas. Este proceso es fundamental para la homeostasis tisular, pero cuando estos mecanismos fallan, por ejemplo en ovarios envejecidos, se asocia al aumento de la frecuencia de ME que acompañan a la fibrosis ovárica<sup>(43)</sup>.

Profundizando en cómo los MA se diferencian a ME, se evidencia una desregulación en el equilibrio entre la afluencia y la salida de partículas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) del suero<sup>(44)</sup>. A su vez, el factor de transcripción PPARγ (del inglés *Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ*) interviene en el control del metabolismo, en procesos inflamatorios y en la función endotelial. Así, PPARγ regula la expresión del receptor eliminador de LDL y del transportador de membrana ABCA1 que lleva al flujo de colesterol del interior celular<sup>(44)</sup>.

Uno de los posibles mecanismos de formación de los ME es la fagocitosis crónica de cuerpos apoptóticos. Recientemente se ha demostrado, en un modelo murino, que la fagocitosis de perlas de látex (simulando cuerpos apoptóticos) y de lípidos endógenos (derivados de las membranas de las células muertas) durante tiempos prolongados y en contexto inflamatorio,

permanecen intracelularmente como sustancias no digeribles, generando ME<sup>(45)</sup>. Es por ello que la acumulación de lípidos en los MA en un perfil inflamatorio se asocia a procesos crónicos. Más aún, los ME secretan citoquinas proinflamatorias (IL-1 $\alpha$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ ), generando un circuito de retroalimentación positiva de la respuesta inflamatoria y su cronicidad. Por lo tanto, la esferocitosis se presentaría como un arma de doble filo ya que, si bien es crucial para la homeostasis del tejido y la resolución de la inflamación, cuando se encuentra exacerbada perpetúa la acumulación de sustancias que pueden contribuir a una condición patológica. (Ver Figura 1)

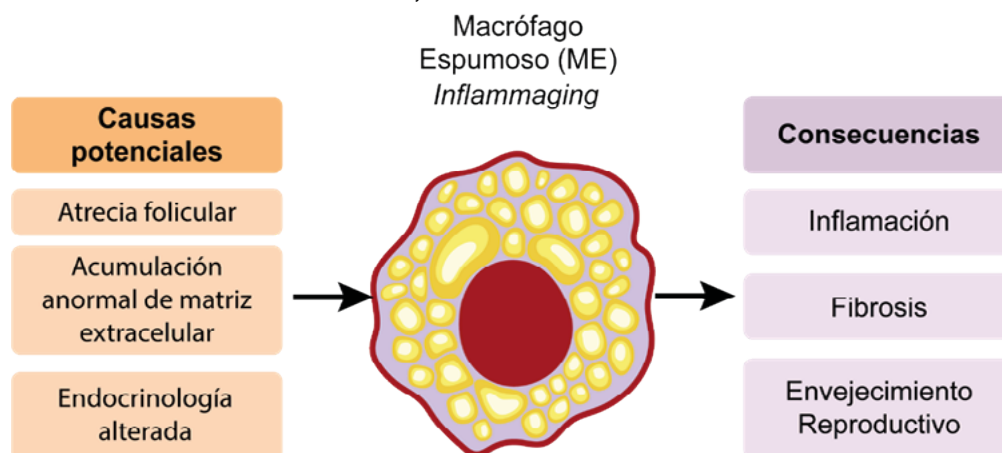
### Potencial relevancia de los macrófagos espumosos en el envejecimiento ovárico.

De lo expuesto se desprende que la terapia antiinflamatoria puede ser una opción para revertir los efectos secundarios de la enfermedad crónica. En ese sentido, recientemente se ha reportado que la inyección de VEs derivadas de macrófagos antiinflamatorios por vía intravenosa en ratones de edad avanzada genera una

recuperación de las funciones ováricas con aumento de la fertilidad y mejora la calidad de los ovocitos<sup>(29)</sup>. Además, se observó una transición de la función ovárica acompañada de disminución de la inflamación asociada a una menor expresión de citoquinas proinflamatorias<sup>(29)</sup>.

