

CAPÍTULO IX

INMUNOLOGÍA DEL TRACTO REPRODUCTIVO DEL BOVINO

- I. EL APARATO INMUNOLÓGICO
 1. La Inmunidad Innata
 2. La Inmunidad Adaptativa
 3. Conceptos Básicos de la Inmunoreproducción
- II. BASES ANATOMOFISIOLÓGICAS DEL TRACTO REPRODUCTIVO
- III. ASPECTOS INMUNOLÓGICOS DEL TRACTO GENITAL
- IV. ASPECTOS INMUNOLÓGICOS DE RELEVANCIA EN EL MACHO
- V. ASPECTOS INMUNOLÓGICOS DE RELEVANCIA EN LA HEMBRA
- VI. EVIDENCIAS CLÍNICAS DE LA EXISTENCIA DE INFERTILIDAD DEBIDO A PROCESOS INMUNOLÓGICOS
- VII. LITERATURA CITADA

I. EL APARATO INMUNOLÓGICO

Todas las criaturas incluyendo al bovino existen debido a que sus antecesores sobrevivieron exitosamente o evadieron el desafío de las enfermedades (además de otras amenazas) por un tiempo suficientemente largo como para reproducirse. La inmunidad, -la habilidad natural de combatir exitosamente las enfermedades- es la clave para la sobrevivencia de todas las especies. La inmunidad es un hecho de la naturaleza tan básico que lo tomamos como un privilegio (Figura 1).

Algunos aspectos de las prácticas de manejo intensivo de hoy en día pudieran sobrecargar el sistema inmune de los animales de consumo. El confinamiento, rebaños demasiado grandes, transporte y las mezclas de rebaño son prácticas que pueden incentivar la transmisión y una mayor exposición a microorganismos causantes de enfermedades. Concomitantemente, estas actividades estresan al animal, debilitando sus inmunodefensas. En adición a esto el manejo poco adecuado del suelo en el pasado, hoy en día aflora como deficiencias nutricionales en los animales de consumo resultando en una disfunción del sistema inmune. El sistema inmune puede ser dividido en dos grandes componentes, la inmunidad inata y la inmunidad adaptativa.

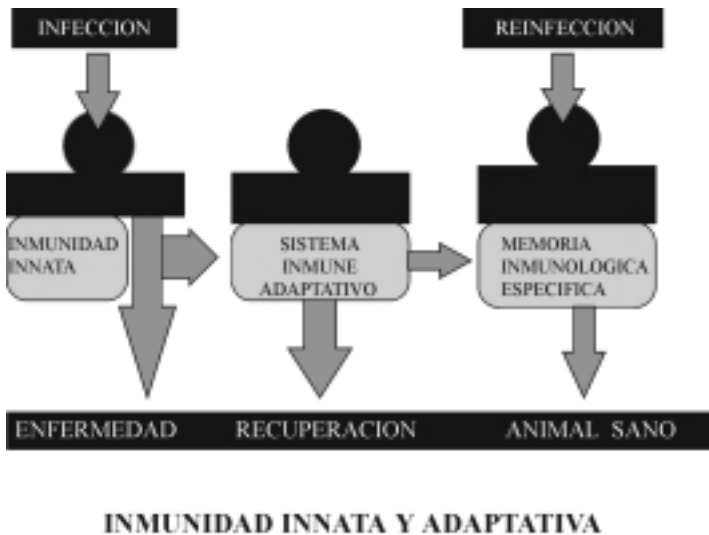


Figura 1. Se indica la posible secuencia de eventos que se suceden en un animal normal, cuando por primera vez es expuesto a un agente infeccioso. Si la inmunidad innata satura al agente infeccioso, los síntomas de la enfermedad no se presentan, pero si el agente infeccioso no es reconocido, los síntomas aparecerán y el sistema adaptativo es activado. La falla del sistema inmune de vencer al agente infeccioso, puede conducir a la muerte. Por otro lado, una inmunorespuesta exitosa eliminará al agente y el animal se recuperará. El animal tiene ahora anticuerpos y memoria que lo harán mas resistente a la reinfección por el mismo agente. En la actualidad la inmunidad culmina la actividad de un muy intrincado y complejo sistema del cuerpo- el sistema inmune.

1. La Inmunidad Innata

La inmunidad innata es la que funciona completamente en el animal sano normal y responde inmediatamente a la infección natural o a la vacunación. Sus componentes principales son el complemento, el sistema fagocitario y el interferón.

El sistema del complemento juega un importante papel en el sistema inmunitario. Sus funciones las; podemos resumir de la manera siguiente:

1. Incrementa la permeabilidad vascular.
2. Contrae la musculatura lisa.
3. Inicia la degranulación de los mastocitos.
4. Localiza los complejos antígenos-anticuerpos en los centros germinales.
5. Interviene en la opsonización y fagocitosis de la bacteria.
6. Activa los neutrófilos e inicia la quimiotaxis.
7. Provoca la lisis de las bacterias.
8. Provoca la lisis de células extrañas.

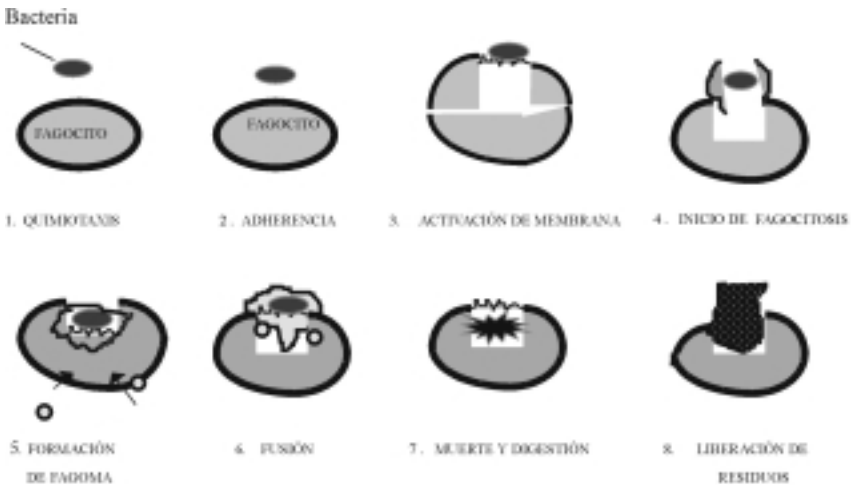


Figura 2. Proceso de fagocitosis.

El sistema fagocitario se denomina así, debido a que sus componentes (células) engloban y digieren a las bacterias y virus invasores. Los neutrófilos y unas células mas grandes denominadas macrófagos son los fagocitos principales. La actividad fagocitaria de estas células es grandemente estimulada cuando el complemento o los anticuerpos formados específicamente se adhieren a la bacteria o a los virus. En adición, los macrófagos procesan a los invasores de una manera especial, presentando piezas de ellos a los linfocitos. Este es un proceso muy crucial desde el inicio de la inmunorespuesta mediada por los anticuerpos y/o la inmunorespuesta mediada por la célula.

