



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y
FARMACÉUTICAS**



Asignatura:

Aspectos Inmunológicos del Proceso Reproductivo

Año: 2020

“ Anticuerpos antiespermáticos”

Alumnos:

Bassetto Aneley

Belluccini Luisina

Brun María Florencia

Garbuglia María Paula

Lamagni Ernesto

Marchetti Antonella

Mout Pablo Santiago

Sabas Sibila

Docente: Adriana Brufman

Introducción:

Desde hace más de 60 años comenzó el estudio de AAE con modelos experimentales. Landsteiner demostró la naturaleza antigénica de los espermatozoides mediante la inmunización activa en cobayos provocando orquitis autoinmune. El objeto primitivo del estudio fue buscar una vacuna anticonceptiva, es decir un control inmunológico de la fertilidad, pero luego se comprobó que los AAE juegan un papel causal o al menos son coadyuvantes de ciertos casos de infertilidad conyugal.

Antígenos seminales:

El espermatozoide maduro posee antígenos órgano específicos y tejido específicos que no están presentes en la vida fetal cuando se produce el reconocimiento de los antígenos propios; durante este período crítico clones linfocitarios capaces de reaccionar contra determinantes antigénicos propios son suprimidos; los linfocitos supresores presentes durante la embriogénesis desarrollan **tolerancia inmunológica** para los determinantes propios. Este proceso previene el desarrollo de la autoinmunidad, pero la espermatogénesis se inicia en la pubertad, razón por la que los antígenos espermáticos no están incluidos en este proceso de reconocimiento. Como consecuencia de esta secuencia de eventos, la espermatogénesis pos puberal debe ocurrir en un ambiente de secuestro inmunológico ya que de lo contrario los antígenos del espermatozoide maduro son capaces de desencadenar respuesta celular y humoral.

Landsteiner y Metchnikoff, trabajando independientemente a fines del año 1899, fueron los primeros en descubrir la antigenicidad del espermatozoide en especies heterólogas, poco tiempo después otros autores determinaron que también se comportan como autoantígenos.

La auto antigenicidad del espermatozoide humano fue descubierta cuando Rümke y Hellinga en 1959 hallaron que los sueros de ciertos hombres y mujeres infértiles contenían anticuerpos antiespermáticos y que éstos reconocían diferentes sitios antigénicos en la cabeza, cola y punta de la cola de la célula espermática. La asociación de los anticuerpos antiespermáticos con otras enfermedades autoinmunes en hombres infértiles (ej: enfermedad autoinmune tiroidea) se relaciona con la predisposición individual de desarrollar patología autoinmune y no con reacciones cruzadas, es decir, que los antígenos del espermatozoide son **autoantígenos órgano específicos**.

Numerosos son los componentes que contribuyen a la antigenicidad del semen, tanto del espermatozoide como del plasma seminal:

1. Antígenos del plasma seminal:

- a. Procedentes del plasma sanguíneo: Alb, Tf, C3, IgGs.
- b. Procedentes de glándulas anexas: lactoferrina de vesículas seminales.
- c. Antígenos ABH solubles en plasma seminal de pacientes secretores (aquellas personas que portan el gen Se, el 80% de la población caucásica).

2. Antígenos de los espermatozoides: El espermatozoide presenta antígenos en la periferia e integrados en la membrana, estos pueden ser detectados en diferentes regiones como el acrosoma, el segmento intermedio, la cola y la punta de la cola; algunos de estos antígenos pueden encontrarse en otras células del cuerpo y otros son específicos del espermatozoide.

- a. Antígenos de grupos sanguíneos: ABH, P, I, MN y T.
- b. Antígenos del sistema HLA no-clásico: HLA-G.
- c. Antígeno H-Y: antígeno específicamente masculino por ser producido por un gen presente en el cromosoma Y.
- d. Antígenos específicos profundos de las enzimas acrosomales (hialuronidasa, acrosina), de la estructura nuclear (protamina, DNA polimerasa), isoenzimas de la LDH (LDH-X, C4).
- e. Antígenos superficiales y de revestimiento (COATING).

Los espermatozoides son células haploides, expresan un solo antígeno en la membrana (un individuo con fenotipo AO tiene dos tipos de espermatozoides, el que lleva el Ag. A y el que lleva el Ag. H).

Los espermatozoides presentan antígenos que aparecen en las diferentes etapas del desarrollo. Estos antígenos, que están presentes desde el origen del espermatozoide y que se adhieren después de la eyaculación, están involucrados en el proceso de maduración y fecundación, además actúan como protectores ante el sistema inmune del tracto reproductor femenino. La capacitación de los espermatozoides es un proceso importante para la fecundación; en esta ocurre el desprendimiento de antígenos del acrosoma, organización de los antígenos de superficie y es activada la movilidad del espermatozoide. Estos cambios que se derivan de la capacitación pueden activar la respuesta de los anticuerpos.