Finalmente, evidencias recientes indican en el modelo murino que los MA residentes ováricos son distintos a aquellos que derivan de monocitos reclutados desde la sangre. En términos generales, los MA residentes en los tejidos pueden proliferar localmente perpetuándose a lo largo del tiempo<sup>(46)</sup>. Se propone un agotamiento de los MA locales residentes ováricos con la edad reproductiva avanzada, que serían reemplazados por MA derivados de monocitos que se reclutan desde la sangre<sup>(47)</sup>. Sin embargo, cuando los monocitos llegan al ovario y se encuentran con un microambiente inflamatorio, repueblan el ovario diferenciándose en un perfil M1 y, así, favoreciendo aún más la respuesta inflamatoria<sup>(31)</sup>. Se necesitarán estudios futuros que examinen el impacto del cambio de la población de MA teniendo en cuenta diferentes aspectos de sus funciones y

**Figura 1.** Potencial relevancia de los macrófagos espumosos en el envejecimiento ovárico y sus consecuencias.



metabolismo a fin de esclarecer la relevancia de este cambio en el envejecimiento ovárico.

### **Maternidad diferida y envejecimiento ovárico: situación actual en Argentina**

El ovario sufre importantes cambios a medida que avanza la edad de la mujer, que especialmente afectan a la foliculogénesis. Luego de repetidos ciclos de reclutamiento folicular, atresia u ovulación, la tasa de atresia folicular aumenta y la de crecimiento disminuye, lo que caracteriza a un ovario envejecido, hasta que se agota la reserva folicular, señalando el inicio de la senescencia reproductiva. Por lo tanto, a medida que avanza la edad de la mujer, la cantidad y calidad de sus ovocitos disminuye, contribuyendo de esta manera a una mayor incidencia de la infertilidad.

Según las proyecciones mundiales de las Naciones Unidas (2019) el nivel de fecundidad en Argentina se encuentra por debajo del promedio mundial, pero por encima del promedio regional. Particularmente en el quinquenio 2015-2020, la Tasa Global de Fecundidad fue de 2,5 hijos por mujer a nivel mundial; de 2,0 para Latinoamérica y el Caribe y de 1,9 para América del Sur<sup>(48,49)</sup>. En el 2020 y, de acuerdo a los pronósticos, la tasa global de fecundidad se ubicó en 2,18 en el país y en 1,2 en CABA<sup>(48)</sup>.

El fenómeno de postergación de la maternidad en nuestro país viene ocurriendo hace varios años: mientras en 2001 el 32% de los nacimientos eran de mujeres de 30 años o más; en 2015, casi la mitad de las mujeres residentes de la CABA tuvo hijos entre los 30 y los 39 años<sup>(50)</sup>. Además, en 2015 ya se observaba una duplicación en la cantidad de mujeres que tuvieron hijos entre los 40 y 44 años<sup>(50)</sup>.

Otro punto relevante es la edad en que

la mujer consulta por la preservación de la fertilidad. Según distintos informes, la edad promedio de criopreservación de ovocitos se presenta entre los 36 y los 38 años, es decir, que, cuando se informa del procedimiento, la mujer ya presenta un deterioro en la calidad ovárica disminuyendo las chances de lograr un embarazo a término<sup>(51,52)</sup>.

Con la sanción de la ley 26.862 se garantizó el acceso integral a los procedimientos y técnicas médico-asistenciales de reproducción médicamente asistida para toda persona mayor de edad, lo cual devino en un incremento significativo de la cantidad de ciclos de fertilización llevados a cabo en el país. Según datos de la Red LARA, mientras que hace 20 años la mitad de las mujeres que accedía a estas técnicas era menor de 34 años, en 2018 casi un 75% de las mujeres tenía más de 35, con una considerable proporción de mayores de 40 años<sup>(52)</sup>.

En ese sentido, la disminución en el número y calidad de los ovocitos que presenta la mujer al momento de ser evaluada es determinante para lograr un embarazo a término. La tasa de recién nacidos vivos con óvulos propios ronda el 40% en mujeres de 30 años, a partir de los 35 años disminuye llegando al 17,6% de éxito a los 40 años y solo un 7% después de los 43 años<sup>(52)</sup>. Esta disminución no se observa al utilizar ovocitos donados procedentes de mujeres jóvenes. Al respecto, la probabilidad de obtener embriones euploides disminuye con la edad<sup>(53)</sup>. Así es como el envejecimiento ovárico se traduce en una menor tasa de éxito en cada ciclo de fertilización y en una mayor probabilidad de embriones con anomalías cromosómicas que aumentan las tasas de abortos espontáneos o fallas en implantación, por lo que el embarazo nunca ocurre o no llega a término.