El sistema Interferón está representado por proteínas pequeñas, las cuales son secretadas por las células una vez que estas han sido invadidas por agentes infecciosos, principalmente virus. Una de las funciones del interferón es indicarles a otras células del cuerpo que inicien actividades de defensa, las cuales previenen la multiplicación de los virus dentro de estas células. Otro tipo de papel que juega el interferón es incrementar grandemente la actividad de las células inmunes. Un ejemplo de esto sería la forma como incrementa la habilidad de los macrófagos y neutrófilos para eliminar los agentes infecciosos que ellos han ingerido. Existen dos ventajas importantes que provienen de la producción y actividad del interferón: 1) El interferón puede alcanzar niveles protectivos rápidamente (en 48 hrs.), pudiendo así ofrecer protección más rápida que la formación de anticuerpos, 2) El interferón no es específico para un virus y estimulará las defensas celulares contra otros tipos de virus; el interferón protegerá en forma cruzada, contra una variedad de virus, caso contrario de los anticuerpos los cuales son específicos para cada virus.

2. La Inmunidad Adaptativa

Esta es la otra división del sistema inmune. Este término indica que este sistema no solo puede ser activado por agentes externos, sino que su capacidad para responder puede ser grandemente estimulada por exposiciones previas al agente infeccioso específico; esto es debido a la memoria que posee. A pesar de que todos los elementos del sistema inmune interactúan, lo dividiremos para su estudio en *Sistema Inmune de las Mucosas*, *Sistema Mediado por Anticuerpos* y *Sistema Mediado por Células*.

a. Sistema Inmune de las Mucosas

Las superficies mucosas del cuerpo animal son aquellas que cubren los pasajes internos, tales como los ductos de la glándula mamaria, el tracto digestivo, tracto respiratorio, tracto urinario y reproductivo. Todas estas superficies son húmedas y calientes, proporcionando así un hábitat adecuado para las bacterias y virus.

La principal función de este sistema es la de interferir con las estructuras que permiten al agente infeccioso adherirse a la superficie mucosa. Si el agente infeccioso es incapaz de adherirse, no podrá multiplicarse o ganar entrada al cuerpo y será expulsado a través de las aberturas naturales. Este mecanismo es primeramente activado cuando el agente infeccioso penetra la mucosa y contacta al macrófago, el cual lo ingiere y lo presenta a los linfocitos. Los linfocitos B se convertirán en células plasmáticas, las cuales activamente secretarán Inmunoglobulina A (IgA). La IgA es transportada a través de la capa de células que constituye la superficie mucosa y por extrusión a la superficie o al lumen. En el caso del aparato reproductor, la IgA es transportada y extruida adicionándose en el camino un componente denominado la pieza secretoria. La unión de IgA con la pieza secretoria se le denomina IgA secretoria. La IgA secretoria se mantiene firmemente en el moco de la superficie, mejor que la IgA sola. La IgA secretoria en el tracto reproductivo interfiere activamente a las estructuras de la superficie mucosa a las cuales los agentes infecciosos se adhieren. En adición a esta protección local, algunas de estas células plasmáticas entran a el torrente sanguíneo, formando colonias

en otras áreas del cuerpo cubiertas de mucosa. Este mecanismo permite proteger a todas las superficies mucosas del cuerpo cuando una sola se infecta. Sin embargo, parece ser que la protección más efectiva proviene cuando la infección tiene su entrada por el tracto digestivo o el respiratorio.

La IgA secretoria es especialmente importante en proteger la superficie mucosa de la vagina. Esta inmunoglobulina posee un poder inmovilizador sobre *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* que impide a este organismo de atravesar la cervix y penetrar la cubierta mucosa para colonizar y posiblemente invadir el endometrio, por lo tanto previniendo la endometritis y la infertilidad. La misma función de IgA, prevendrá nuevos casos de endometritis e infertilidad en animales convalecientes, cuando sean nuevamente expuestos a infección durante la monta de un toro portador.

El recién nacido puede recibir un rico suplemento de IgA e IgG a través del calostro de su madre. La porción de IgA de estos anticuerpos permanecerá en el moco del tracto intestinal e interferirá con el agente infeccioso específico para el cual fue formado. Por otro lado y durante las primeras horas después del nacimiento, una gran porción de IgG es absorbida al torrente sanguíneo del recién nacido, donde lentamente es transportada a través de la membrana mucosa, proporcionando una prolongada protección (hasta 21 días). Esto es muy importante para el recién nacido, debido a que la leche en contraste con el calostro contiene muy pocos anticuerpos.

b. Sistema Inmune Mediado Por Anticuerpos

Este sistema involucra la producción de anticuerpos específicos para antígenos, principalmente IgG e IgM que circulan en la sangre. Este tipo de anticuerpos son los producidos por las células plasmáticas, las cuales se derivan de los linfocitos B en respuesta a partículas extrañas (antígenos) que entran al cuerpo, bien sea naturalmente o a través de una vacunación. Aún después que el agente invasor ha sido eliminado del cuerpo, algunos linfocitos B retienen "memoria" de cada antígeno específico; si el animal vuelve a tener un segundo contacto o exposición al mismo antígeno, las células memoria reaccionan en forma más rápida y producen una mayor cantidad de anticuerpos del tipo IgG. La mayoría de las vacunas muertas y las bacterinas utilizan este principio requiriendo dos dosis para construir la inmunidad.

Mientras los anticuerpos elaborados por los linfocitos B, independientemente no pueden eliminar agentes infecciosos por si solos, ellos se pueden unir a estos agentes y prevenir su adherencia a la superficie celular o sostenerlos y preparar al agente para su destrucción a través del Complemento o del Sistema inmune fagocitario. Además, estos anticuerpos pueden unirse a y neutralizar toxinas producidas por agentes infecciosos.

Debido a que estos anticuerpos IgG se encuentran circulando en la sangre, ellos pueden efectivamente bloquear cualquier agente infeccioso que se encuentre multiplicándose o siendo transportados en el sistema circulatorio. En los sitios donde hay inflamaciones locales, los anticuerpos IgG son llevados al tejido perifé-

rico mediante los líquidos secretados a través de los capilares, contrarrestando la infección en estas áreas.

c. Sistema Inmune Mediado a Través de la Célula

Este sistema consiste principalmente en una inmunorespuesta celular contra células anormales del cuerpo. Debido a que todos los virus y algunas bacterias, viven y se multiplican dentro de las células, este es una división muy importante del sistema inmune. Este sistema es controlado por los *Linfocitos T*, los cuales después de una infección o vacunación, desarrollan la habilidad para reconocer los antígenos específicos de esa infección o esa vacunación (Ej. Memoria). Subsecuentes exposiciones a través de *Células Presentadoras de Antígenos* (CPA) activan a las células T para reproducirse y secretar *linfocinas*. Aunque las linfocinas tienen muchas funciones, en general, ellas estimulan y dirigen a los glóbulos blancos para atacar y destruir a las células infectadas. Igual que la inmunidad mediada por anticuerpos, la inmunidad mediada por células inducidas por los linfocitos T es mas fuerte cuando responde a subsecuentes exposiciones a un antígeno en particular, indicando así también la existencia de células memoria en el sistema T.

Debido a que algunas bacterias y todos los virus crecen dentro de la célula, ellos evaden así otros sistemas de defensa del aparato inmunológico; por ello el sistema mediado a través de la célula ha sido objeto de numerosos estudios de investigación. Hasta hace poco se creía que solamente vacunas vivas -bacterianas y virales- eran las únicas capaces de inducir la inmunidad mediada por la célula. Las vacunas y bacterinas muertas se pensaba que solo estimulaban la inmunidad mediada por los anticuerpos y que eran incapaces de producir una respuesta mediada por la célula. Sin embargo, investigaciones recientes demostraron que los antígenos muertos cuando se combinan con ciertos adyuvantes pueden estimular eficazmente la inmunidad mediada por la célula.

