



Anticuerpos antiespermáticos

Grupo 1-5

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

- Landsteiner (1899): Antigenicidad del espermatozoide en especies heterólogas.
- Rumke y Hellinga (1959): Auto antigenicidad del espermatozoide.

Observaron que sueros de ciertos hombres y mujeres infértiles contenían AAE y que estos reconocían distintos sitios antigénicos en la cabeza, cola y punta de la cola del espermatozoide.

ANTÍGENOS SEMINALES

Los estadios finales de la diferenciación de las células germinales testiculares ocurren en la pubertad. Por lo tanto el espermatozoide maduro posee antígenos que no están presentes en la vida fetal cuando se produce el reconocimiento de antígenos propios.

Tolerancia inmunológica

Por este motivo la espermatogénesis debe ocurrir en un ambiente de secuestro inmunológico, ya que de lo contrario los antígenos del espermatozoide maduro son capaces de desencadenar una respuesta celular y humoral.

ANTÍGENOS SEMINALES

Existen dos grupos de antígenos seminales en el tracto reproductor masculino:

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

- **Antígenos de los espermatozoides:**

Ubicados en la periferia e integrados en la membrana, los cuales pueden detectarse en distintas regiones como el acrosoma, el segmento intermedio, la cola y la punta de la cola.

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

ANTÍGENOS SEMINALES

Interés en la caracterización e identificación de los antígenos espermáticos:

- Entender los mecanismos involucrados en las fallas reproductivas mediadas por anticuerpos.
- Desarrollo y aplicación de ensayos bioquímicos que otorguen resultados clínicamente reales.
- Identificación de marcadores espermáticos asociados con la capacidad fertilizante del espermatozoide.

BÚSQUEDA DE PROTEÍNAS TARGETS PARA AAE EN HOMBRES CON AO

- Estudio realizado en Iran.
- **Controles**: 27 pacientes sanos.
- **Casos de estudio**: 27 pacientes con Azoospermia obstructiva (AO).

Proteínas targets documentadas:

- **Triosa fosfato isomerasa (TPI)**: enzima que convierte la DHAP en G3P.
 - Espermatozoide: Membrana acrosomal. Rol fundamental en la reacción acrosomal y la unión del espermatozoide a la zona pelúcida. También es importante en el metabolismo de la glucosa (necesaria para la capacitación espermática).

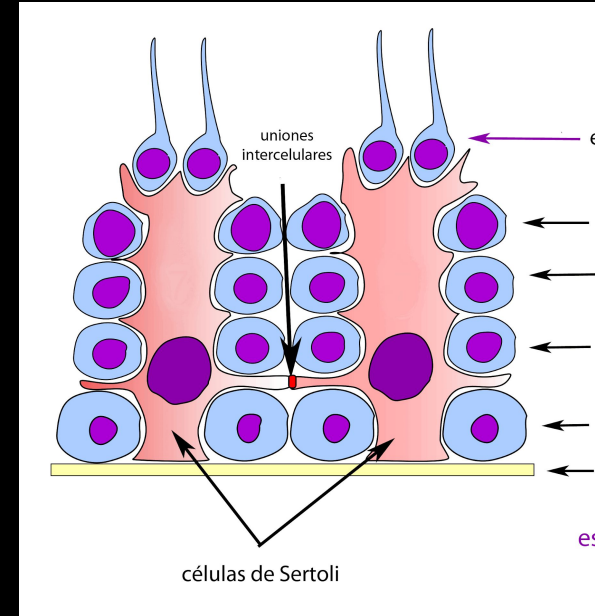
- **TEK 2:** Proteína del citoesqueleto presente en cilias, flagelos, cuerpos basales y centriolos.
 - Espermatozoide: Asociadas con su movilidad. Donde TEK 2 es una proteína espermática específica que se expresa en los microtúbulos de los flagelos.
 - Los niveles de TEK 2 están asociados a la movilidad 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 AAE EN EL HOMBRE

- Hipótesis para explicar la **pérdida de tolerancia inmunológica**:
 - Disminución de la cantidad o actividad de las **células T supresoras** en el tracto genital
 - Disminución de factores que reclutan células supresoras en los fluidos del tracto genital masculino
 - Alteración de la antigenicidad espermática → inadecuada de la respuesta inmune.
 - Lesión de la vía seminal que sobrepasa los mecanismos inmunorreguladores y vierte al organismo cantidades importantes de antígenos espermáticos.
- La barrera hematotesticular mediante las uniones intercelulares entre las células de Sertoli:
 - Aísla el epitelio germinal del resto del organismo a lo largo de casi todo el trayecto seminal
 - Impide el contacto de los antígenos espermáticos con la circulación general y las células inmunocompetentes del resto del organismo.
- Cuando la **barrera hematotesticular se rompe**, los AAE llegan hasta los testículos y se unen a los espermatozoides porque reconocen a los antígenos en su superficie.

