

Instituto Nacional de Endocrinología

ANTICUERPOS ANTIESPERMATOZOIDES EN PAREJAS CON INFERTILIDAD DE CAUSA NO EXPLICADA

Dra. Sanda Yepe Oliveros,¹ Dr. Lorenzo Mallea Sánchez,² Lic. Maydelín Frontela Noda³
y Dra. Ada Julia Machado Curbelo⁴

RESUMEN

Se estudió una muestra de 75 parejas infértiles en relación con la presencia de anticuerpos antiespermatozoides en plasma seminal, moco cervical o adheridos a los espermatozoides, mediante la prueba de *immunobeads* y se determinó la capacidad inhibidora del plasma seminal sobre la proliferación linfocitaria, para evaluar la capacidad inmunomoduladora del semen como participante en el mecanismo patogénico primario de aparición de los anticuerpos antiespermatozoides. Se organizaron las parejas en 2 grupos, según la presencia o no de anticuerpos antiespermatozoides y se compararon en cuanto a la frecuencia de embarazo y la capacidad inmunosupresora del plasma seminal. Además se comparó la incidencia de embarazo en grupos de parejas con capacidad inmunosupresora y sin ella. Se observó que la presencia de anticuerpos antiespermatozoides fue menos frecuente que la reportada por otros autores y no estuvo relacionada con la capacidad inmunosupresora del plasma seminal, tampoco influyeron sobre la frecuencia de embarazo la presencia de anticuerpos antiespermatozoides y la capacidad inmunosupresora del plasma seminal.

Descriptores DeCS: AUTOANTICUERPOS/análisis; ESPERMATOZOIDE/inmunología; INFERTILIDAD/inmunología.

Existen muchas parejas infértiles en las que no es posible encontrar el factor causal de la infertilidad y que por tanto, su afección es clasificada como infertilidad de la pareja de causa desconocida. En ellas se ha encontrado con frecuencia la presencia de anticuerpos antiespermatozoides ya sean

adheridos a estas células, en el plasma seminal, o en el moco cervical.¹⁻³ Algunos resultados de investigaciones indican que infecciones seminales, ginecológicas, varicocele, torsión testicular y procedimientos quirúrgicos como la vasectomía, pueden constituir algunos factores de riesgo

¹ Especialista de I Grado en Inmunología.

² Especialista de I Grado en Inmunología. Investigador Agregado.

³ Licenciada en Bioquímica. Aspirante a Investigadora.

⁴ Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Investigadora.

para el desarrollo de anticuerpos antiespermatozoides.⁴⁻⁶ En el momento actual existen estudios, algunos extensos, que prueban la capacidad inmunomoduladora del plasma seminal, donde se reconocen sustancias que tienen un efecto inmunosupresor, como es el caso de la prostaglandina E y de algunas glicoproteínas, que actúan suprimiendo los mecanismos inmunes que pudieran, en determinado momento, reaccionar contra los espermatozoides.⁷

Por todo esto es lógico pensar que en la formación de los anticuerpos antiespermatozoides, tanto en el hombre como en la mujer, pudiera actuar como mecanismo patogénico primario un trastorno del mecanismo inmunomodulador del semen, lo que facilitaría el desarrollo y la acción de estos anticuerpos, los cuales actuarían inhibiendo las capacidades funcionales del espermatozoide.

En este trabajo nos propusimos determinar la influencia de la capacidad inmunosupresora del plasma seminal y la presencia de anticuerpos antiespermatozoides sobre la frecuencia de embarazo en parejas con infertilidad de causa no explicada.

MÉTODOS

SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Estudiamos 75 parejas con infertilidad de causa no explicada (hombres con semen normal y mujeres con ovulación normal y con trompas permeables) Incluimos aquellas parejas en que se encontró una prueba poscoital anormal. Todas se reclutaron en la Consulta de Infertilidad del Instituto Nacional de Endocrinología.