3. Conceptos Básicos de la Inmunoreproducción

La inmunología reproductiva es una rama de la inmunología que permite solucionar o al menos esclarecer problemas que involucran a la fertilidad normal y algunas formas de infertilidad o desórdenes reproductivos. Debido a que han aparecido antígenos en las células hipotalámicas, hipofisiarias y gonadales como de los gametos, placenta y feto, la inducción de un anticuerpo específico, puede alterar su función. Además, el cuerpo puede inducir anticuerpos contra los factores liberadores de gonadotropinas, gonadotropinas, hormonas esteroidales y hormonas asociadas a la preñez. Los anticuerpos contra antígenos del tejido reproductivo y hormonas pueden ser utilizados para cuantificar, cualificar, destruir o estimular eventos reproductivos específicos asociados a la normal y anormal fertilidad del bovino.

Algo muy importante que debe ser tomado en consideración es que en el bovino, la inmunorespuesta es también influenciada por factores exógenos tales como estrés y nutrición y factores endógenos como son las concentraciones de hormona circulante. La participación inmunológica también ha sido estudiada a través de la respuesta del tracto genital ante procesos infecciosos como son la campilobacteriosis de los bovinos y la gonorrea en el humano [10].

La inquietud por conocer mejor la participación de los procesos inmunológicos en los problemas reproductivos, nace en la medicina humana como consecuencia de las manifestaciones de algunas parejas que han intentado repetidamente concebir hijos con resultados negativos [1, 6]. Debido a que a muchas de estas parejas se ha descartado la infertilidad causada por un ente hereditario, infeccioso o fisiológico, se ha investigado la posible participación de los procesos inmunológicos en la inmovilización, aglutinación y destrucción de uno o ambos gametos. La manera de interpretar las nuevas investigaciones y sus aplicaciones en la inmunoreproducción, impulsará su utilización en los estudios de la fertilidad normal y de la infertilidad.

II. BASES ANATOMOFISIOLÓGICAS DEL TRACTO REPRODUCTIVO

La barrera epitelial del órgano genital esta constituida por una simple línea de *células columnares* (Figura 3). Dentro de estas células encontramos células de tipo secretor (células de *Goblet*) y células de tipo ciliado. Todas estas células se encuentran recubiertas de una capa de moco o *mucina*. Las células son relativamente independientes unas de otras; solo estrechos espacios intercelulares pueden ser encontrados entre ellas.

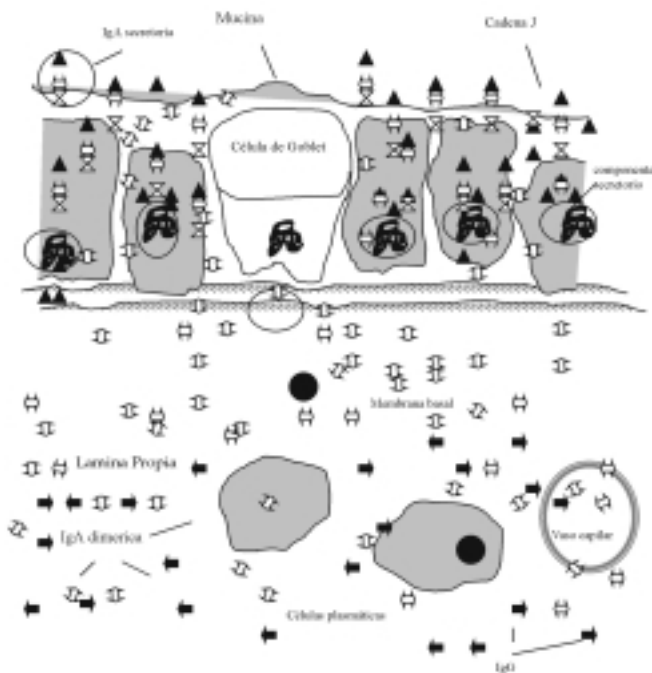


Figura 3. Aspecto anatómico de la mucosa muco glandular del tracto genital femenino. Observe como la IgA y la IgG monomérica, solo se observan por debajo de la membrana basal. Las células de Goblet no sintetizan el componente secretorio, el cual se encuentra en altas concentraciones en la zona supranuclear, en el área de Golgi. Solo IgA dimerica se combina con el componente secretorio en el epitelio de la membrana celular [9].

Las células columnares se encuentran en contacto, unas con otras, en una parte a la cual se le denomina *desmosoma (zona adherens)*, pero existe una unión completa y firme, en forma circular entre cada célula, con las vecinas, cerca del ápice denominada *barra terminal (zona occludens)*. La barra terminal representa una verdadera barrera entre el medio interno y el externo.

Existe un factor denominado el componente secretorio (CS), el cual es una proteína sintetizada por el epitelio de la mucosa genital. Utilizando la técnica de inmunofluorescencia, nunca se ha encontrado CS en la lámina propia. No existe un acuerdo entre los investigadores acerca del contenido de CS dentro de las células de Goblet; algunos investigadores piensan que el CS se puede encontrar en el moco de estas células. Con seguridad a pesar que este componente se ha encontrado en grandes concentraciones en la zona supranuclear de las otras células, donde se presenta el aparato de Golgi y también se ha encontrado en el citoplasma, principalmente en la zona apical.

Se han realizado estudios por separado del componente secretorio libre (CSL) y el componente secretorio unidos a la IgA para ver su comportamiento. En el primero, se demostró que posee determinantes antigénicos adicionales, los cuales son inaccesibles en la molécula combinada. Además se encontró que se ubica exclusivamente en el área de Golgi encima del núcleo. El CS unido a la IgA se encuentra en la membrana de las células epiteliales y el citoplasma apical.

La lámina propia de la mucosa exocrina contiene vasos capilares, tejido conectivo y una población celular representada por polimórfonucleares (PMN), eosinófilos y mastocitos. Existe también una concentración elevada de células plasmáticas maduras, productoras de anticuerpos. La abundancia de estas células puede variar considerablemente de un sitio a otro. La lámina propia debe estar enriquecida lógicamente por productos del plasma local, debido a que el líquido intersticial contenido en ella es generado principalmente por presión de filtración del plasma a través de los vasos capilares. Todas las inmunoglobulinas están presentes en los linfáticos en menos concentración que en el plasma a excepción de IgA. Varios investigadores [9] concluyen que el líquido intracelular está enriquecido de IgA localmente producida, además de la IgA que se origina en la sangre.

En nuestros animales, mucha de la IgA sérica es dimérica (2 moléculas), mientras que en el humano el 90% de la IgA es monomérica (1 molécula). El líquido intersticial de la lámina propia contiene una mezcla de IgA monomérica del suero e IgA dimérica producida localmente por las células plasmáticas; además existen cantidades suficientes de IgG procedentes de la sangre e IgM la cual es producida localmente. Actualmente está demostrado que la IgA encontrada en las secreciones, es producida localmente en forma de dímero y que solamente bajo esta forma puede ser transferida al epitelio celular dentro de las secreciones (Fig. 3). También se ha demostrado que la IgA monomérica 7S del suero, no es transportada en cantidades significativas a las secreciones. Este transporte selectivo a través de la barrera epitelial se pudo explicar al demostrar que el CSL forma *in vitro* complejos con la IgA dimérica (o con IgM), mas no con la IgA monomérica o la IgG. El factor responsable de estos complejos es la llamada cadena J. Esta cadena J,

la cual solo existe en la IgA dimérica y en la molécula de IgM, es producida por las células plasmáticas [9].