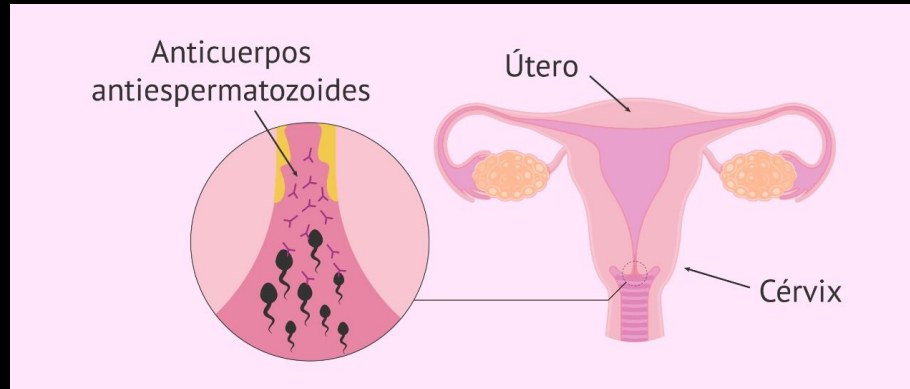
- **Situaciones clínicas** en donde se encuentran AAE, algunas de las cuales son causadas por la rotura de la barrera hematotesticular:

- Vasectomía → Causa más frecuente
- Obstrucciones de la vía seminal.
- Orquitis infecciosa o alérgica.
- Infecciones de la vía seminal (prostatitis, epididimitis).
- Criptorquidia.
- Tumores testiculares.
- Torsión de cordón espermático.
- Varicocele.
- Biopsia testicular, o tratamientos testiculares.



CAUSAS QUE FAVORECEN LA PRODUCCIÓN DE AAE 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.
- El cérvix, constituye el sitio más importante desde el punto de vista inmunológico ya que es donde se da la inmunización antiespermática y la sensibilización de los espermatozoides.
- Solo 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.



- Normalmente el plasma seminal contiene componentes que se unen a la superficie del espermatozoide ocultando antígenos hasta que el mismo esté en las cercanías del ovocito
- Las causas desencadenantes de reacción inmunológica antiespermática a nivel cervical podrían estar dadas por:
 - 1) Modificaciones de la gameta masculina
 - 2) Reducción del poder inmunosupresor del plasma seminal
 - 3) Factores que alteran la pared del sistema genital femenino, que dan lugar a un contacto entre los espermatozoides y el sistema inmunocompetente femenino.
 - Inflamación del tracto genital
 - Infecciones ginecológicas
 - Microtraumatismos
- Una vez iniciada la respuesta inmunológica las relaciones sexuales posteriores actúan como un reestimulo.

ANTICUERPOS ANTIESPERMÁTICOS: MECANISMOS DE ACCIÓN Y EFECTOS BIOLÓGICOS

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.

DENTRO DE LOS EFECTOS DE LOS AAE PODEMOS MENCIONAR

- Alteración la movilidad espermática → por mecanismos de citotoxicidad directa o mediada por complemento.
- Provocar aglutinaciones → que pueden secuestrar un porcentaje importante de la población espermática móvil.
- interferir en el transporte espermático en el canal cervical y en otras zonas del tracto genital femenino.
- 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 anticuerpos 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.
- **Fecundación** —→ puede verse reducida. Los AAE pueden unirse a ciertos antígenos que poseen funciones específicas en este proceso, como la unión a determinantes específicos de la zona pelúcida y la fusión del espermatozoide con la membrana plasmática del ovocito.

- **Capacitación** → es un proceso 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.
- **Espermatogénesis** → pacientes con títulos 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 interaccionar 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?

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 sobrevida 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)

¿CUANDO SOLICITAR ESTUDIOS INMUNOLÓGICOS?

- 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.

