870127

15
2ej

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANTICUERPOS ANTIESPERMATOZOIDES COMO FACTOR DE INFERTILIDAD; SU DETERMINACION EN SUERO, SEMEN Y MOCO CERVICAL.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A

GRACIELA LOPEZ DE NAVA TORRES

Asesor: Q.F.B. María del Socorro Pulido García

GUADALAJARA, JALISCO 1986

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

Pág.

1.- INTRODUCCION.
1.1 Incidencia de Infertilidad..... 1
1.2 Breves Datos Históricos..... 2
2.- GENERALIDADES.
2.1 Causas de Infertilidad..... 4
2.1.1 Aspectos Elementales de la Fisiología de la Reproducción..... 5
2.1.2 Clasificación de las Causas de Infertilidad..... 8
2.1.3 Valoración Diagnóstica..... 14
2.2 Mecanismos Inmunológicos..... 18
2.2.1 Antígenos del semen..... 19
2.2.2 Condición Antigénica del semen desde el punto de vista femenino..... 25
2.2.3 Condición Antigénica del semen desde el punto de vista masculino..... 31
2.2.4 Efectos Patológicos de la Respuesta Inmune..... 36
2.2.5 ¿Quiénes deben ser examinados para la búsqueda de Anticuerpos Antiespermatozoides? 38
2.2.6 Pronóstico y Tratamiento..... 40
3.- METODOLOGIA.
3.1 Selección de las muestras..... 43
3.1.1 Toma y Tratamiento de las diferentes muestras..... 43
3.2 Métodos..... 44
3.2.1 Técnicas de Prediagnóstico..... 45
3.2.2 Técnicas de Diagnóstico Inmunológico... 49
3.2.3 Diagrama de Flujo..... 62
4.- RESULTADOS..... 63
5.- COMENTARIOS Y CONCLUSIONES..... 76
6.- BIBLIOGRAFÍA..... 80

1.- INTRODUCCION

1.1 Incidencia de Infertilidad.

Se hace patente la extensión del problema de Infertilidad humana, cuando se considera que del 10 al 15 % de todas las parejas en la edad reproductiva no pueden concebir aún después de uno o más años de tener relaciones sexuales sin practicar un método anticonceptivo. Los médicos que atienden a las parejas estériles, continúan teniendo el problema de no poder documentar de manera adecuada si cada etapa del proceso de reproducción está funcionando normalmente en ambos miembros de la pareja.

El análisis y pruebas seminales que indican la capacidad del esperma para penetrar el moco cervical; la medición de los efectos de la progesterona (que ayudan a documentar la ovulación), constatan el funcionamiento del proceso a diferentes niveles, pero además, nuevas pruebas de Anticuerpos Antiespermatozoides parecen revelar la razón de la esterilidad en algunas parejas sanas. (11).

A pesar de que la patología inmunológica como causa de esterilidad es casi siempre ignorada o relegada al final del estudio de la pareja infértil (cuando no se encuentra patología causal o cuando hay patología cervical o masculina sugestiva de esta etiología), la incidencia de la misma varía entre el 2 y el 18 % dependiendo del método y criterios diagnósticos utilizados y de la población estudiada, según lo demuestran diversas series publicadas. (3, 4,5,8,9,12).

1.2 Breves Datos Históricos.

La historia de la inmunología espermática, inicia desde antes del presente siglo, cuando la inmunogenicidad del espermatozoide fué demostrada, primero en sistemas heterólogos independientemente por Landsteiner (1899) y Metchnikoff (1899) y un poco después en un sistema homólogo por Metalnikoff (1900). Sin embargo, el interés en la inmunidad contra el espermatozoide como una causa posible de infertilidad, no fué evidente hasta 1954, cuando Rumke y Wilson en estudios independientes, detectaron autoanticuerpos espermáticos con actividad aglutinante e inmovilizante en el suero de algunos hombres infértiles. En los estudios de Wilson, se observó autoaglutinación de espermatozoides en el eyaculado de los pacientes y deficiencia en la penetración del moco cervical. (42)

Posteriormente, se encontró una alta incidencia de actividad aglutinante espermática en el suero de mujeres con esterilidad de causa desconocida. Estos hallazgos han sido confirmados con estudios posteriores, aunque la incidencia de patología inmunológica es menor de lo que se había calculado inicialmente, ya que en la actualidad se puede descartar la aglutinación debida a factores no inmunológicos.