Se ha propuesto que el CSL pudiera actuar como un receptor selectivo para la IgA dimérica (e IgM) sobre la membrana de las células epiteliales. Estudios realizados con la técnica de inmunofluorescencia revelan que IgA puede también detectarse en la base y entre las células epiteliales. Al principio, el enlace pudiera ser no covalente. El complejo CS dimérico de IgA que se ha formado en la membrana, se movilizará y migrará hacia la parte superior de la célula epitelial, donde se acumula, antes de ser excretado dentro de la cubierta de moco presente en el lumen de las glándulas.

La unión entre el CS y la IgA se convertirá en covalente durante este proceso. Este complejo CS-IgA ha demostrado ser bastante resistente a la acción de las enzimas proteolíticas. Esto es beneficioso porque protege a la IgA, no solamente fuera de la célula sino también intracelularmente contra los lisosomas de las enzimas celulares. Este mecanismo explica el porque del predominio de IgA (e IgM) en las secreciones genitales y la ausencia o falta de IgG e IgA monomérica.

III. ASPECTOS INMUNOLÓGICOS DEL TRACTO GENITAL

La vagina, según una revisión hecha por Vaerman & Ferin en 1974 [9], no es un sitio ideal para los procesos inmunológicos. Existen evidencias que demuestran que la vagina no se encuentra bien desarrollada como para la acción de anticuerpos secretorios. Aparentemente la vagina funciona como barrera física protegiendo al tracto genital de agentes extraños. El *cervix*, es el segmento del aparato reproductor que ha recibido mas atención por parte de los inmunólogos, los cuales han llegado a la conclusión de que el cuello o *cervix* es capaz de llevar a cabo una función de tipo secretorio dentro del sistema inmune.

Estudios a través de técnicas inmunológicas han demostrado que las células productoras de IgA son mas abundantes que los inmunocitos productores de IgG. También se ha demostrado la actividad de células productoras de IgM, especialmente en infecciones por *Trichomonas* [10]. Además se ha detectado el componente secretorio en la parte glandular del epitelio, dentro de las células epiteliales, en su base, en el lumen de algunas glándulas y en el espacio intercelular. Existe desacuerdo acerca de la influencia del ciclo sexual sobre la proporción IgA/IgG; algunos autores reportan altos niveles en la mitad del ciclo y alrededor de la ovulación; observándose niveles bajos a través de los ciclos anovulatorios; sin embargo estos hallazgos no fueron aparentes en estudios seriados. En general los niveles de IgA/IgG de las secreciones cervicales parecen mucho mas elevadas en comparación con los niveles séricos. Todas estas evidencias nos llevan a concluir que el *cervix* aparentemente funciona como un sistema inmune secretorio local. En efecto, las infecciones locales por *Neisseria gonorrhoea*, *Trichomonas vaginalis* y *Cándida albicans* en los humanos y *Campylobacter foetus* en el bovino [4] están asociadas con incrementos grandes de células plasmáticas de las tres clases (IgA, IgM, IgG) pero con el predominio de IgA.

Los cuernos uterinos, parecen ser capaces de montar una inmunorespuesta. El epitelio superficial del endometrio es una simple capa de células cilíndricas, donde existen muchas glándulas. A través de técnicas de inmunofluorescencia se ha determinado la presencia de grandes cantidades de IgG en el estroma y a lo largo de la membrana basal. Las células productoras de IgA e IgG se encontraron bastante esparcidas. En ningún momento se observaron células productoras de IgM. La presencia de CS estuvo confinado específicamente al epitelio y especialmente al ápice de la célula, pero también existían en la porción intercelular. De estos estudios se puede deducir que el útero y los cuernos uterinos, específicamente la mucosa, funcionan posiblemente como un sistema inmunosecretorio local, sin embargo hay escasas células plasmáticas productoras de IgA e IgM. Esto quizás se deba a lo estéril que permanece este ambiente por el tapón mucoso del cervix.

En conclusión, podemos decir que el cervix es el órgano por excelencia para montar una inmunorespuesta en el tracto genital femenino normal. Ahora bien, es importante conocer los procesos inmunológicos que afectan el normal desenvolvimiento de la función reproductiva. Para ello es necesario conocer los tejidos que pueden reaccionar antigénicamente en el tracto genital del macho y de la hembra, los anticuerpos que se forman contra esos antígenos y sus efectos. Por último y sin restarle importancia, debemos tomar en cuenta aquellos métodos y técnicas incorporados por el hombre tales como la técnica de inseminación y el trasplante de embriones.

IV. ASPECTOS INMUNOLÓGICOS DE RELEVANCIA EN EL MACHO

Según los estudios llevados a cabo por diferentes autores se ha determinado que los antígenos presentes en el tracto reproductivo del macho pueden ser divididos en dos categorías: 1) Antígenos del espermatozoide y del testículo y 2) antígenos de las glándulas accesorias del tracto reproductivo del macho. Los antígenos del espermatozoide y del testículo han sido estudiados desde hace mucho tiempo. Actualmente no existe duda de que se puede producir autoanticuerpos, en animales experimentales, inyectando espermatozoides. Experimentos realizados con cobayos, a los cuales se les inyectó tejido testicular adicionándole adyuvante, mostraron daño del tejido testicular, orquitis y epididimitis. Experimentos posteriores demostraron que la administración de una suspensión de tejido testicular de cobayo, bien sea del mismo animal o de otro, en combinación con aceite de parafina y bacilo de la tuberculosis produjo una azoospermia y una gran cantidad de anticuerpos específicos contra el tejido testicular y el espermatozoide.

Más tarde investigadores franceses lograron aislar antígenos a partir de una suspensión de testículo, reportando la existencia de no uno, sino de cuatro factores antiespermatogénicos [3]. A estas fracciones las denominaron S, P, Z y T. Todas estas fracciones excepto la Z fueron purificadas y se demostró que eran antigénica y bioquímicamente diferentes; los autores lograron reproducir con las fracciones S y P los daños antes descritos que causaron una orquitis azoospermica autoinmune (5). Los mismos investigadores han estudiado la relación entre los espermatozoides y los diferentes grupos sanguíneos y han demostrado la presencia

de grupos sanguíneos antigénicos en el espermatozoide humano, específicamente los grupos ABO. El eyaculado de un macho que pertenezca a los grupos AB contiene una mezcla de espermatozoides A y B. Experimentalmente ha sido posible, usando suero anti-A obtenido de conejo, aglutinar los espermatozoides A de un eyaculado AB, pudiendo separar luego, por centrifugación, los espermatozoides B no aglutinados, los cuales se encontraron flotando libres. Actualmente se sabe que estos antígenos de los grupos sanguíneos, no se originan de la célula espermática, sino que son absorbidos por el espermatozoide debido al contacto con el plasma seminal. De estos experimentos salen a la luz ciertas interrogantes, las cuales deben ser aclaradas. Entre ellas, si el espermatozoide contiene sus propios antígenos, si los adquiere del plasma seminal o ambos.