Hicimos el estudio en la forma habitual y determinamos además la presencia de anticuerpos antiespermatozoides de clase IgG e IgA adheridos a los espermatozoides, en el plasma seminal y en moco cervical y la capacidad inmunosupresora del plasma seminal. Indicamos el tratamiento habitual, según las normas vigentes.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTIESPERMATOZOIDEOS

Detectamos anticuerpos antiespermatozoides mediante la prueba de *immunobeads* (IBT).⁸⁻¹¹ Los *immunobeads* (IB) son microesferas de poliacrilamida con inmunoglobulinas de conejo antihumanas covalentemente unidas. La presencia de IgG e IgA puede ser determinada con esta prueba.

Realizamos el IBT de forma directa para determinar anticuerpos antiespermatozoides adheridos a dichas células, y de forma indirecta, para anticuerpos antiespermatozoides en el moco cervical y en el plasma seminal.

TEST DE IMMUNOBEADS DIRECTO

Tomamos las muestras problema y lavamos los espermatozoides 2 veces con HAM F-10 más BSA al 3 %, 10 mL (centrifugación a 1 900 rpm durante 5 min a temperatura ambiente). Al final, ajustamos la concentración celular a $10-20 \times 10^6$ espermatozoides/mL.

En una lámina de cristal añadimos 10 μ L de esa suspensión, los espermatozoides ajustados y 10 μ L de IB(anti-IgA o anti-IgG). Incubamos 10 min a temperatura ambiente en cámara húmeda. Contamos en

microscopio de contraste de fase los espermatozoides móviles. Y consideramos espermatozoides positivos si tenían 2 o más IB pegados a la superficie. El caso positivo fue aquél que tuvo 5 % o más de espermatozoides positivos.

TEST DE IMMUNOBEADS INDIRECTO

Para obtener plasma seminal, tomamos las muestras problema y las centrifugamos a 1 300 rpm durante 5 min a temperatura ambiente. Y para obtener el moco cervical, primero licuamos con bromelina y luego homogeneizamos mecánicamente. Centrifugamos igual que el plasma seminal y luego incubamos el sobrenadante a 56 °C para inactivar el complemento.

Añadimos el moco cervical o plasma seminal previamente separados y diluidos 1:2 con HAM F-10 más BSA 3 % a un *pellet* de espermatozoides lavados 2 veces y negativo al IBT directo a una concentración 10-20 x 10⁶ espermatozoides móviles/mL. Resuspendimos bien e incubamos 60 min a 37 °C. Luego lavamos los espermatozoides 2 veces con HAM F-10 más BSA 3 % (centrifugación a 1 900 rpm durante 5 min a temperatura ambiente). Ajustamos los espermatozoides, preparamos la lámina y luego contamos y evaluamos igual que para el IBT directo.

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD INMUNOSUPRESORA DEL PLASMA SEMINAL

Determinamos la capacidad inmunosupresora del plasma seminal de todos los hombres incluidos en el estudio mediante un ensayo de inhibición de la proliferación linfocitaria *in vitro*.⁹

FRECUENCIA DE EMBARAZO

Obtuvimos este dato mediante la revisión de las historias clínicas y la correspondencia.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Organizamos las parejas en 2 grupos según la presencia o no de anticuerpos antiespermatozoides e incidencia de embarazo, en grupos de parejas con capacidad inmunosupresora y sin ella, mediante la misma prueba.

RESULTADOS

Hubo gran variabilidad de la capacidad inhibidora del plasma seminal sobre la proliferación de los linfocitos, encontramos valores desde 0 hasta 100 %. En un trabajo anterior realizado en nuestro laboratorio se determinaron valores para considerar las muestras de plasma seminal como inhibidoras o no inhibidoras a partir del estudio del efecto de un *pool* de fluido seminal sobre la proliferación linfocitaria inducida por PHA, y se consideraron como inhibidoras aquellas muestras en las que la inhibición fue ≥ 15 % y como no inhibidoras, las que estuvieron por debajo de ese valor.¹² Basándose en este criterio clasificamos a nuestras pacientes.