La inmunidad hacia el esperma es de interés porque:

a) La autoinmunidad envuelve antígenos organoespecíficos de extraordinaria fuerza inmunológica.
b) Puede ser estudiada en modelos animales, y
c) Hay evidencia de que anticuerpos a ciertos antígenos del espermatozoide pueden ejercer efectos pató

genos causando infertilidad. (42)

Los objetivos de este trabajo son:

1.- Establecer la importancia de la búsqueda de Anticuerpos Antiespermatozoides como un medio útil de diagnóstico en los casos de parejas infértiles quienes han sido sometidas a estudios previos y cuya causa de infertilidad no ha podido ser determinada.

2.- Señalar que la ocurrencia de autoanticuerpos en hombres de parejas infértiles no es un fenómeno raro.

3.- Correlacionar los resultados obtenidos durante los exámenes básicos de rutina, con la presencia de anticuerpos antiespermatozoides en cualquiera de los miembros de la pareja.

4.- Demostrar que los anticuerpos antiespermatozoides, pueden ser detectados mediante pruebas simples.

2.- GENERALIDADES

2.1 Causas de Infertilidad.

Según la Sociedad Americana de Fertilidad, "Infertilidad"es la ausencia de concepción en una pareja que ha tenido relaciones sexuales por un año, sin protección anticoncepcional. (45); subfertilidad es un término sinónimo. En nuestro país se denomina "Esterilidad" a la incapacidad total para concebir. "Fecundidad" es la capacidad para participar en la concepción de un niño. La infertilidad se puede clasificar como Primaria cuando existe la incapacidad sin tener antecedentes gestacionales, o Secundaria cuando aparece la incapacidad después de uno o dos embarazos exitosos.

Aproximadamente el 15 % de las parejas en nuestro país, están afectadas por este tipo de problemas (5). La infertilidad se está convirtiendo en un problema médico y social, progresivamente mayor, debido a las presiones del mundo moderno, la tendencia a posponer los embarazos por períodos prolongados, el empleo indiscriminado de técnicas anticonceptivas; además, la prevalencia actual de las enfermedades venéreas da lugar a infertilidad en un número cada vez mayor de mujeres.

Los factores causales de disminución de la fertilidad en una pareja, variarán de acuerdo a la población de que se trate, ya que, por ejemplo, la patología tubaria es más frecuente en grupos de bajo nivel socioeconómico, mientras que problemas como endometriosis y anovulación son más frecuentes en clases de nivel más alto. (45)

La capacidad de fecundación depende sobre todo de la edad de los integrantes de la pareja, de la frecuencia del

coito y de la duración de la actividad sexual sin anticoncepción. En la mujer, esta capacidad es máxima a los 24 - años aproximadamente, declina ligeramente de los 24 a los- 30 y después en forma rápida. En el hombre, la capacidad- de fecundación es máxima también a los 24 - 25 años. Una- frecuencia de coito de cuatro a cinco veces por semana, - se asocia con la capacidad de fecundación máxima.

Cuanto más tiempo haya transcurrido sin que una pareja logre fecundación, mayor será el grado de declinación - de la tasa de concepción, independientemente de la edad de los participantes y la frecuencia del coito.

Un plan diagnóstico exhaustivo identificará una o más causas de infertilidad aproximadamente en 90% de las parejas y el tratamiento adecuado permitirá el embarazo en 40% de las parejas tratadas. Es por eso, que hay buenas razones para iniciar la valoración diagnóstica y el tratamiento adecuado.

Hay tres propósitos fundamentales en una valoración - de infertilidad:

(1) Determinar sus causas.
(2) Llegar a un pronóstico.
(3) Servir de base para establecer tratamiento. (44)

2.1.1 Aspectos elementales de la Fisiología de la Reproducción.

Es necesario conocer los factores que intervienen en la fertilidad normal, para así poder entender las posibles

alteraciones.

Es por eso, que a continuación se describe en una -- forma sintética estos factores : (45)

- La producción de un número suficiente de espermatozoides normales y con buena motilidad, en un líquido seminal - adecuado. Lo cual implica la ausencia de infecciones o- enfermedades sistémicas, así mismo la no exposición a - factores que interfieren en la producción espermática, - como son los stress, el exceso de trabajo, los tóxicos,- etc.