La membrana del espermatozoide está compuesta por un conjunto de proteínas, polisacáridos y lípidos, los cuales están involucrados en distintos mecanismos previos a la fertilización, incluido el reconocimiento del espermatozoide al oocito, además puede ser estimulantes de la producción de AAE. Entre estos antígenos se encuentran la acrosina, un glucopéptido de 15 kDa que reacciona con anticuerpos inmovilizadores, un polipéptido de 14 kDa que está presente en individuos clasificados como infértiles idiopáticos, proteínas nucleares autoantígenos (NASP) de unión a las histonas que afectan la fecundación, antígenos H-Y, hialuronidasa, protaminas, ADN polimerasas, antígeno específico de fertilización (FA-1) y la secuencia de péptido dodecámero (YLP12) involucrados en la unión del espermatozoide y el oocito, proteínas de choque térmico (HSP70, HSP90)

presentes en la superficie del espermatozoide y fenotipos de antígenos leucocitarios humanos A28 y Bw22 (influencia genética en la respuesta inmune).

La identificación y caracterización de los antígenos espermáticos humanos capaces de inducir la producción de anticuerpos antiespermáticos resulta de interés para entender los mecanismos involucrados en las fallas reproductivas mediadas por anticuerpos, para el desarrollo y aplicación de ensayos bioquímicos que otorguen resultados clínicamente reales y en la identificación de marcadores espermáticos asociados con la capacidad fertilizante del espermatozoide.

Proteínas target para anticuerpo anti espermáticos en hombres azoospermicos.

La azoospermia se clasifica en Obstructiva y No obstructiva, se trata de una de las principales causas de infertilidad por lo cual se decidió estudiar la presencia de proteínas blanco para los anticuerpos antiespermáticos. En el 88% de los pacientes con azoospermia obstructiva se encontraron anticuerpos antiespermáticos, pero se realizó el siguiente estudio en Irán para buscar las proteínas target. El mismo fue realizado en 27 pacientes sanos utilizados como controles, y 27 pacientes con azoospermia obstructiva siendo los casos en estudio.

El proteoma de los espermias fue separado utilizando electroforesis bidimensional, luego transferido a una membrana de polivinilo sensibilizada con el suero de un grupo de hombres con azoospermia obstructiva. Luego fue comparado con las membranas sensibilizadas con el suero de los pacientes normales. También se utilizó la técnica de espectrometría de masas: MALDI TOF para analizar los diferentes resultados del dot blot y finalmente el análisis fue confirmado por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

No solo los anticuerpos antiespermáticos están presentes en parejas infértiles, sino también en algunas fértiles. Por lo tanto no todos son causantes de infertilidad. Es por esto, que el estudio en búsqueda de las proteínas blanco puede explicar los roles y mecanismos de acción de estos anticuerpos en la infertilidad.

En este estudio una de las proteínas blanco documentadas es la TPI (triosa fosfato isomerasa). Esta proteína se expresa en casi todos los tejidos y es una enzima importante que convierte la DHAP (dihidroxiacetona fosfato) en G3P (gliceraldehído 3 fosfato). También se encuentra en la membrana acrosomal de los espermatozoides y tiene un rol fundamental en la reacción acrosomal y la unión del espermatozoide a la zona pelúcida. La importancia de esta enzima radica también en su rol en el metabolismo de la glucosa, ya que la glucosa es necesaria para la capacitación espermática.

La segunda proteína blanco documentada es la TEK 2. Esta proteína pertenece a un grupo de proteínas citoesqueléticas presentes en cilia, flagelos, cuerpos basales y centriolos. Las proteínas TEK están asociadas a la movilidad espermática. TEK 2

es una proteína esperma específica que se expresa en los microtúbulos de los flagelos. Estudios previos revelan que los niveles de TEK 2 están asociados a la movilidad espermática, la tasa de fertilidad, la calidad del embrión y la tasa de embarazo. Si bien no se han encontrado anticuerpos anti TEK 2 en hombres infértiles, en este estudio queda demostrado que pueden ser utilizados como marcadores de la azoospermia obstructiva y considerando la importancia de dicha proteína pueden afectar la fertilidad.

Causas que favorecen la producción de anticuerpos antiespermáticos.

En el hombre

Los mecanismos de producción de los anticuerpos antiespermáticos (AAE) se conocen sólo parcialmente, aunque se sabe que algunas patologías se asocian a mayor incidencia de autoinmunidad. Los antígenos espermáticos específicos que no se encuentran en otro tipo de célula, aparecen a partir de la pubertad, mucho después de que el proceso de reconocimiento y adquisición de tolerancia ante los antígenos propios se haya establecido.

En el testículo, el epitelio germinal queda aislado por las uniones intercelulares entre las células de Sertoli. Estas barreras delimitan un compartimiento luminal aislado. La separación entre el sistema reproductivo y el resto del organismo persiste a lo largo de casi todo el trayecto seminal, constituyendo lo que se llama barrera hematotesticular.

En condiciones normales la barrera hematotesticular impide el contacto de los antígenos espermáticos con la circulación general y las células inmunocompetentes del resto del organismo. Además, las células de Sertoli por su capacidad fagocítica intervienen en la degradación del espermatozoide, los restos citoplasmáticos de las espermátidas y el cuerpo residual, que serían estimulantes de la respuesta inmune; las células de Sertoli presentan antígenos testiculares al sistema inmune induciendo una tolerancia local probablemente por activación de las células supresoras.

La formación de AAE debe considerarse como una reacción inmunológica adquirida contra antígenos extraños.