Algo que se debe tomar muy en cuenta es la barrera hemato-testicular y la espermatogenesis. ¿Sabía Ud. que el semen pudiera ser dañino para la salud? Gracias a la barrera hemato-testicular esto no llega a ocurrir. El cuerpo adquiere su vocabulario inmunológico antes del nacimiento y reconoce los tejidos del “*el mismo*”. El sistema de histocompatibilidad controlado genéticamente, funciona en este sentido. Sin embargo el esperma es producido durante la pubertad, mucho tiempo después del reconocimiento a “*el mismo*”. Antígenos proteicos, a los cuales el cuerpo jamás ha sido expuesto, son sintetizados en los testículos, durante la espermatogénesis. Los antígenos extraños o “no propios” aparecen principalmente en la espermática en los estadios secundarios de la espermatogenesis.

La barrera hemato-testicular protege o enmascara a estos antígenos espermáticos, de tal manera que su presencia no sea detectada por las células encargadas de la vigilancia inmunológica (macrófagos, linfocitos). La barrera hemato-testicular está formada por células sustentaculares o de Sertoli que rodean los túbulos seminíferos, las cuales se encuentran conectadas unas a otras en una unión muy estrecha, resultando en un aislamiento del compartimiento adluminal que contiene las espermáticas-espermatocitos primarios del compartimiento basal que contiene las espermatogonias. La ruptura de esta barrera, por ejemplo por un trauma (laceración por alambre de púa, trauma acompañado de hematoma), resulta en la exposición de los antígenos espermáticos al sistema inmunológico trayendo como resultado una inmunorespuesta humoral y celular, la cual trae como consecuencia una destrucción de todos los componentes tubulares, excepto las células sustentaculares (Sertoli) y las espermatogonias. A esta condición se le conoce con la denominación de orquitis azoospermica autoinmune (5). Esto viene a representar la forma natural, mas no la experimental, tal como lo realizaron Voisin *et al* y Freund *et al* hace cincuenta años [3].

Los antígenos presentes en el epidídimo se cree que tienen influencia en la maduración del espermatozoide. Tan pronto como el espermatozoide es arrastrado dentro y a través del lumen del epidídimo, son inmediatamente protegidos del sistema inmunológico. Muy raras veces ellos dejan el lumen y entran al epitelio del epidídimo, excepto en aquellos casos de obstrucción del epidídimo o después de una vasectomía. Sin embargo, en un toro con función anormal del epidídimo, se observó en los ductos deferentes una fagocitosis epitelial bastante frecuente de los espermatozoides anormales.

El epidídimo del toro secreta y absorbe muchas sustancias involucradas en la maduración del espermatozoide. Tanto el espermatozoide como los fluidos seminales del epidídimo son antigénicos y los anticuerpos inducidos, se han utilizado para el estudio de la maduración normal en el epidídimo del semental. Las células secretorias no ciliadas, identificadas a través de la técnica de inmunofluorescencia, fueron localizadas en el ducto eferente en la porción de la cabeza del epidídimo. Estas proteínas específicas para la esperma fueron emanadas de los testículos. Se cree que la secreción y la absorción de estos antígenos seminales están involucrados en la adquisición de la motilidad y la fertilidad del espermatozoide.

Otro aspecto a considerar desde el punto de vista inmunológico y de capital importancia es el papel de los antígenos seminales en la capacitación del espermatozoide. El semen del toro es una mezcla de secreciones de las glándulas sexuales accesorias y la células de los testículos. Antigénicamente es un líquido complejo. En el esperma de los toros y en el fluido seminal que los baña a ellos, se encuentran varios antígenos seminales. Los antígenos que cubren el esperma se encuentran adsorbidos en la superficie del esperma mas que formando parte de los constituyentes de la membrana intrínseca del espermatozoide. El primer paso para la capacitación involucra la remoción de estos antígenos, exponiendo los antígenos específicos del espermatozoide y que son intrínsecos a él, que son parte de la membrana del espermatozoide o están contenidas en ella. Estos antígenos están involucrados en la fertilización y en la remoción de la esperma del tracto genital.

La capacitación específicamente involucra alteraciones de la membrana plasmática de la esperma en preparación para la reacción del acrosoma. La capacitación comienza con la remoción de la cubierta de proteínas seminales, adquirida por la célula espermática durante el tránsito epididimal o absorbida del plasma seminal en el momento de la eyaculación. Hoy en día se ha identificado un epítipo o determinante en la membrana, cuya expresión cambia con las condiciones de la capacitación *in vitro*. El bloqueo de este epítipo de la membrana plasmática del bovino con un anticuerpo monoclonal específico previno la fertilización de la zona libre de oocitos de hámster.

Los antígenos presentes en las glándulas accesorias del tracto reproductivo del macho han sido estudiados y muestran diferencias. Las propiedades inmunológicas de los espermatozoides obtenidos de los testículos o del epidídimo difieren grandemente de aquellos espermatozoides obtenidos del eyaculado. En la actualidad se ha determinado la existencia al menos de tres antígenos específicos del plasma seminal que tenían su origen en la próstata y dos que parecen originarse en las vesículas seminales. Uno de los antígenos proveniente de la vesícula seminal parece ser la lactoferrina, la misma proteína portadora de hierro que aparece en otras secreciones del cuerpo, mas no en plasma sanguíneo. Se ha pensado que esta proteína cubre al espermatozoide y lo inmoviliza. Los estudios realizados con antígenos de las vías espermáticas, llegaron a la conclusión de que existen al menos cuatro antígenos específicos en el plasma seminal y tres antígenos plasma específicos en el tracto espermático del eyaculado. Para la época esto

no estaba muy claro y se pensó que todos estos antígenos eran de origen prostático y de la vesícula seminal.

V. ASPECTOS INMUNOLÓGICOS DE RELEVANCIA EN LA HEMBRA

Las inmunoglobulinas del tracto genital femenino han sido descritas al inicio de este documento. Se ha determinado que las principales clases de inmunoglobulinas son la IgA, IgG y la IgM, teniendo cada una funciones inmunofisiológicas diferentes. Estudios posteriores describen un cuarto anticuerpo contra el espermatozoide. Este anticuerpo produce la lisis permitiendo la fijación del complemento, denominándose "IgG lenta". El efecto de los anticuerpos sobre los espermatozoides ha sido siempre el centro de atracción para los inmunólogos. En un estudio realizado se reportó que en tres de 48 mujeres infértiles se detectaron anticuerpos en el moco cervical [1], aunque todas las pacientes tuvieron pruebas post-coitales anormales, mostrando inmovilización del espermatozoide. ad fue principalmente contra el plasma seminal. Otro tipo de anticuerpos encontrados en el tracto genital femenino, son las aglutininas hemáticas cervicales, las cuales parecen ser independientes de las hemoaglutininas séricas. Ahora bien, el hecho de que las hemoaglutininas ABO sean detectadas en el genital femenino no puede utilizarse como criterio para establecer incompatibilidad de los grupos ABO como causa de infertilidad humana.

A través de los estudios que caracterizaron a los anticuerpos del moco cervical se determinó que la localización de los anticuerpos sobre los espermatozoides seguía ciertos patrones, los cuales fueron demostrados, utilizando técnicas de inmunofluorescencia. Se determinó que existían 4 diferentes patrones de tinción en el espermatozoide. Estos patrones fueron: (1) Tinción del acrosoma incluyendo el segmento ecuatorial; (2) Tinción del segmento ecuatorial en forma bien demarcada (banda fluorescente a través de la cabeza del espermatozoide); (3) Tinción del área post-nuclear (detrás del área ecuatorial) y (4) Tinción de la cola. Estos investigadores también describen combinaciones de estos patrones descritos. La tinción del área post-nuclear fue la menos frecuente con tan solo 1%. De este experimento se estableció una titulación según la intensidad de la tinción adquirida por los espermatozoides. La presencia de bajos títulos de tinción (< 4) se consideró inespecífico debido a que todos los grupos probados mostraron tinción. Títulos altos (> 16) fueron considerados significativos y se encontraron mas frecuentemente en el suero de mujeres infértiles en los grupos control.