- Transporte de los espermatozoides por los conductos masculinos hasta la vagina y cérvix en un tiempo oportuno - para la fertilización. Migración posterior por la cavidad endometrial hasta la porción distal de las trompas.- Para lo cual es necesario la permeabilidad y funcionalidad tubaria y una buena calidad espermática que permita- la supervivencia durante ese lapso.

- Crecimiento y desarrollo de un folículo ovárico con ovulación normal. Se requiere para esto, ovarios normales- y una interrelación hormonal bien sincronizada.

- Transporte del óvulo a la porción distal de la trompa y- fertilización. Se requiere un buen funcionamiento tubárico, además de una correcta permeabilidad, y de la coexistencia de espermatozoides y óvulo en un momento preciso.

- Transporte del huevo fecundado al endometrio y nidación- del mismo. Es necesario un buen funcionamiento tubárico

un endometrio previamente preparado y una adecuada pro-- ducción hormonal.

- Crecimiento del producto fecundado. Existen múltiples - factores internos y externos que pueden alterar el desarrollo del mismo.

2.1.2 Clasificación de las Causas de Infertilidad (37). *

GENERALES	DEL DESARROLLO	ENDOCRINO	ENF. GENITALES
Femeninas			
Alteraciones dietéticas; - anemias graves ansiedad, te-- mor, etc.	Ausencia o Hipoplasia del útero, anomalías- uterinas; disgenesia- gonadal.	Insuficiencia Hipofisiaria, alteraciones- tiroideas; hi perplasia su- prarrenal; in suficiencia - ovárica; en-- fermedad poli quística.	Inflamación pólvi ca; tuberculosis; obstrucciones tu- barias; endometrio sis; miomas y póli pos; cervicitis va ginitis; enfermeda des venéreas.
Masculinas			
Fatiga, exceso en el fumar,- alcohol, coi- tos excesivos miedo, impo-- tencia.	Falta de descenso - testicular; aplasia- germinativa testicu- lar; Hipospadias; - síndrome de Klinefel ter.	Insuficiencia hipofisiaria; deficiencias- tiroideas; hi pofisiarias,- suprarrenal.	Orquitis por paro- tiditis, enfermeda des venéreas, pros tatitis.
Masculinas y Femeninas.			
Desajustes ma- ritales; pro-- blemas sexua-- les; ignoran-- cia (sincroni- zación, utiliza ción de duchas pérdida de sé- men); bajo índi ce de fertili- dad; Incompatibilidad inmunológica.			

(+) NOTA: La clasificación anterior, puede no ser aplicable en la práctica, por lo que en el siguiente cuadro se presenta una más útil.

Esta es la clasificación funcional, es mejor, porque se correlaciona con los procedimientos diagnósticos utilizados en la valoración de la infertilidad:

Clasificación funcional de las causas de infertilidad (37):

Tiempo:	Transporte:
Programación y sincronización del coito.	Masculino
Frecuencia del Coito.	Del coito
	Femenino.
Sémen:	Deficiencia en el transporte cervical.
Espermatozoides	Deficiencia en el transporte uterino.
Otros componentes del eyaculado.	Deficiencia en el transporte tubario.
Huevo:	"Incubadora" (Disfunción endometrial).
Crecimiento y desarrollo de óvulos viables.	Otros problemas:
Ovulación.	Padecimientos endócrinos generales
Implantación.	
Funcionalidad del cuerpo lúteo.	Enfermedades Generales (como la Diabetes Mellitus).

TIEMPO

Al contrario de la opinión popular, el coito sin protección inclusive en época de preovulación, por lo general-

no produce embarazo (37). En parejas que no utilizan métodos anticonceptivos, aproximadamente el 25 % logran un embarazo en el primer mes, el 63 % en 6 meses, el 75 % en nueve meses y el 80-90 % en un año.

Posteriormente, mientras mayor sea el tiempo transcurrido, menores serán las probabilidades de concepción sin tratamiento. (45)

Cuando todas las condiciones son ideales para el embarazo, 42% de los ciclos menstruales no permiten la concepción, 16% dan lugar a huevos que terminan en aborto y 42 % producen huevos normalmente fertilizados. Si una mujer presenta ausencia de una menstruación, sus posibilidades de embarazo normal son de 72 % y las de aborto de 28 %.