Se han postulado distintas hipótesis para explicar la patogenia de la pérdida de tolerancia inmunológica, como (a) disminución de la cantidad o actividad de las células T supresoras en el tracto genital, (b) disminución o ausencia de factores que reclutan células supresoras en los fluidos del tracto genital masculino, (c) alteración de la antigenicidad espermática que resulta en una supresión inadecuada de la respuesta inmune, y finalmente (d) lesión de la vía seminal que sobrepasa los mecanismos inmunorreguladores y vierte al organismo cantidades importantes de antígenos espermáticos.

Cuando la barrera hematotesticular se rompe, los AAE de clase IgA e IgG llegan hasta los testículos y se unen a los espermatozoides porque reconocen a los antígenos en su superficie.

Además, también es posible que los espermatozoides sean considerados como invasores en el cuerpo de algunas mujeres y aparezcan los anticuerpos antiespermatozoides después del coito.

A continuación, se enumeran las situaciones clínicas en donde se encuentran altos niveles de AAE, algunas de las cuales son causadas por la **rotura de la barrera hematotesticular**, lo cual es más frecuente:

- Orquitis infecciosa
- Orquitis alérgica.
- Vasectomía y obstrucciones de la vía seminal.
- Biopsia testicular, tratamientos testiculares.
- Criptorquidia.
- Tumores testiculares.
- Infecciones de la vía seminal (prostatitis, epididimitis).
- Torsión de cordón espermático.
- Varicocele.
- Prácticas homosexuales.

En la mujer

El espermatozoide y el plasma seminal constituyen un pool de antígenos que estarán en contacto con el sistema inmunocompetente femenino de manera masiva y repetida durante los contactos sexuales, sin que esto induzca en la mayoría de los casos fenómenos de sensibilización, incluso cuando los espermatozoides son extraños para el sistema inmune de la mujer. La fecundación estaría comprometida si fueran aloinmunizadas con AAE.

En la mujer, a pesar de que la mucosa está mucho más expuesta, no existe una barrera inmunológica en el tracto reproductivo femenino como en el caso del hombre.

La ruta natural de migración espermática recorre el canal cervical, la cavidad uterina, y las trompas, llegando hasta la cavidad peritoneal.

El cérvix, por su localización en el aparato genital y por sus funciones específicas en el transporte y depósito de espermatozoides, constituye el sitio más importante desde el punto de vista inmunológico y es considerado el más apropiado para la inmunización antiespermática y la sensibilización de los espermatozoides. Sólo la mucosa cervical es capaz de desarrollar inmunidad de mucosas, debido a que ésta posee estructuras glandulares capaces de inducir una respuesta local a través de la IgA secretoria.

El plasma seminal contiene componentes que se unen transitoriamente a la superficie del espermatozoide ocultando antígenos hasta que el gameto está en las

cercanías del ovocito. Sin embargo, la capacidad inmunosupresora del plasma seminal no es distinta en los pacientes cuyas esposas producen AAE en comparación con mujeres sin AAE.

Las causas desencadenantes de reacción inmunológica anti espermática a nivel cervical podrían estar dadas por:

- 1) modificaciones de la gameta masculina las que provocarían un aumento de su inmunogenicidad
- 2) reducción del poder inmunosupresor del plasma seminal
- 3) fenómenos adyuvantes del tracto reproductor femenino (inflamación del tracto genital, Infecciones ginecológicas, microtraumatismos, etc). Los factores que alteran la pared del sistema genital femenino podrían dar lugar a un contacto entre los espermatozoides y el sistema inmunocompetente. En particular, en la enfermedad inflamatoria pélvica.

Una vez iniciada la respuesta inmunológica las relaciones sexuales posteriores actúan como un reestímulo. Esta causa puede estar asociada a un defecto en la presencia o respuesta de los factores inmunosupresores. Las mujeres en las que se dan altos títulos de anticuerpos antiespermáticos presentan una inhibición significativa de la fecundación in vitro.

Por lo anterior se logra deducir que la formación de AAE en hombres y mujeres puede estar asociada a una perturbación en los mecanismos inmunorreguladores normales o a un traumatismo físico, químico o infección iatrogénica de la barrera hematotesticular u obstrucción de los conductos del sistema reproductivo masculino, permitiendo el reconocimiento de los espermatozoides como antígenos extraños y desencadenando una respuesta inmune humoral con la subsecuente producción de AAE por los linfocitos B y una respuesta celular por la activación de linfocitos T, liberación de citocinas y activación del complemento. La aparición de estos anticuerpos como respuesta autoinmune en los hombres y aloinmune en las mujeres está asociada a infertilidad idiopática en humanos. La frecuencia de AAE en mujeres fértiles es del 1,4%, debido a la presencia de factores inmunosupresores en el fluido vaginal, mientras que en las mujeres infértiles es del 2%. En contraste, la incidencia de AAE es menor al 2% en suero, espermatozoides y moco cervical en hombres y mujeres fértiles, y en infértiles está en un rango del 5 a 25%.

Anticuerpos antiespermáticos: mecanismo de acción y efectos biológicos.

Los AAE son de naturaleza policlonal y pueden dirigirse contra varios antígenos simultáneamente. La capacidad para impedir la fertilidad dependerá de las acciones biológicas que resulten afectadas en los gametos masculinos como consecuencia del bloqueo de epítopes espermáticos por los AAE.