Por otra parte, los estudios que evalúan modelos de costo-efectividad sobre este procedimiento establecen que la edad ideal para criopreservar ovocitos con buenas chances de fertilidad futura es hasta los 35 años. Por encima de ese límite, las posibilidades de éxito se vuelven progresivamente menores y, por lo tanto, se cuestiona la real validez de su indicación. En un estudio<sup>(54)</sup>, buscaron determinar qué estrategia era superior en cuanto a costo-efectividad: que una mujer criopreserve sus ovocitos a los 35 años y los utilice luego para hacer una fertilización in vitro (FIV, técnica de alta complejidad) a los 40 años; que una mujer se realice una FIV con ovocitos propios a los 40 años (no criopreservados); que espere un embarazo espontáneo sin ningún tratamiento a esa edad. El estudio concluyó que la primera estrategia sería costo-efectiva comparada con la realización de una FIV con ovocitos propios a los 40 años.

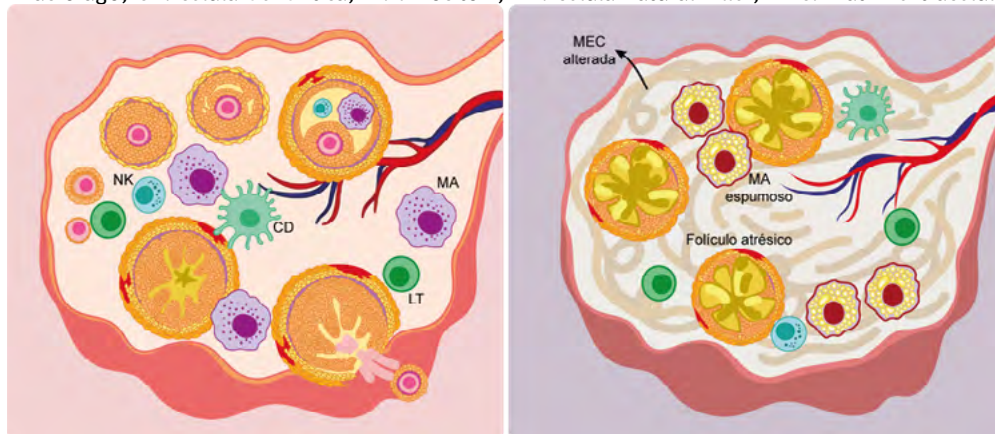
La utilización de ovocitos propios criopreservados antes de los 35 años por tener mayores tasas de éxito, disminuiría la cantidad de ciclos de estimulación y transferencia de embriones que se realizan

en una mujer de edad materna avanzada, lo cual implica un costo en la salud pública por el incremento de la tasa de aneuploidías resultante en una mayor falla de la implantación y/o abortos espontáneos<sup>(52,53)</sup>. Además, la tasa de embarazo múltiple asociada a la transferencia de más de un embrión, estrategia utilizada en el 56,1% de los ciclos registrados por la Red LARA en 2018<sup>(52)</sup>, aumenta aún más el riesgo de complicaciones en el embarazo y presenta un impacto económico tanto en la salud pública como en la privada.

### Conclusiones y perspectivas futuras

El ovario no solo es un órgano heterogéneo en cuanto a las poblaciones celulares que presenta, sino también lo es en el tiempo, a lo largo de la vida de la mujer. Hasta ahora, el mecanismo de disminución de la reserva ovárica no se ha comprendido con exactitud. Sin embargo, las evidencias experimentales hasta el momento indican que el envejecimiento ovárico se acompaña de un aumento en la respuesta fibroinflamatoria sostenida en el tiempo y a la disminución de la calidad de ovocitos (ver esquema de conclusiones gráficas en la Figura 2).

**Figura 2.** Modelo propuesto. Comparación ovario joven (izquierda) y envejecido (derecha). MA: macrófago; CD: célula dendrítica; LT: linfocito T; NK: célula natural killer; MEC: matriz extracelular.



Algunas de las evidencias son: (1) los análisis transcriptómicos muestran un aumento en la expresión de genes asociados con la respuesta inflamatoria en los ovarios y en los folículos recuperados de mujeres con edad reproductiva avanzada en comparación con mujeres jóvenes<sup>(47,55)</sup>; (2) los ovarios de la edad reproductiva avanzada exhiben depósitos excesivos de colágeno en el estroma ovárico que son consistentes con fibrosis tisular<sup>(43)</sup>; (3) cortes histológicos de ovarios de ratonas envejecidas reveló la presencia de macrófagos “foamy”

o espumosos, que se pueden asociar a procesos inflamatorios crónicos<sup>(43,56)</sup>.