Otro aspecto inmunológico que ha venido tomando relevancia son los estudios acerca de los antígenos y anticuerpos en los folículos estruales y quísticos. Los antígenos específicos para el ovario, sus folículos u óvulos, pueden jugar un papel importante en la maduración del óvulo, la ovulación, fertilización y el período de pre-implantación. Se han realizado estudios de algunos de estos antígenos, uno de ellos denominado Thy-1 es el responsable del desarrollo de folículos en el antro, otro se le ha denominado OX-2 y esta relacionado con aquellos folículos que no crecen. En la actualidad se ha determinado que el número de folículos en una especie dada es constante, quizás debido a que la cantidad de antígenos

Thy-1 son limitados y por lo tanto, solo es capaz de mantener un número finito de tejido folicular.

Los ovarios bien sea normales o quísticos poseen nueve antígenos compartidos, de los cuales dos son específicos para el ovario. Los dos antígenos específicos para el ovario fueron detectados con antisuero para ovarios en estro o quísticos, mas no con antisuero para ovarios no estruales. Estos antígenos se encontraron en mas alta concentración en ovarios estruales que en ovarios quísticos y fueron localizados en la zona pelúcida del oocito bovino a través de técnicas de inmunofluorescencia y luz dispersa; también se determino su reacción cruzada con el tejido prostático. Estos antígenos específicos del ovario se caracterizaron por presentar determinantes antigénicos diferentes de aquellos reportados o aislados en la zona pelúcida. Actualmente se ha hipotetizado que el incremento de la concentración de estradiol durante el estro alteró la permeabilidad de la pared del folículo desenmascarando un antígeno de la zona pelúcida en el folículo pre-ovulatorio. La aparición de este antígeno previo y no-expuesto durante el estro puede conducir a una respuesta parecida a la inflamatoria, la cual inicia la ovulación. Mas aún, se ha hipotetizado que el sistema inmunológico regula el tiempo de ovulación por sus efectos fisiológicos sobre la gonadotropinas y esteroides.

La concentración de IgG en el fluido folicular bovino cambia significativamente durante el ciclo estroal. La mayor concentración se consigue durante el estro. Por otro lado, en el folículo quístico, donde el volumen de líquido es mas grande que durante el estro, la concentración de IgG fue equivalente a la del estro. Debido a que la actividad de los anticuerpos residen en la molécula de IgG, el líquido folicular se convierte en un vehículo para transportar anticuerpos a través del lumen de las trompas de falopio y el útero en el momento de la ovulación. Estos anticuerpos pudieran tener un efecto potencial bien sea beneficioso o adverso sobre la fertilización y en la mortalidad embrionaria precoz.

La glándula timo puede actuar como un efector para la diferenciación de los linfocitos y para el mantenimiento de un balance inmune entre la función normal de las células T y B. La timentomía neonatal en ratones de 2 a 4 días de edad provocó una disgenesia ovárica, caracterizada por una infiltración de linfocitos y una perdida rápida de oocitos. Los estudios inmunológicos de estos ratones han demostrado la producción de autoanticuerpos circulantes contra el ooplasma del oocito. La aparición de estos anticuerpos estuvo marcadamente correlacionada con el desarrollo de ooforitis autoinmune .

Otro aspecto que debemos tomar en cuenta es la participación inmunológica en la fecundación. En 1954 se publicó un artículo [8] donde se describe que el óvulo no fecundado se encuentra rodeado de una sustancia denominada fertilizina (fz); por otro lado el espermatozoide lleva en su superficie una sustancia denominada anti-fertilizina (Afz). El papel de la fertilizina del óvulo y la anti-fertilizina del espermatozoide es promover una reacción de combinación que capacite al esperma a adherirse a la superficie del óvulo. La reacción es altamente específica; la fertilizina de una especie no reacciona con la anti-fertilizina de otra especie, excepto una pequeña o leve reacción, cuando las especies se relacionan cercanamente. Esta es una de las razones por las cuales especies diferentes son improductivas. La

fertilizina del óvulo también puede ser considerada como un sistema de control para seleccionar el espermatozoide que va a fecundar el óvulo. La fertilizina que se encuentra libre en el canal genital se adhiere a la célula espermática interrumpiendo su motilidad. Cuando toda la fertilizina libre se haya agotado al adherirse a los espermatozoides, solo uno de los sobrevivientes, lograra llegar al óvulo y fecundarlo. Esta es una de las razones por las cuales individuos y sementales con baja concentración de espermatozoides presentan problemas en la concepción.

Algo que ha llamado siempre la atención a los investigadores es ¿ porque el feto no es rechazado durante la gestación ? a pesar de tener una constitución diferente (padre-madre) al de la madre. Salomon (1971) en su obra *Foetal and Neonatal Immunology* explica la presencia del feto en el útero como un injerto homologo (aloinjerto) o sea que proviene de un animal genéticamente diferente pero de la misma especie. El feto posee histocompatibilidad antigénica derivada del padre y estos antígenos son suficiente fuertes para dotar al feto con el status antigénico de un aloinjerto. Aún así, el feto bajo condiciones normales, no es rechazado y permanece en íntima relación con la circulación maternal, a través de la placenta. Aún en las múltiparas, las cuales se han sensibilizado altamente a los antígenos paternos, su preñez procede en forma normal en la mayoría de los casos, excepto cuando haya una alta incidencia de sangrado uterino. Cuatro posibles razones dan la explicación, acerca de este extraordinario fenómeno: a) el útero podría ser un sitio inmunológicamente privilegiado; a lo cual el concluye que no lo es, pero que existe la posibilidad de que sea un sitio, el cual pueda dispensar una cierta "excepción inmunológica" por virtud de la habilidad de las células deciduales de secretar fibrinoide; b) la preñez podría estar acompañada de alguna reducción en la capacidad inmunológica de la madre; todavía no esta claro si la tolerancia es inducida por el espermatozoide que entra en la vagina y el útero o en forma alterna por el feto que se esta desarrollando; se cree que una razón es debido a que las hembras se vuelven tolerantes al antígeno de histocompatibilidad H-Y. Mas tarde desarrollaremos la participación de la inmunosupresión y como puede esta ayudar a explicar parte de lo establecido en este punto; c) otra hipótesis es que los antígenos de histocompatibilidad son débilmente expresados por el tejido fetal; estudios realizados sugieren que la habilidad de las células de la placenta para sensibilizar pudiera, en efecto, ser debido a antígenos de histocompatibilidad en las células linfoides de la circulación fetal, presentes en la placenta en el momento de su remoción. Aunque las células "estructurales" alineadas en las paredes de la unión materno-fetal, pudieran no tener sus antígenos de histocompatibilidad expresados en su superficie, debido a estar enmascarado por una capa fibrinoide, también es cierto que un gran numero de linfocitos circulantes en la placenta son inmunogénicos; d) pudieran existir barreras anatómicas separando la circulación maternal de la fetal; una de estas barreras esta representada por la capa fibrinoide, la cual esta formada tanto como por el trofoblasto no-invasivo (células gigantes) y células deciduales y ambas en su unión parecen establecer un ejemplo único de protección inmunológica. Esta barrera anatómica puede proteger al feto del rechazo de madres que han sido previamente sensibilizadas a células fetales que escapan durante el parto.