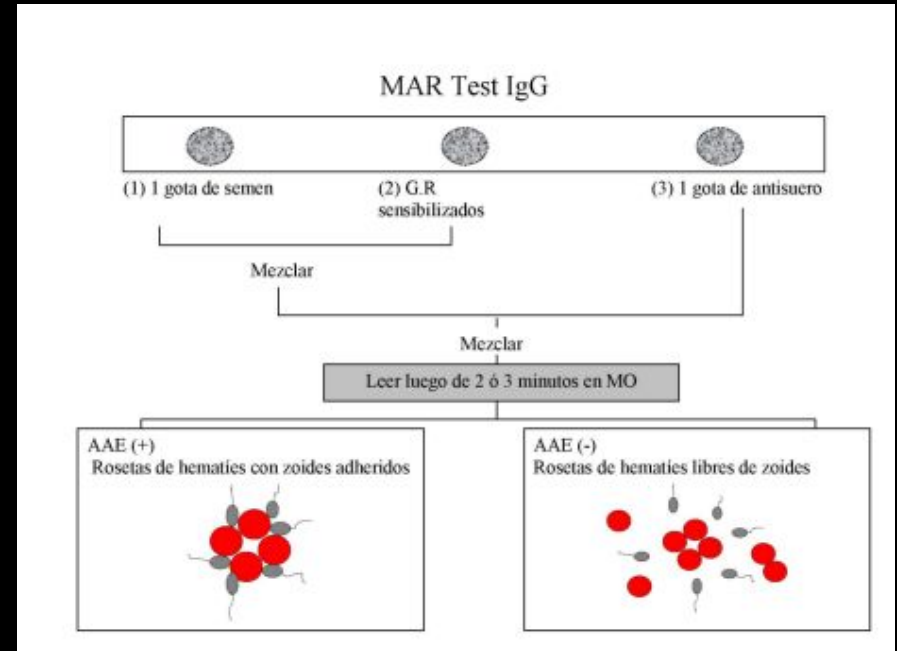
TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DE AAE - MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Técnicas clásicas	Nuevas técnicas
<p>Aglutinación en gelatina (Kibrick-1952)</p> <p>Test de aglutinación en capilares (Shulman-1971)</p> <p>Test de Franklin-Duke (F-D Test-1964)</p> <p>TAT (Test de aglutinación en bandeja-1974)</p> <p>SIT (Test de inmovilización)</p> <p>Test de Kremer (Contacto moco-semen)</p>	<p>MAR-Test (Mixed Antiglobulin Reaction) -1973</p> <p>IBT (Immunobeads)</p> <p>Inmunofluorescencia</p> <p>Enzimoimmunoensayo</p> <p>Inmunoperoxidasa</p> <p>Radioimmunoensayo</p> <p>Citometría de flujo</p>

MAR - TEST

Consiste 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.

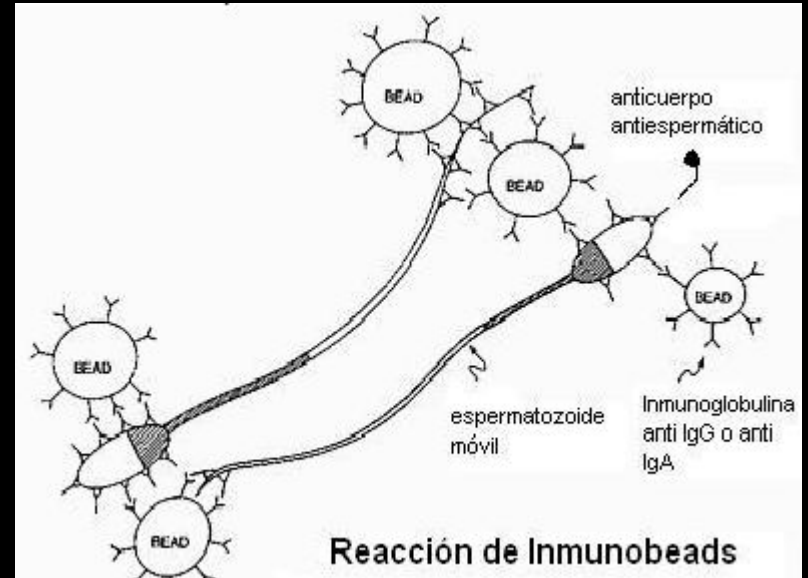
Sólo permite identificar procesos en los que está involucrada la IgG



IBT

Se utilizan microesferas de poliacrilamidas en las que se han fijado 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.

Requiere más tiempo, es más laborioso y de mayor costo que el MAR test pero permite estudiar IgA está también comprometida (no solo IgG) y cual es la localización de éstas sobre la superficie espermática (cabeza, cola, punta de la cola)



TRATAMIENTO

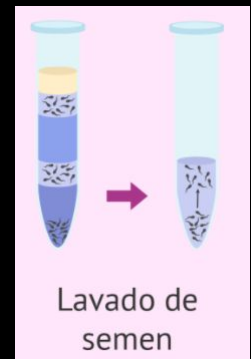
Una vez identificados a los AAE como causantes de la infertilidad se emplean diversos protocolos terapéuticos

Uso del condón: Reduce el contacto que tiene la mujer con los espermatozoides después del coito → Disminuye la activación del sistema inmunitario en la mujer → La suspensión del condón después de un uso prolongado no asegura que se mejoren las tasas de fecundación en una persona con infertilidad inmunológica



Terapia inmunosupresora con corticosteroides: Disminuye los AAE → Puede no tener efecto en pacientes con AAE unidos a los espermatozoides → Presenta efectos adversos a largo plazo, como necrosis aséptica de la cadera, exacerbación de las úlceras duodenales y efectos cardiovasculares.