Detectamos anticuerpos antiespermatozoides en 4 de las 75 parejas estudiadas, al comparar grupos de parejas con causa inmunológica de infertilidad (tabla 1). En cuanto a los resultados de la prueba poscoital, observamos que en el 100 % de las parejas con infertilidad de causa inmunológica fue anormal, y en el 69 % de las parejas con infertilidad de causa no inmunológica. No obstante, al ser comparados ambos grupos mediante la prueba de probabilidad exacta de Fisher, no hubo diferencias significativas entre ellos (tabla 2).

TABLA 1. *Pacientes con pruebas de IBT positivas*

Casos con IBT positivos	Anticuerpos asociados a espermatozoides	Anticuerpos en el plasma seminal	Anticuerpos en el moco cervical
	%	%	%
1	IgG-100 IgA-70	IgG-50 IgA-16	-
2	IgG-35 IgA-10	IgG-25 IgA-7	-
3	-	-	IgG-90 IgA-90
4	-	-	IgG-80 IgA-45

TABLA 2. *Comparación entre grupos de parejas de infertilidad de causa inmunológica y sin ella en cuanto a los resultados de la prueba poscoital (TPC)*

	Infertilidad no inmunológica	Infertilidad inmunológica
TPC normal	23	0
TPC anormal	48	4

p = 0,3057.

Entre los grupos de causa inmunológica de infertilidad y sin ella no hubo diferencias significativas en cuanto a frecuencia de embarazo, sólo 1 pareja con anticuerpos antiespermatozoides en moco cervical logró la concepción (tabla 3).

TABLA 3. *Comparación entre grupos de parejas con infertilidad de causa inmunológica y sin ella en cuanto a frecuencia de embarazo*

	Infertilidad no inmunológica	Infertilidad inmunológica
No embarazo	63	3
Embarazo	8	1

p=0,407.

En relación con la capacidad inmunosupresora del plasma seminal, tampoco hubo diferencias significativas entre ambos grupos (tabla 4). El grupo de parejas inhibidoras tuvo una frecuencia de embarazo similar a las no inhibidoras y estadísticamente se comprobó no haber diferencias significativas (tabla 5).

TABLA 4. *Comparación entre grupos de parejas de infertilidad de causa inmunológica y sin ella en cuanto a la capacidad inmunosupresora del plasma seminal*

	Infertilidad no inmunológica	Infertilidad inmunológica
No inhibidoras	22	1
Inhibidoras	49	3

p=0,64.

TABLA 5. *Comparación entre los grupos de parejas inhibidoras y no inhibidoras de la proliferación linfocitaria relativa a la frecuencia de embarazo*

	No inhibidoras	Inhibidoras
No embarazo	20	46
Embarazo	3	6

p=1,00.

DISCUSIÓN

En trabajos anteriores se señala que la frecuencia de infertilidad de la pareja dependiente de anticuerpos antiespermatozoides es de aproximadamente 10 a 15 %, mientras que otros trabajos alcanzan el 21 %.^{3,13} Una probable explicación de que hayamos encontrado una frecuencia menor de anticuerpos antiespermatozoides que otros autores es la frecuencia de infecciones seminales en la población estudiada. En los casos de los resultados de los autores anteriormente citados es de notar que las características sociodemográficas de las poblaciones por ellos estudiadas, así como sus intereses de investigaciones, hacen que en esas poblaciones se observe una frecuencia relativamente alta de infecciones seminales, lo que se sabe que es un factor predisponente para la aparición de anticuerpos antiespermatozoides.^{3,5,8} Por otra parte, diferencias entre los resultados de pruebas utilizadas para detectar anticuerpos antiespermatozoides, como reacción de antiglobulinas mixta (prueba MAR), Elisa, IBT, han sido confirmadas por

algunos autores,^{1,8,9,11,14} lo que ha sido controvertido desde hace algún tiempo. Estos métodos detectan diferentes tipos de anticuerpos y no hay ninguno de validez universal. Por lo tanto, consideramos que los resultados aquí obtenidos mediante IBT no son absolutos y que pudieran existir parejas donde aun estando presentes los anticuerpos antiespermatozoides, no se hayan detectado. En un estudio anterior hecho en nuestro laboratorio (no publicado), en el cual se utilizó la prueba MAR, se encontró una frecuencia de positividad aún más baja.