La unión feto-placenta puede ser considerada como un aloinjerto. Aunque los antígenos derivados paternalmente, son expresados, el feto no es rechazado por el sistema inmune de la madre. El éxito de un feliz término de la preñez, depende del balance inmunológico entre la madre y su feto. El concepto tiene que escapar del inmunorechazo, pero también debe atenerse a cierto grado de inmunocompetencia, incluyendo la capacidad de diferenciar entre sí mismo y lo extraño.

Algo bastante relacionado con el punto anterior y que ha tomado interés en los investigadores es la inmunosupresión. El tracto reproductivo de la hembra es expuesto durante el coito a muchos antígenos conocidos. El potencial antigénico proviene principalmente del esperma, plasma seminal, componentes del dilutor a base de yema de huevo, microorganismos y restos celulares de origen masculino. Aunque los antígenos seminales bovinos evocan respuestas inmunológicas fuertes en especies diferentes (heterólogas) como el conejo y el ratón, ellas son rara vez auto antigénicas o isoantigénicas. El endometrio uterino de la mayoría de los mamíferos superiores se encuentra abundantemente dotado de linfáticos y parece tener todos los pre-requisitos para enviar, bien sea células sensibilizadas por antígenos o células inmunocompetentes sensibilizadas periféricamente a los nodulos linfáticos de drenaje. Una sugestión sobre porque este sistema linfático sintetizador de anticuerpos no pudiera estar activado, es que el plasma seminal del bovino tiene actividad inmunosupresiva hacia los linfocitos involucrados en las inmunoreacciones. Otro sitio potencial donde podría ocurrir isoimmunización del esperma es el cervix. Sin embargo, las secreciones cervicales del bovino también contienen sustancias inmunosupresivas.

En la hembra bovina, tanto las hormonas como los componentes de los fluidos foliculares regulan la función inmunológica. Los inmunólogos están interesados en estudiar el efecto de las secreciones ováricas sobre el sistema inmune debido a que: a) las hembras tienen aumentada la inmunorespuesta, la resistencia a las infecciones y el predominio de enfermedades autoinmunes; b) hay debilitamiento de la inmunorespuesta maternal durante la preñez y c) la gonadectomía aumenta la inmunorespuesta en ambos sexos. Los estrógenos, progestágenos y andrógenos son los principales supresores del sistema inmune mediado por la célula. Las células del timo son reguladoras de la respuesta inmune mediada celularmente, de las funciones de las células que tienen origen en la bursa y la fagocitosis. Los estrógenos suprimen la actividad de las células T supresoras. En la ausencia de células T supresoras y en la presencia de células T colaboradoras, las células B producen autoanticuerpos contra el oocito. Sin embargo rara vez hay formación de autoanticuerpos contra el oocito, aún cuando la zona pelúcida es un potencial autoantígeno. Se ha demostrado *in vitro* que anticuerpos contra la zona pelúcida del bovino pueden prevenir que el esperma se adhiera y penetre la zona.

El oocito se encuentra rodeado por fluido folicular. El fluido folicular bovino se encuentra parcialmente compuesto de secreciones del folículo y parcialmente de exudado plasmático. El líquido folicular es importante en la fisiología del ovario, incluyendo la esteroidogenesis, crecimiento del folículo, ovulación, maduración del oocito y traslado del oocito al oviducto. El fluido folicular del bovino

posee una actividad inmunosupresora hacia los linfocitos T del bovino. Debido a que esta actividad inmunosupresiva es lábil al calor, los estrógenos, la progesterona y otros esteroides fueron descartados como moléculas inmunosupresoras activas. El papel de estas sustancias inmunosupresoras se ha hipotetizado en la prevención de la formación de autoanticuerpos contra la zona pelucida y en la reacción inflamatoria que conduce a la ovulación

La detección de la preñez temprana a través de inmunoreacciones es otro reto que persigue el veterinario especialista en reproducción. La presencia de un embrión después del día 16 es necesario para que el cuerpo lúteo escape de la lisis y permanezca para el mantenimiento de una preñez temprana. Los investigadores han buscado un método serológico para la proteína específica de la preñez del bovino que pueda ser usado para la detección de la preñez temprana [7]. En humanos se ha utilizado anticuerpos para LH o para gonadotropina coriónica humana (hCG) y en la yegua se ha utilizado anticuerpos contra el suero de yegua preñada (PMS) para determinar la preñez temprana. Posteriormente se desarrolló un inmunoensayo específico para la proteína B de la preñez en el suero de la vaca; esta proteína placentaria fue detectada en suero maternal tan temprano como a los 24 días después de la concepción, siendo la preñez detectada más temprano y de forma más acertada con este método que con el método rutinario de palpación rectal. Esta proteína también fue utilizada para demostrar cual de los servicios infértiles fueron debido a fallas de la fertilización o a muerte embrionaria precoz. Aunque las concentraciones de proteína B son detectables durante el periodo temprano postparto, después del día 70 postparto, más del 95% de estas hembras no tenían proteína B específica de la preñez en concentraciones detectables.

Otro nuevo antígeno indicativo de preñez en el ganado se ha aislado, purificado, caracterizado y a través del uso de anticuerpos mono y policlonados se han utilizado para detectar preñez en ganado. Con este antígeno se pudo detectar la preñez a los 25 días y el pico alcanzó los 65 días.

VI. EVIDENCIAS CLÍNICAS DE LA EXISTENCIA DE INFERTILIDAD DEBIDO A PROCESOS INMUNOLÓGICOS

En los casos de incompatibilidad de los grupos sanguíneos ABO entre parejas infértiles, se han reportado investigaciones en 108 parejas infértiles, las cuales no tenían causa de infertilidad fisiológica o anatómica. La incidencia de incompatibilidades de grupos ABO se notó más alta en los grupos infértiles comparado con los grupos normales. Sin embargo en un estudio de 6.553 parejas subfértiles se encontró que no había diferencia en la distribución de los grupos ABO sanguíneos entre esposos y esposas. Esto no se reportó entre los animales quizás por falta de información y es quizás difícil por la gran variedad de grupos sanguíneos existente.

La infertilidad por autoinmunidad en el macho se ha postulado que es debida a la extravasación de espermatozoides hacia el intersticio o dentro de los vasos linfáticos del epidídimo lo que daría acceso a los espermatozoide a la circulación e induciría una inmunorespuesta donde participan anticuerpos aglutinantes an-

tiespermatozoides. La vasectomía es una técnica poco utilizada en humanos en nuestro país para el control de la natalidad, pero ampliamente difundida entre los animales. Esta técnica estimula la producción de anticuerpos contra el espermatozoide provocando lesiones testiculares y azoospermia. La patogénesis que se desencadena después del contacto de antígenos del espermatozoide y anticuerpos es el traslado y acúmulo de leucocitos dentro de los túbulos seminíferos y los túbulos de la *rete testis*, impidiendo el pasaje del esperma hacia el epidídimo. En los grupos experimentales, los toros mostraron anticuerpos aglutinantes e inmovilizantes en el suero 1 a 2 semanas después de la primera inmunización. A través de electroforesis e inmunodifusión se determinó que en los espermatozoides de los toros existían al menos tres inmunógenos. En forma similar y utilizando anti-suero de conejo se reportó la existencia de tres antígenos específicos para el esperma en el semen de los toros, lo cual sugiere que los antígenos específicos del semen son también auto-antígenos. Cuando están presentes los anticuerpos anti-esperma, la fertilización es eficazmente prevenida debido a la presencia de macrófagos, los cuales fagocitan el complejo. Una terapia a base de corticosteroides ha sido utilizada para el tratamiento de pacientes con infertilidad causada por mecanismos inmunológicos. Los corticosteroides interfieren en la detección, por parte del macrófago, de las células espermáticas cubiertas de anticuerpos. Esto sucede debido a la disminución de la producción de anticuerpos y al efecto que ejercen estas drogas sobre el antígeno, lo cual trae como consecuencia el desprendimiento del anticuerpo de la superficie de la célula espermática, que representa el antígeno en este caso.