Lavado de espermatozoides: 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 motilidad del espermatozoide → Logra reducir la unión del espermatozoide con el AAE, pero no mejora las tasas de embarazo.

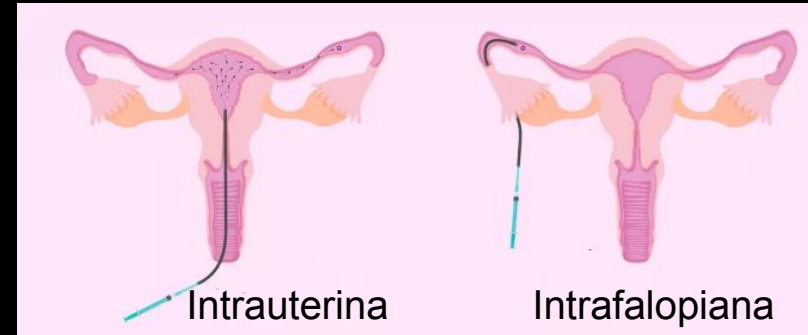


Transferencia intrafalopiana de gametos e Inseminación artificial intrauterina:

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.

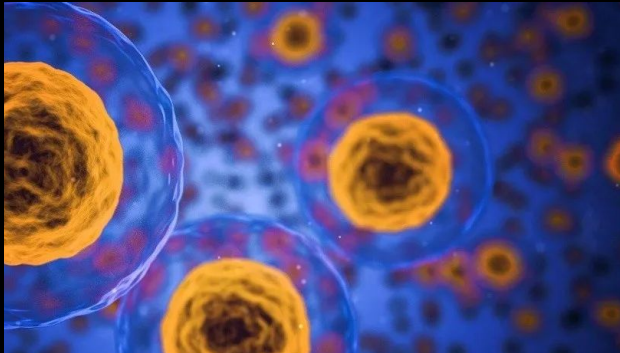
→ La inseminación artificial intrauterina se emplea en pacientes con AAE en el moco cervical; el 15% de estos conciben un embarazo después de varios ciclos de este tratamiento.

→ La transferencia intrafalopiana de gametos se emplea en parejas donde los 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




CITOQUINAS Y OTROS FACTORES INMUNOLÓGICOS EN EL SEMEN DE HOMBRES SANOS Y FÉRTILES


- Estudio realizado en Boston, USA
- **Llevado a cabo por:** Joseph A. Politch, Lynne Tucker, Frederick P. Bowman y Deborah J. Anderson
- **Casos de estudio:** 83 pacientes sanos y fértiles





Se encontraron:

- ❖ altos valores de IgG e IgA, TGF B1, IL 7, IL 8.
- ❖ concentraciones menores de IL-1a and b, IL-5, IL-6, IL-13, IL-17, (MIP)-1b, (IFN)-a, (CSF), MIP-1a, IL-2, IL-10, IL-12, TNF-a, IFN-y.

IL-1, IL-2, IL-6 y (TNF-a)  asociados a mala calidad seminal y a infertilidad masculina

TGF (alfa y beta)  relacionado con el desarrollo de los testículos mamíferos, incluyendo las células de leydig y los túbulos seminíferos

TGF-a1  altas concentraciones se asocian a fibrosis de los túbulos, por lo que afecta la espermatogénesis

 tiene acción inmunosupresora, requiere de una activación que ocurre en la vagina debido al pH, contribuye a la tolerancia de Ags seminales pero puede predisponer a infecciones

TGF-B  se estudia su influencia en infección por VIH

 contribuye a la implantación del embrión porque secuestra GM-CSF

IL-7: citoquina clasificada como un factor de crecimiento hematopoyético

- altas concentraciones están asociadas al mantenimiento de las células T CD8 + en el tracto genital masculino

SDF-1a: se demostró por primera vez la presencia

- está relacionado con la colonización, supervivencia y proliferación de células germinales primordiales , es decir los progenitores de espermatozoides y oocitos

Será necesario estudiar su presencia en pacientes azoospermicos

MUCHAS
GRACIAS !!