Algunos investigadores plantean que los anticuerpos formados, tanto en el hombre como en la mujer, contra antígenos de la superficie espermática pudieran impedir la fertilidad por interferencia con la penetración en moco cervical, presumiblemente por entrecruzamiento del espermatozoide con componentes de alta viscosidad del moco cervical.¹⁵ Estos investigadores reportaron alto porcentaje de mujeres con anticuerpos antiespermatozoides en moco cervical cuando la prueba poscoital fue anormal. Otros tienen resultados discrepantes donde pocas de las parejas con prueba poscoital anormal presentan anticuerpos antiespermatozoides.¹⁶ En nuestro estudio, la comparación de grupos de infertilidad de causa inmunológica y no inmunológica sugiere la no asociación entre la anormalidad de la prueba poscoital y la presencia de anticuerpos antiespermatozoides, pero realmente la baja tasa de pacientes con infertilidad de causa inmunológica no nos permite realizar comparación adecuada entre ambas variables.

El fallo para demostrar baja frecuencia de embarazo en pacientes con anticuerpos antiespermatozoides, como han reportado algunos autores, sugeriría que la infertilidad no puede ser explicada por la presencia de

dichos anticuerpos. Pero el pequeño número de pacientes con anticuerpos antiespermatozoides impide el análisis comparativo adecuado entre ambos grupos en cuanto a la frecuencia de embarazo.

A pesar de que no hallamos relación entre la capacidad inmunosupresora del plasma seminal y la aparición de anticuerpos antiespermatozoides no se puede afirmar que este factor no deba ser tomado en cuenta al tratar de explicar los mecanismos causales de la infertilidad ya que la muestra obtenida de pacientes con infertilidad de causa inmunológica no fue lo suficiente para establecer dicha asociación. Por otra parte, la no diferencia significativa en cuanto a la frecuencia de embarazo en grupos de inhibidores y no inhibidores sugiere que la capacidad inmunosupresora no es un predictor de infertilidad, a menos que el bajo número de concepciones logradas en ambos grupos pudiera esconder dicha asociación. Pero una conclusión de este tipo sería inconsistente pues por lo novedoso del estudio de la capacidad inmunosupresora, la definición de normalidad y anormalidad es arbitraria. Como explicamos previamente, este criterio lo obtuvimos a partir del cálculo de la media y la desviación estándar de un *pool* de plasma seminal de pacientes supuestamente normales. Sería conveniente definirlo en una muestra de hombres con fertilidad probada. Debemos tener en cuenta por lo tanto, que los factores inmunosupresores del plasma seminal pudieran actuar no sólo inhibiendo la producción de anticuerpos antiespermatozoides (cosa que en este caso no ha podido demostrarse), sino también inhibiendo la producción de citoquinas por las células inmunocompetentes que, se sabe, están presentes en el aparato genital femenino¹⁷ y son capaces de afectar la

capacidad fertilizante de semen. Además, también hay que considerar que elementos inmunomoduladores del plasma seminal pueden ser estimulantes de la respuesta inflamatoria y desempeñar una importante función en la infertilidad masculina.¹⁸

De todo lo discutido con anterioridad podemos concluir que, según los resultados obtenidos en nuestro estudio, los factores inmunológicos no parecen ser una causa importante dentro de la patogenia de la infertilidad de causa no explicada.

SUMMARY

A sample of 75 infertile couples was studied in relation to the presence of antisperm antibodies in seminal plasma, cervical mucus or adhered to spermatozooids by the test of immunobeads. The inhibitory capacity of seminal plasma on lymphocyte proliferation was determined to evaluate the immunomodulatory capacity of semen as an actor in the primary pathogenic mechanism of appearance of antisperm antibodies. Couples were organized in 2 groups, according to the presence or not of antisperm antibodies. The frequency of pregnancy and the immunosuppressive capacity of seminal plasma were compared. The incidence of pregnancy in groups of couples with and without immunosuppressive capacity was also compared. It was observed that the presence of antisperm antibodies was less frequent than the reported by other authors and that it was not related to the immunosuppressive capacity of seminal plasma. The presence of antisperm antibodies and the immunosuppressive capacity of seminal plasma did not influence on the frequency of pregnancy.