Lugar de acción.	Efecto biológico
Membrana plasmática	Aglutinación/citotoxicidad
Membrana acrosómica	Activación/ bloqueo reacción acrosómica
Moco cervical	Movimiento vibratorio/atrapamiento
Tracto genital	Fagocitosis
Zona pelúcida	Bloqueo unión/penetración
Membrana ovocitaria	Bloqueo fusión
Citoplasma ovocito	Inhibición formación pronúcleo
Embrión	Retraso en el desarrollo.

La activación de complemento por los AAE resulta en lesión inmune al espermatozoide en el tracto femenino.

Los AAE pueden alterar la movilidad espermática por mecanismos de citotoxicidad directa o mediada por complemento. Provocan además aglutinaciones que pueden secuestrar un porcentaje importante de la población espermática móvil. A pesar de ello, la presencia de AAE puede pasar desapercibida, ya que ni las aglutinaciones aparecen siempre, ni la motilidad tiene porqué estar alterada. Los AAE pueden interferir el transporte espermático en el canal cervical y en otras zonas del tracto genital femenino. Existe abundante información que asocia la existencia de AAE con un TPC (test postcoital) negativo a pesar de una buena movilidad espermática. Es característica la adopción de una movilidad estática, vibratoria, en los espermatozoides atrapados en el moco cervical, probablemente debido a la unión entre la región Fc de los Ac con la matriz del moco. Aunque se ha sugerido que la clase de Ig y el patrón de unión preferente al espermatozoide tiene especial importancia en los efectos de los AAE sobre la movilidad, lo cierto es que cuando la proporción de espermatozoides afectados es superior al 60%, tales diferencias tienden a desaparecer. En todo caso, sí parece que cuando la especificidad regional se limita a la punta del flagelo, los AAE no interfieren con la capacidad de penetrar el moco cervical. En el tracto genital femenino, los espermatozoides con AAE adheridos son más vulnerables a la fagocitosis.

Los AAE pueden unirse a ciertos antígenos que poseen funciones específicas en el proceso de fecundación, como la unión a determinantes específicos de la zona pelúcida y la fusión del espermatozoide con la membrana plasmática del ovocito. Como consecuencia, la fecundación puede verse reducida en algunos casos. Los resultados procedentes de series clínicas de FIV así parecen indicarlo, aunque la mayoría de los estudios están limitados por el escaso número de pacientes analizados y por la interferencia de otros factores seminales.

La capacitación es un proceso dinámico de modificación y reestructuración de las membranas espermáticas y que culmina en la reacción acrosómica. Los AAE fijados a la superficie alteran este proceso. Según algunos estudios pueden impedir la reacción acrosómica, si bien otros autores encuentran que los AAE la activan precozmente o no ejercen sobre ella efectos apreciables.

En general, existe una tendencia a considerar que los AAE unidos a la cola pueden afectar la penetración en moco cervical, mientras que los AAE unidos a la cabeza pueden afectar principalmente la reacción acrosómica y la interacción espermatozoide- ovocito.

En cuanto a la espermatogénesis, pacientes con títulos más elevados de AAE, suelen presentar con más frecuencia bajos recuentos espermáticos, a menudo asociados a otras alteraciones de la motilidad o la maduración espermática. Los AAE podrán interactuar con antígenos comunes a las células de espermatogénesis inmaduras que se encuentran en los túbulos seminíferos, condicionando una producción espermática inadecuada.

Cuando solicitar estudios inmunológicos.

Puesto que ni las anomalías en el seminograma ni la aparición de aglutinaciones constituyen indicios específicos de la existencia de AAE, la indicación de realizar un estudio inmunológico en el semen dependerá de la relevancia que los resultados tengan en el manejo y el tratamiento de la pareja estéril.

Indicaciones para el estudio inmunológico de hombres infértiles

- Torsión de cordón
- Criptorquidia
- Vasectomía y /o obstrucción de la vía seminal
- Biopsias, traumatismos testiculares
- Orquitis alérgica
- Tumores testiculares
- Infecciones de la vía seminal (prostatitis, epididimitis)
- Varicocele

Indicaciones para el estudio inmunológico cuando en el análisis de semen se detecta

- Teratozoospermia
- Astenozoospermia
- Oligospermia
- OAT
- Azoospermia
- Autoaglutinaciones espermáticas espontáneas en el espermograma
- Aumento de células redondas
- Swim-up insatisfactorios
- Test de sobrevivencia alterado

- Reacción acrosomal alterada
- Fracasos en IUI, FIV, ICSI
- Test post-coitales ó Test moco-semen patológico anormales
- Existencia de otras patologías autoinmunes
- Esterilidad sin causa aparente (ESCA)

La evaluación de la presencia AAE es recomendable en los casos en los que no se encuentra alteración en la mujer y además el espermograma no presenta cambios importantes, teniendo en cuenta que en algunos casos no será el único factor causal de la infertilidad.

En la actualidad, únicamente está indicado el estudio de AAE en mujeres cuando se observa un test postcoital (TPC) patológico en presencia de semen con buena movilidad en el que no se observen AAE. Para el diagnóstico se puede estudiar suero o moco cervical licuado por sonicación o bromelina, y la técnica de IBT indirecto.

Técnicas para el estudio de AAE - Métodos diagnósticos

El diagnóstico de infertilidad inmunológica está basado en el análisis de laboratorio dada la ausencia de sintomatología específica. Los anticuerpos antiespermáticos están presentes en aproximadamente 10% de los hombres infértiles, pero la relación entre los resultados de laboratorio y la situación clínica de infertilidad aún no está totalmente clara.