Aún se requieren futuros estudios para profundizar en el impacto de la respuesta inmune en la función de las células del estroma ovárico y el desarrollo folicular en ovarios envejecidos. El conocimiento de la generación de la inflamación crónica asociada al envejecimiento, así como en otras patologías ováricas, como el síndrome de ovario poliquístico y fallas ováricas prematuras, avanza en un nuevo enfoque terapéutico inmunomodulador.

### REFERENCIAS

1. Lv H, Zhao G, Jiang P, Wang H, Wang Z, Yao S, et al. Deciphering the endometrial niche of human thin endometrium at single-cell resolution. *Proc Natl Acad Sci*. 2022 Feb 22;119(8):e2115912119.
2. Yang X, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Ovarian and endometrial immunity during the ovarian cycle. *J Reprod Immunol*. 2019 Jun;133:7–14.
3. Kinnear HM, Tomaszewski CE, Chang FL, Moravek MB, Xu M, Padmanabhan V, et al. The ovarian stroma as a new frontier. *Reproduction*. 2020 Sep;160(3):R25–39.
4. Finn CA. IMPLANTATION, MENSTRUATION AND INFLAMMATION. *Biol Rev*. 1986 Nov;61(4):313–28.
5. Yang F, Zheng Q, Jin L. Dynamic Function and Composition Changes of Immune Cells During Normal and Pathological Pregnancy at the Maternal-Fetal Interface. Vol. 10, *Frontiers in Immunology*. 2019. p. 1–15.
6. Machlin JH, Barishansky SJ, Kelsh J, Larmore MJ, Johnson BW, Pritchard MT, et al. Fibroinflammatory Signatures Increase with Age in the Human Ovary and Follicular Fluid. *Int J Mol Sci*. 2021 May 5;22(9):4902.
7. Morikawa H, Okamura H, Takenaka A, Morimoto K, Nishimura T. Histamine concentration and its effect on ovarian contractility in humans. *Int J Fertil*. 1981;26(4):283–6.
8. Nagamatsu T, Schust DJ. The immunomodulatory roles of macrophages at the maternal-fetal interface. *Reprod Sci Thousand Oaks Calif*. 2010 Mar;17(3):209–18.
9. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*. 2008 Dec;8(12):958–69.
10. Fainaru O, Amsalem H, Bentov Y, Esfandiari N, Casper RF. CD56brightCD16– natural killer cells accumulate in the ovarian follicular fluid of patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2010 Oct;94(5):1918–21.
11. Fainaru O, Hantisteanu S, Rotfarb N, Michaeli M, Hallak M, Ellenbogen A. CD11c+HLADR+ dendritic cells are present in human ovarian follicular fluid, and their maturity correlates with serum estradiol levels in response to gonadotropins. *Fertil Steril*. 2012 Mar;97(3):702–6.
12. Shi SL, Peng ZF, Yao GD, Jin HX, Song WY, Yang HY, et al. Expression of CD11c+HLA-DR+dendritic cells and related cytokines in the follicular fluid might be re-