Subject headings: AUTOANTIBODIES/analysis; SPERMATOZOA/immunology; INFERTILITY/immunology.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Francavilla F, Romano R, Santucci R, La Verghetta G, D'Abrizio P, Francavilla S. Naturally-occurring antisperm antibodies in men: interference with fertility and implications for treatment. *Front Biosci* 1999;4:E9-E25.
2. Mazumdar S, Levine AS. Antisperm antibodies: etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Fertil Steril* 1998;70(5):799-810.
3. Hjort T. Do autoantibodies to sperm reduce fecundity? A mini-review in historical perspective. *Am J Reprod Immunol* 1998;40(3):215-22.
4. Naz RK, Menge AG. Antisperm antibodies. Origin, regulation and sperm reactivity in human infertility. *Fertil Steril* 1994;61(6):1001-13.
5. Sinisi AA, Angelone G, Martone A, Floretti GP, Bellastella A. Antisperm antibodies in cryptorchidism before and after surgery. *J Urol* 1998;160(5):1834-7.
6. Carbone DJ, Shah A, Thomas AJ, Agarwai AJ. Partial obstruction, not antisperm antibodies, causing infertility after vasostomy. *Urology* 1998;159(3):827-30.
7. Pollanen P, Euler M, Soder O. Testicular immunoregulatory actors. *J Reprod Immunol* 1990;18:51-76.
8. Evans ML, Chan PJ, Patton WC, King A. A convenient mixed immunobeads screen for antisperm antibodies during routine semen analysis. *Fertil Steril* 1998;70(2):344-9.
9. Gubin DA, Dmochowski R, Kutteh WH. Multivariate analysis of men from infertile couples with and without antisperm antibodies. *Am J Reprod Immunol* 1998;39(2):157-60.
10. Domagala A, Kasprzak MK. Immunological characteristics of cervical mucus in infertile women. *Zentralbl Gynakol* 1997;119(12):616-20.

11. Dondero F, Gandini L, Lombardo F, Salacone P, Caponecchia L, Lenzi A. Antisperm antibody detection: 1. Methods and standard protocol. *Am J Reprod Immunol* 1997;38(3):218-23.
12. Delgado S, Ramírez K, Mallea L. Efecto inhibitor del plasma seminal humano sobre la proliferación linfocitaria in vitro inducida por fitohemaglutinina (PHA). *Rev Cubana Endocrinol* 1991;2:10-5.
13. Alexander NJ. Natural and induced immunological infertility. *Curr Opin in Immunol* 1989;1:1125-30.
14. Nicholson SC, Robinson JN, Sargent IL, Barlow DH. Detection of antisperm antibodies in seminal plasma by flow cytometry: comparison with the indirect immunobead binding test. *Fertile Steril* 1997;68(6):114-9.
15. Jones WJ. Gamete immunology. *Hum Reprod* 1994;9(5):828-41.
16. Check JH, Boliendorf A, Katsoff D, Kozak J. The frequency of antisperm antibodies in the cervical mucus of woman with poor postcoital test and their effects on pregnancy rates. *Am J Reprod Immunol* 1994;32:38-42.
17. Kortebari G. Leukocyte population in semen and male accessory gland function: relationship with antisperm antibodies and seminal quality. *Andrologia* 1992;24:197-204.
18. Sikka SC, Rajasekaran M, Hellstrom WJG. Evidence of a proinflammatory cytokine «GRO- α » in seminal plasm of infertile patients. *Proceeding of the Annual Meeting Program Supplement. Fertil Steril* 1995;64(supp)S 190.

Recibido: 16 de noviembre de 1999. Aprobado: 10 de febrero de 2000.

Dra. *Sanda Yepe Oliveros*. Instituto Nacional de Endocrinología, Zapata y D, El Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba. CP 10400.