La demostración de fertilidad probada en algunos sujetos con anticuerpos antiespermáticos ha creado dudas en la literatura respecto de su importancia como causa de infertilidad.

El rastreo de anticuerpos antiespermáticos con el propósito de determinar su presencia como probable factor de infertilidad en el hombre, debe ser llevado a cabo en el semen, ya que las inmunoglobulinas que afectan la reproducción son aquellas que están sobre la superficie espermática.

Las técnicas clásicas basadas en el estudio del suero de los pacientes, han sido parcialmente desplazadas durante los últimos años por otras que detectan inmunoglobulinas en la superficie del espermatozoide.

En la mujer sería efectivo el estudio de los AAE en el moco cervical.

Las técnicas en suero pueden tener utilidad complementaria en el diagnóstico o bien en caso de que no se puedan estudiar espermatozoides o moco cervical.

Técnicas clásicas:

Son técnicas de aglutinación o inmovilización en los que se enfrenta la muestra (moco cervical, plasma seminal o suero) con espermatozoides tratados en distintas condiciones, según la muestra a analizar.

- Aglutinación en gelatina (Kibrick-1952)
- Test de aglutinación en capilares (Shulman-1971)
- Test de Franklin-Duke (F-D Test-1964)
- TAT (Tray Agglutination Test-1974)
- SIT (Sperm Immobilitation Test)
- Test de Kremer (Contacto moco-semen)

Todos estos métodos necesitan pools de semen con parámetros óptimos de concentración, motilidad y morfología.

-Test de aglutinación en gelatina (GAT) descrito por Kibrick S. en 1952, fue el primer método puesto a punto para la determinación macroscópica de los anticuerpos espermoaglutinantes. Es un test de floculación en gelatina que usa espermatozoides móviles como antígeno, la positividad esta dada por la aparición de un floculado de dimensiones variables según la intensidad de la reacción antígeno-anticuerpo.

-Test de aglutinación en bandeja (TAT) propuesto en 1974 por Friberg J., es un método de microaglutinación que como antígeno utiliza espermatozoides móviles obtenidos por migración espontánea en medio de cultivo. La valoración se efectúa con un microscopio invertido determinando el número de espermatozoides aglutinados en relación al número de espermatozoides libres, es posible determinar el tipo de aglutinación (cabeza-cabeza; cola-cola; etc).

-El test de inmovilización (SIT) desarrollado en 1968 por Isojima y col., estudia los anticuerpos complemento dependientes para lo cual utiliza espermatozoides de dador y una fuente exógena de complemento, determinando el porcentaje de inmovilización obtenido con respecto al de una muestra control negativa.

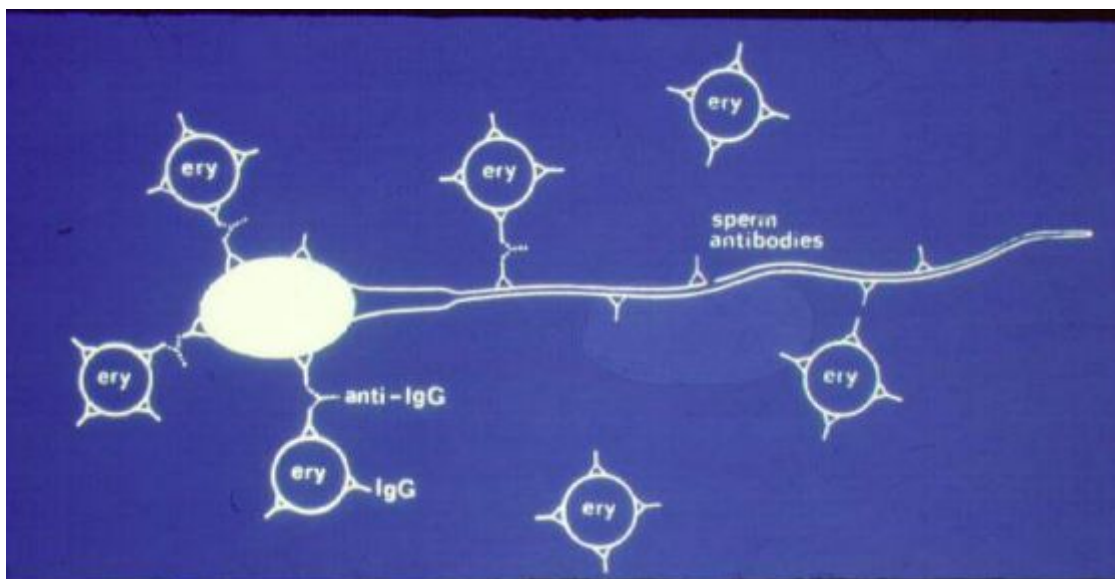
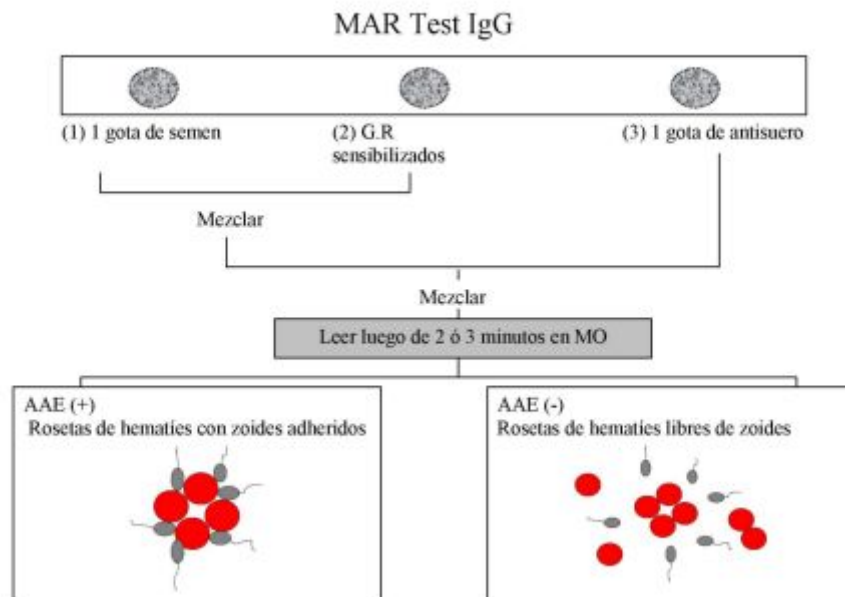
Nuevas técnicas:

Son técnicas de screening o métodos más sensibles o específicos.

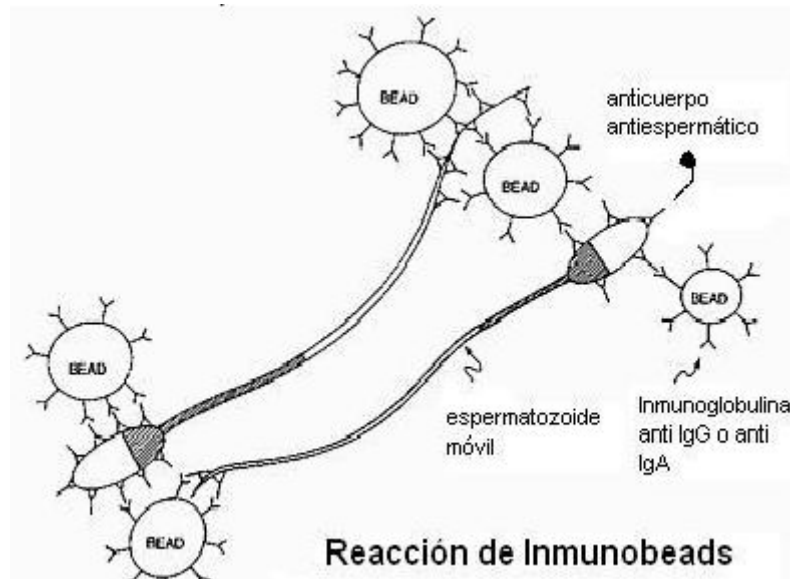
- MAR-Test (Mixed Antglobulin Reaction) -1973
- IBT (Immunobeads)
- Inmunofluorescencia
- Enzimoimmunoensayo
- Inmunoperoxidasa
- Radioimmunoensayo
- Citometría de flujo

El MAR test se basa en la incubación de hematíes (o partículas de látex) tratados con IgG y espermatozoides en cuya superficie se encuentran AAE tipo IgG. Al

añadir un exceso de inmunoglobulina específica anti-IgG se forman aglutinaciones mixtas que implican a los espermatozoides con AAE.



El método IBT utiliza microesferas de poliacrilamidas en las que se han fijado moléculas de anti-inmunoglobulinas específicas (anti-IgA, anti-IgG, anti-IgM) fijadas por su región Fc, y que se incuban con espermatozoides vivos libres de plasma seminal (para evitar el bloqueo de las Anti-Ig). Las inmunobeads se unen a los espermatozoides cuya superficie contiene Ig del tipo estudiado.



El IBT requiere más tiempo, es más laborioso y de mayor costo que el MAR test por lo que en los laboratorios clínicos el MAR test es el de elección como método de screening. El MAR test sólo permite identificar procesos en los que está involucrada la IgG la que está presente en casi todos los casos de sensibilización, pero resulta de interés conocer si la IgA está también comprometida y cual es la localización de éstas sobre la superficie espermática (cabeza, cola, punta de la cola), información que brinda el IBT y que permitirá definir el pronóstico sobre la fertilidad.

La limitación de los métodos directos está dada por la concentración y movilidad espermática (concentración $> 5 \times 10^6$ y grado (a+b) $> 40\%$), esta última indispensable ya que se requiere que la célula esté viva para garantizar que los anticuerpos detectados estén dirigidos hacia antígenos de superficie.

- ELISA Y RIA estas técnicas han sido desarrolladas en la búsqueda de objetivar los resultados; sin embargo ninguno de los métodos hasta ahora desarrollados ha sido expuesto a un número suficiente de pruebas clínicas y de laboratorio para ser usado de rutina y, una definitiva valoración de su potencial de aplicación será posible sólo después de una amplia serie de ensayos de correlación con los métodos clásicos antes mencionados. Ambos métodos utilizan antígeno en fase sólida representado por una alícuota de espermatozoides fijados. La limitación que encuentra este tipo de metodología reside en que sólo la utilización de la célula espermática viva permite reproducibilidad de los métodos para la valoración de los anticuerpos antiespermáticos y su correlación con la fertilidad.