- lated to pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(11):15133–7.
13. Zhang T, Tian F, Huo R, Tang A, Zeng Y, Duan Y. Detection of dendritic cells and related cytokines in follicular fluid of patients with polycystic ovary syndrome. *Am J Reprod Immunol.* 2017 Sep;78(3):e12717.
  14. Liu D, Tu X, Huang C, Yuan Y, Wang Y, Liu X, et al. Adoptive transfers of CD4 + CD25 + Tregs partially alleviate mouse premature ovarian insufficiency. *Mol Reprod Dev.* 2020 Aug;87(8):887–98.
  15. Gao H, Gao L, Wang W. Advances in the cellular immunological pathogenesis and related treatment of primary ovarian insufficiency. *Am J Reprod Immunol.* 2022 Nov;88(5):e13622.
  16. Tingen CM, Kiesewetter SE, Jozefik J, Thomas C, Tagler D, Shea L, et al. A macrophage and theca cell-enriched stromal cell population influences growth and survival of immature murine follicles in vitro. *REPRODUCTION.* 2011 Jun;141(6):809–20.
  17. Turner EC, Hughes J, Wilson H, Clay M, Mylonas KJ, Kipari T, et al. Conditional ablation of macrophages disrupts ovarian vasculature. *REPRODUCTION.* 2011 Jun;141(6):821–31.
  18. Rodgers RJ, Lavranos TC, Van Wezel IL, Irving-Rodgers HF. Development of the ovarian follicular epithelium. *Mol Cell Endocrinol.* 1999 May;151(1–2):171–9.
  19. Rodgers RJ, Irving-Rodgers HF. Formation of the Ovarian Follicular Antrum and Follicular Fluid1. *Biol Reprod.* 2010 Jun 1;82(6):1021–9.
  20. Foley KG, Pritchard MT, Duncan FE. Macrophage-derived multinucleated giant cells: hallmarks of the aging ovary. *Reproduction.* 2021 Feb;161(2):V5–9.
  21. Machtinger R, Laurent LC, Baccarelli AA. Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation. *Hum Reprod Update.* 2015 Dec 9;dmv055.
  22. Paul N, Sultana Z, Fisher JJ, Maiti K, Smith R. Extracellular vesicles- crucial players in human pregnancy. *Placenta.* 2023 Sep;140:30–8.
  23. Erlebacher A. Immunology of the maternal-fetal interface. *Annu Rev Immunol.* 2013 Jan;31:387–411.
  24. Hesketh M, Sahin KB, West ZE, Murray RZ. Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. *Int J Mol Sci.* 2017 Jul 17;18(7):1545.
  25. Pepe G, Locati M, Della Torre S, Mornata F, Cignarella A, Maggi A, et al. The estrogen-macrophage interplay in the homeostasis of the female reproductive tract. *Hum Reprod Update.* 2018 Nov 1;24(6):652–72.
  26. McGee EA, Hsueh AJW. Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles\*. *Endocr Rev.* 2000 Apr 1;21(2):200–14.
  27. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian Aging: Mechanisms and Clinical Consequences. *Endocr Rev.* 2009 Aug 1;30(5):465–93.
  28. Ebrahimi M, Akbari Asbagh F. The role of autoimmunity in premature ovarian failure. *Iran J Reprod Med.* 2015 Aug;13(8):461–72.
  29. Xiao Y, Peng X, Peng Y, Zhang C, Liu W, Yang W, et al. Macrophage-derived extracellular vesicles regulate follicular activation and improve ovarian function in old mice by modulating local environment. *Clin Transl Med.* 2022 Oct;12(10):e1071.
  30. Rehman A, Pacher P, Haskó G. Role of Macrophages in the Endocrine System. *Trends Endocrinol Metab.* 2021 Apr;32(4):238–56.
  31. Zhang Z, Huang L, Brayboy L. Macrophages: an indispensable piece of ovarian health. *Biol Reprod.* 2021 Mar 11;104(3):527–38.
  32. Selvaraj SK, Giri RK, Perelman N, Johnson C, Malik P, Kalra VK. Mechanism of monocyte activation and expression