La isoimmunización de la hembra al esperma ha sido mencionada con anterioridad y estudiada ampliamente en humanos, quizás por la manifestación propia de las parejas de los problemas que presentan. En veterinaria en vista que los animales no pueden expresar los problemas que padecen, todo queda en la capacidad de observación del profesional veterinario y en la investigación que este realice en el rebaño. Existen reportes de la existencia de anticuerpos aglutinantes contra los espermatozoides en el moco cervical de vacas repetidoras en servicio bajo condiciones de campo. Los títulos de aglutinación fueron mas altos contra el esperma de determinados toros, que fueron utilizados para servir aquellas vacas, que con el semen de otros toros. Resultados similares se reportó con el suero de las vacas [6]. Posteriormente se demostró que el suero sanguíneo de vacas repetidoras aglutinaba e inmovilizaba mucho más a los espermatozoides de toros, con los cuales estas vacas habían estado un tiempo considerablemente largo que a los espermatozoide de toros que no habían servido a estas vacas. Por otro lado, se ha reportado que cuando las vacas son inseminadas con semen procedente de toros con títulos de alta aglutinación, los animales fallan en concebir; sin embargo estas vacas pudieron quedar preñadas al ser inseminadas con semen de toros que presentaban títulos bajos. Se comenta, que a pesar de que la literatura cuestiona el hecho de que los anticuerpos seminales afectan la fertilidad, se puede establecer, que si los anticuerpos son contra los antígenos específicos del esperma, la vaca probablemente será infértil. Se debe aclarar que la infertilidad debido a esta condición, es rara y no es causa mas importante de vacas repetidoras.

Cuando se incorporaron las técnicas de inseminación a la reproducción, no solamente el tracto genital de la hembra fue expuesto a semen isoantigénico, sino que también a antígenos potenciales que generalmente van incluidos en los dilutores tales como yema de huevo, antibióticos y enzimas. Experimentalmente, se ha logrado inducir la formación de anticuerpos contra estos componentes del dilutor a través de la inmunización de vacas con dilutores [6]. Inseminaciones repetidas de semen con dilutor a base de yema de huevo, indujeron a la formación de anticuerpos séricos contra la yema en 48% de las vacas inseminadas de una a tres veces y el 58% en aquellas inseminadas hasta cuatro veces. También se encontró anticuerpos contra la yema en el moco vaginal en 72% y 87% de esas vacas respectivamente; bajo condiciones de campo, los anticuerpos no se indujeron por lo menos hasta llevar a cabo hasta cuatro inseminaciones repetidas.

El uso de la congelación de semen con hielo seco, es aún utilizada en lugares donde es difícil obtener nitrógeno líquido, las vías de penetración son de difícil acceso o por motivos económicos. La estabilidad de la proteína en un medio acuoso depende en parte de su unión al contenido de agua; la remoción de esta agua puede conducir a la alteración de la estructura de la proteína y de sus funciones. La congelación y descongelación del semen puede traer como consecuencia la pérdida de agua y por ende una alteración de la estructura de la proteína seminal, ocasionando una inseminación no exitosa. En la actualidad se ha reportado una tasa de efectividad de un 29% con un semen congelado en hielo seco, con una humedad residual de 6%; sin embargo no se obtuvieron preñeces con semen congelado en hielo seco que tenían 2% de humedad residual.

Existen métodos inmunológicos que pueden ser utilizados para monitorear la estabilidad de los espermatozoides y las proteínas seminales en el proceso de congelación y descongelación con hielo seco. La ausencia de fertilidad con semen congelado con hielo seco con 2% de humedad residual se ha hipotetizado que puede deberse a la alteración de la estructura terciaria de ciertas proteínas seminales esenciales. La inmunorrespuesta del tracto genital a las enfermedades infecciosas ha sido también diversificada; entre las enfermedades infecciosas de las cuales se tienen registrados datos de comportamiento inmunológico se encuentran las causadas por microorganismos como *Campylobacter fetus*, *Corynebacterium pyogenes*, *Chlamydia psittaci*, *Haemophilus somnus* y el *Herpes bovino tipo 1*. La inmunorrespuesta varía con la variedad de organismos presentes en las diferentes partes anatómicas, sin embargo generalmente las infecciones de la vagina y del prepucio inducen a la formación de IgA con muy poca participación de la inmunidad celular. En los casos donde la infección del tracto es más profunda, se provoca un incremento de IgG en el moco y la participación de la inmunidad mediada por la célula, especialmente en aquellas infecciones causadas por virus. La inmunización con estos organismos, no necesariamente confiere protección al tracto reproductivo.

Indudablemente el hombre a través de su participación para mejorar las técnicas de reproducción ha incorporado cambios que funcionan bien, aunque esto no ocurre en todos los animales.

VII. LITERATURA CITADA

- [1] Beer, A.E. Neaves, W.B. 1978: Antigenic Status of Semen from the Viewpoints of the Female and Male. *Fertility and Sterility*. Vol. 29. Nº 1.
- [2] Bellvé, A.E., Moss, S.B. 1983. Monoclonal Antibodies as Probes of Reproductive Mechanisms. *Biology of Reproduction*. Vol. 28, 1-26.
- [3] Chase, M.W. *Immunoreproduction: Concepts of Immunology*. *Biology of Reproduction*. Vol. 5.
- [4] Corbeil, L.B., Winter, A.J. 1978 Animal Models for Study of Genital Secretory Immune Mechanisms: Venereal Vibriosis in Cattle. In: *Immunobiology of Neisseria gonorrhoeae*. Brooks, G.F., Gotschlich, E.C. and Holmes K.K. (Eds). Washington DC. ASM Publication.
- [5] Davajan, V., Nakamura, R.M., Saga, M.: Role of Immunology in the Infertile Human.
- [6] Hunter, A.G. 1972. Immunological Aspects of Reproduction Associated with Repeat Breedings. *Proceedings of 4th Technical Conference. Animal Reproduction and Artificial Insemination*. National Ass'n. of Animal Breeders. pp 2.
- [7] Shaw, F.D., Morton, H. 1980. The Immunological Approaches to Pregnancy Diagnosis: A Review. *The Vet. Record*. Vol. 106. 268-269.
- [8] Tyler, A. 1954. Fertilization and antibodies. *Scientific American*. June.
- [9] Vaermann, J.P., Ferin, J. 1974. Local Immunological Response in the Vagina, Cervix and Endometrium. *Karolinska Symposia on Research Methods in Reproductive Endocrinology*. 7th Symposium: Immunological Approaches to Fertility Control. July 29-31.
- [10] Winter, A.J. 1982. Microbial Immunity in the Reproductive Tract. *J.A.V.M.A.* Vol. 181 Nº 10.