La investigación de anticuerpos antiespermáticos en plasma seminal por métodos indirectos no refleja necesariamente los anticuerpos presentes en la superficie espermática.

Existe acuerdo en la bibliografía que el nivel de inmunoglobulinas presentes en semen corresponde al 1% del nivel sérico. Usando pruebas inmunológicas se ha observado que el 20% de los pacientes con inmunoglobulinas reactivas

antiespermáticas en suero no se correspondían con tests inmunológicos directos positivos. La respuesta local a IgA nos plantea el caso inverso donde solamente los tests en semen darán pruebas reactivas. De acuerdo a lo relatado las pruebas inmunológicas en suero no deben ser utilizadas como diagnósticas cuando se pretende determinar al factor inmunológico como causa de infertilidad.

Pruebas de interacción moco-semen in vitro:

Test de Kurzrock-Miller (PPE):

Evaluación cruzada con semen de donante y MC de donante. Se analiza cantidad y movilidad de espermatozoides.

Test de Kremer (CEMC): Movimientos de los espermatozoides (shaking).

Pruebas de interacción moco-semen in vivo:

Prueba de Simms-Hühner o Prueba postcoital (PPC): Influenciada por pH vaginal y composición del moco cervical.

Para el cual se toma una muestra de moco del canal cervical. Este fluido se analiza microscópicamente para evaluar su calidad, el número de espermatozoides presentes y su capacidad de movimiento en el moco. El test es positivo cuando se pueden ver espermatozoides nadando activamente y en línea recta a través del moco.

Para que la prueba sea significativa, el moco debe presentar características físicas adecuadas que se registran por un sistema de puntuación según OMS.

Tratamiento:

Una vez identificados los AAE como causantes de la infertilidad se emplean diversos protocolos terapéuticos que actúen sobre esta reacción. Los tratamientos propuestos para superar los efectos causados por lo AAE incluyen el uso del condón, la terapia inmunosupresora con corticosteroides, la transferencia intrafalopiana de gametos, el lavado de espermatozoides combinado con la inseminación intrauterina e inseminación artificial intrauterina.

El uso del condón como tratamiento reduce el contacto que tiene la mujer con los espermatozoides después del coito, con el propósito de disminuir la activación del sistema inmunitario en la mujer; sin embargo, la suspensión del condón después de un uso prolongado no asegura que se mejoren las tasas de fecundación en una persona con infertilidad inmunológica.

Por otro lado, la terapia inmunosupresora con corticosteroides se ha empleado para mejorar la fertilidad de las parejas que presentan AAE, disminuyendolos y aumentando la probabilidad del embarazo, sin embargo puede no tener efecto en pacientes con AAE unidos a los espermatozoides. La terapia presenta efectos adversos a largo plazo, entre los que se encuentran necrosis aséptica de la cadera, exacerbación de las úlceras duodenales y efectos cardiovasculares.

El lavado de los espermatozoides es otro método empleado para remover los AAE de la superficie del espermatozoide, sin embargo no resulta eficiente por la alta

afinidad que tienen los AAE con los antígenos espermáticos, además pueden causar pérdida irreversible de la movilidad del espermatozoide. Este método logra reducir la unión del espermatozoide con AAE, pero no mejora las tasas de embarazo.

La transferencia intrafalopiana de gametos (GIFT) e inseminación artificial intrauterina (IUI) son métodos empleados para tratar a pacientes con infertilidad asociada a AAE, sin embargo cuando más del 80% de la superficie total del espermatozoide está unida a IgA e IgG hay bajas tasas de fertilización in vitro. La IUI se ha empleado en pacientes con AAE en el moco cervical; el 15% de estos conciben un embarazo después de varios ciclos de este tratamiento. El tratamiento basado en la GIFT se ha empleado en parejas donde el hombre tiene más de 70% de AAE tipo IgG e IgA unidos a la superficie del esperma, sin embargo si estos están ubicados en la cabeza del espermatozoide impide la fertilización in vitro, diferente a lo que ocurre si están ubicados en la cola

Importancia de las concentraciones de citoquinas y otros factores inmunológicos en el semen de hombres sanos y fértiles.

El propósito del estudio fue establecer los valores de referencia normales para algunos factores inmunológicos presentes en semen para poder entender su significado fisiológico en la enfermedad y en las personas sanas. Se utilizó el semen de 83 pacientes sanos, fértiles y se determinaron las cantidades de los distintos isotipos de Inmunoglobulinas, quimioquinas, citoquinas y factores de crecimiento. También se buscaron polimorfonucleares para asociar sus valores a la inflamación para estudiar la asociación que tienen con la inflamación.

En todas las muestras se encontraron altos valores de IgG e IgA. También se encontraron altos valores de TGF B1, IL 7, IL 8, factor a1 derivado de las células estromales.

En menores concentraciones se hallaron : IL-1a and b, IL-5, IL-6, IL-13, IL-17, (MIP)-1b, n (IFN)-a, (CSF) (factor estimulante de colonias granulocíticas), MIP-1a, IL-2, IL-10, IL-12, TNF-a, IFN-y.

Altas concentraciones de algunas citoquinas en plasma seminal, por ejemplo (IL-1), IL-2, IL-6 y (TNF-a) factor de necrosis tumoral alfa, han sido asociados a mala calidad seminal y a infertilidad masculina. A su vez, cada vez hay mayor evidencia que muchas de las citoquinas mencionadas anteriormente pueden afectar de manera negativa la espermatogénesis y la esteroidogénesis.