- of proinflammatory cytochemokines by placenta growth factor. *Blood*. 2003 Aug 15;102(4):1515–24.
33. Marcinkiewicz JL. The involvement of tumor necrosis factor- alpha TNF as an intraovarian regulator of oocyte apoptosis in the neonatal rat. *Front Biosci*. 2002;7(4):d1997-2005.
  34. Wang J, Yin T, Liu S. Dysregulation of immune response in PCOS organ system. *Front Immunol*. 2023 May 5;14:1169232.
  35. Wu R, Fujii S, Ryan NK, Van Der Hoek KH, Jasper MJ, Sini I, et al. Ovarian leukocyte distribution and cytokine/chemokine mRNA expression in follicular fluid cells in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2007 Feb;22(2):527–35.
  36. Ono Y, Nagai M, Yoshino O, Koga K, Nawaz A, Hatta H, et al. CD11c+ M1-like macrophages (MΦs) but not CD206+ M2-like MΦ are involved in folliculogenesis in mice ovary. *Sci Rep*. 2018 May 25;8(1):8171.
  37. Lim MA, Lee J, Park JS, Jhun JY, Moon YM, Cho ML, et al. Increased Th17 differentiation in aged mice is significantly associated with high IL-1β level and low IL-2 expression. *Exp Gerontol*. 2014 Jan;49:55–62.
  38. Schmitt V, Rink L, Uciechowski P. The Th17/Treg balance is disturbed during aging. *Exp Gerontol*. 2013 Dec;48(12):1379–86.
  39. Jagger A, Shimojima Y, Goronzy JJ, Weyand CM. Regulatory T Cells and the Immune Aging Process: A Mini-Review. *Gerontology*. 2014;60(2):130–7.
  40. Huang Y, Hu C, Ye H, Luo R, Fu X, Li X, et al. Inflamm-Aging: A New Mechanism Affecting Premature Ovarian Insufficiency. *J Immunol Res*. 2019 Jan 2;2019:1–7.
  41. Chung HY, Kim DH, Lee EK, Chung KW, Chung S, Lee B, et al. Redefining Chronic Inflammation in Aging and Age-Related Diseases: Proposal of the Senoinflammation Concept. *Aging Dis*. 2019;10(2):367.
  42. Zhou Y, Ding X, Wei H. Reproductive immune microenvironment. *J Reprod Immunol*. 2022 Aug;152:103654.
  43. Briley SM, Jasti S, McCracken JM, Hornick JE, Fegley B, Pritchard MT, et al. Reproductive age-associated fibrosis in the stroma of the mammalian ovary. *Reproduction*. 2016 Sep;245–60.
  44. Ford HZ, Byrne HM, Myerscough MR. A lipid-structured model for macrophage populations in atherosclerotic plaques. *J Theor Biol*. 2019 Oct;479:48–63.
  45. Ford HZ, Zeboudj L, Purvis GSD, Ten Bokum A, Zarebski AE, Bull JA, et al. Efferycytosis perpetuates substance accumulation inside macrophage populations. *Proc R Soc B Biol Sci*. 2019 Jun 12;286(1904):20190730.
  46. Ginhoux F, Guillemins M. Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis. *Immunity*. 2016 Mar;44(3):439–49.
  47. Zhang Z, Schlamp F, Huang L, Clark H, Brayboy L. Inflammaging is associated with shifted macrophage ontogeny and polarization in the aging mouse ovary. *Reproduction*. 2020 Mar;159(3):325–37.
  48. Indicadores Básicos Argentina 2022 [Internet]. Ministerio de Salud, Organización Panamericana de la Salud; Available from: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/indicadores\\_basicos\\_2022\\_final.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/indicadores_basicos_2022_final.pdf)
  49. Organización Panamericana de la Salud. Core-Indicators Portal, Region of the Americas [Internet]. Available from: <https://opendata.paho.org/en/core-indicators>
  50. Tasa de fecundidad según grupo de edad (por mil mujeres), tasa global de fecundidad, tasa bruta de reproducción y edad promedio de las madres según año de inscripción. Ciudad de Buenos Aires. Años 1990/2022 [Internet]. Dirección general de estadísticas y censos GCBA; Available from: [https://www.estadisticaciudad.gob.ar/eyc/wp-content/uploads/2021/05/PB3\\_14.xlsx](https://www.estadisticaciudad.gob.ar/eyc/wp-content/uploads/2021/05/PB3_14.xlsx)

51. Glujovsky D, Pesce R, Miguens M, Sueldo CE, Lattes K, Ciapponi A. How effective are the non-conventional ovarian stimulation protocols in ART? A systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2020 Dec;37(12):2913–28.
52. Zegers-Hochschild F, Crosby JA, Musri C, Souza MDCBD, Martínez AG, Silva AA, et al. Celebrating 30 years of ART in Latin America; and the 2018 report. *JBRA Assist Reprod* [Internet]. 2021 [cited 2023 Nov 30]; Available from: [https://www.jbra.com.br/trab/pub/download\\_trabalho.php?file-Source=/var/www/vhosts/jbra.com.br/media/trab/arg\\_2997&fileName=16%20-%201856%20-%20Celebrating.pdf&id\\_trabalho=1228](https://www.jbra.com.br/trab/pub/download_trabalho.php?file-Source=/var/www/vhosts/jbra.com.br/media/trab/arg_2997&fileName=16%20-%201856%20-%20Celebrating.pdf&id_trabalho=1228)
53. Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril.* 2014 Mar;101(3):656-663. e1.
54. Van Loendersloot LL, Moolenaar LM, Mol BWJ, Repping S, Van Der Veen F, Goddijn M. Expanding reproductive lifespan: a cost-effectiveness study on oocyte freezing. *Hum Reprod.* 2011 Nov 1;26(11):3054–60.
55. Duncan FE, Jasti S, Paulson A, Kelsh JM, Fegley B, Gerton JL. Age-associated dysregulation of protein metabolism in the mammalian oocyte. *Aging Cell.* 2017 Dec;16(6):1381–93.
56. Hernandez-Pando R, Bornstein QL, Aguilar Leon D, Orozco EH, Madrigal VK, Martinez Cordero E. Inflammatory cytokine production by immunological and foreign body multinucleated giant cells. *Immunology.* 2000 Jul;100(3):352–8.