El TGF (alfa y beta), factor de crecimiento transformante, de la familia de las citoquinas puede estar relacionado con el desarrollo de los testículos mamíferos, incluyendo las células de Leydig y los túbulos seminíferos. Altas concentraciones de TGF- α 1 en testículos se asocia a fibrosis de los túbulos seminíferos, teniendo como consecuencia la disminución de la espermatogénesis.

Las citoquinas y otros factores presentes en semen, también podrían afectar la inmunidad vaginal y la fertilidad femenina en los procesos de inseminación. Por ejemplo, algunas quimioquinas pueden ser parcialmente responsables de reclutar neutrófilos a la superficie epitelial del cervix, y macrófagos, células dendríticas y linfocitos a capas más internas. Estos factores tienen roles de defensa inmune. Otros estudios demostraron que TGF- β estimula a los factores estimulantes de colonias macrófágicas granulocíticas (GM-CSF) uterinas, lo que mejora la receptividad del embrión. Esto fue demostrado en estudios recientes realizados a parejas atravesando fertilización in vitro, las mujeres tuvieron una tasa mayor de embarazos cuando la relación sexual sin protección ocurre inmediatamente antes que la transferencia del embrión.

En este estudio realizado en Boston, USA por Joseph A. Politch, Lynne Tucker, Frederick P. Bowman y Deborah J. Anderson, fue demostrado por primera vez la presencia de quimiocina SDF-1 α , y de las citoquinas IL-5, IL-7, IL-13 and IL-17 en semen humano normal. Como se dijo anteriormente, tanto IgA como IgG están presentes, pero con predominio de IgG lo cual es inusual para una secreción mucosa.

Las concentraciones de IgA se correlacionan con los valores hallados de PMN lo que sugiere que estas inmunoglobulinas se encuentran altas en el tracto genital masculino en episodios de inflamación y/o infección.

En el caso de TGF- α 1 que se encuentra elevado notablemente, es producido en una forma latente que luego debe ser activada para cumplir su rol fisiológico. Esta activación puede ocurrir en el tracto genital femenino por el pH de la vagina, o enzimas o distintas secreciones vaginales. TGF- α 1 son reguladores de la respuesta inmune y se ha documentado su función inmunosupresora entonces puede contribuir a la tolerancia de antígenos seminales. Pero por otro lado, negativamente puede influir suprimiendo la respuesta inmune del tracto genital femenino predisponiendo a infecciones. En el caso de TGF- β se han estudiado sus efectos en el HIV-1 y la leucemia de células T viral tipo 1, por lo que altos niveles del mismo sugieren una influencia en estas infecciones.

En el caso de la IL-7, es una citoquina clasificada como un factor de crecimiento hematopoyético. Por lo tanto, sus altas concentraciones están asociadas al mantenimiento de las células T CD8 + en el tracto genital masculino, lo que juega un papel fundamental en la respuesta inmune.

Por primera vez en este estudio se demostró la presencia de SDF-1a el cual está relacionado con la colonización, supervivencia y proliferación de células germinales primordiales, es decir los progenitores de espermatozoides y oocitos. Es por esto que este factor puede cumplir un rol importante en el mantenimiento de la fertilidad masculina. Será de interés estudiar su presencia en pacientes azoospermicos y oligospermicos para terminar de descubrir su rol en la fertilidad.

Bibliografía.

- Restrepo B. y Cardona Maya W. “Anticuerpos antiespermatozoides y su asociación con la fertilidad”. Actas Urol Esp. 2013;37(9):571-578. <http://dx.doi.org/10.1016/j.acuro.2012.11.003>
- Bassas Arnau, L. (2004) “Inmunología e infertilidad. Anticuerpos contra gametos y gónadas en el varón y en la mujer”. Asebir. 9 (2). 32-33. <https://revista.asebir.com/inmunologia-e-infertilidad-anticuerpos-contra-gametos-y-gonadas-en-el-varon-y-en-la-mujer/>
- Levalle, Oscar y col. (2002) “Inmunología – Aspectos clínicos”. Andrología – Fisiopatología y Clínica. http://www.aulavirtual-exactas.dyndns.org/claroline/backends/download.php?url=L01vZHVsb19MQUJPUkFUT1JJT19ERUxfU0VNRU4vSW5tdW5vbG9naWFfZGVfbGFfcmlVwcm9kdWNjaW9uX0N1cmIfZXRfYXxfMTk5OV9CaWJsaW9ncmFmaWFfLTEtLnBkZg%3D%3D&cidReset=true&cidReq=EB_ENDOIV
- “Estudio inmunológico del semen”. Dra. Adriana Brufman.
- Mohammad-Sadegh Soltani Zangbar, Sara Keshtgar, Jaleh Zolghadri, Behrouz Gharesi-Fard. “Antisperm protein targets in azoospermia men”. J Hum Reprod Sci 2016;9:47-52.
- Politch J. A., Tucker L., Bowman F. P. and Anderson D. J. (2007) “Concentrations and significance of cytokines and other immunologic factors in semen of healthy fertile men”. Human Reproduction. 22 (11). 2928–2935. https://scholar.google.com/scholar_lookup?journal=...