SEMEN

Para que ocurra fecundación el hombre debe producir un número suficiente de espermatozoides normales, móviles, en un eyaculado constituído por secreciones normales, móviles, en un eyaculado constituído por secreciones adecuadas de las glándulas genitales asociadas. (37)

A continuación se indican las posibles causas etiológicas de las anomalías del estudio del sémen. (45)

ANOMALIAS	ETIOLOGIA
Cantidad anormal	
Azoospermia	Síndrome de Klinefelter y otros trastornos genéticos.

ANOMALIAS	ETIOLOGIA
	Síndrome de sólo células de Sertoli. Falla Testicular. Hipogonadismo hipogonadotrófico. Tumor hipofisiario. Obstrucción. Varicocele. Factores exógenos Prostatitis, epididimitis.
Oligospermia.	Trastornos genéticos. Endocrinopatías. Trastornos tiroideos. Hiperprolactinemia. Deficiencia aislada de gonadotrofinas. Varicocele. Prostatitis u otras infecciones. Suspensión de la maduración . Hipospermatogénesis. Factores exógenos.
Volúmen anormal. Sin eyaculación.	Eyaculación retrógrada. Ausencia de eyaculación. Hipogonadismo hipogonadotrófico. Falla testicular.
Bajo volúmen	Obstrucción de los conductos eyaculatorios.

	Eyaculación parcial retrógrada.
	Factores desconocidos.
Volúmen aumentado	Factores Desconocidos.
Motilidad anormal	
	Autoanticuerpos.
	Infección.
	Varicocele.
	Alta viscosidad del sémen.
Viscosidad anormal	
	Etiología desconocida.
Morfología anormal	
	Varicocele.
	Stress.
	Factores endógenos.
Células extrañas.	
	Eritrocitos, leucocitos,- infección.
Aglutinación del esperma	Autoanticuerpos.
	Infección.

HUEVO

No puede ocurrir embarazo sin la ovulación de un ovocito que se implante con éxito y después sea mantenido así - por un cuerpo lúteo con una función adecuada. Los procesos hormonales asociados con la maduración folicular, ovulación y formación del cuerpo lúteo tienen efectos importantes sobre todo el aparato reproductor femenino. La fertilidad sólo es posible cuando todas las partes de este aparato fun--

cionan de tal manera que la producción hormonal sea adecuada, los folículos se desarrollen y maduren, ocurra ovulación con regularidad, y existan condiciones óptimas para el mantenimiento de un óvulo fertilizado, como son un cuerpo lúteo y un sitio de implantación adecuados.

TRANSPORTE

Los mecanismos de transporte del sémen y los espermatozoides en la reproducción humana son complejos. Ambos deben transcurrir por los conductos accesorios del hombre y ser eyaculados adecuadamente del pene. Debe ocurrir el coito de tal manera que se deposite el sémen dentro o cerca del cuello. En la mujer, el transporte inicial del sémen ocurre en el moco cervical, que es modificado en forma importante por la presencia o ausencia del estrógeno y progesterona. (37) Este factor cervical ocupa un lugar muy importante, ya sea como identidad única, o formando parte de casos de patología múltiple simultánea. A pesar de esto, es uno de los factores menos conocidos, ya que no existe una estandarización en los métodos de evaluación y el límite entre lo normal y lo patológico, no está bien definido. (45)

Además de su función de transporte, el cérvix participa en la nutrición y capacitación de los espermatozoides, trabaja como filtro previniendo el ascenso de aquellos anormales. Las incompatibilidades inmunológicas pueden manifestarse como anomalías del transporte cervical. Además de ésto, el factor cervical puede ser alterado por: problemas anatómicos (ej. estenosis cervical, procesos obstructivos, etc.), problemas inflamatorios (ej. cervicitis), alteraciones hormonales.

El transporte uterino de los espermatozoides es un fenómeno poco entendido. El oviducto transporta los espermatozoides hacia el ovario al mismo tiempo que moviliza al óvulo en sentido opuesto, función que es alterada fácilmente por infecciones previas y adherencias concomitantes o por procesos inflamatorios como las endometriosis.

"INCUBADORA"

Virtualmente, en todos los embarazos que llegan a término, la cavidad endometrial sirve como "incubadora" del óvulo fertilizado. Las infecciones endometriales o una incapacidad del endometrio para responder adecuadamente a la estimulación endócrina del ovario pueden dar lugar a infertilidad. La deformación de la cavidad endometrial por miomas submucosos, sinequias o anomalías congénitas uterinas es una causa frecuente de aborto espontáneo del primer trimestre, no así de infertilidad. (37).

OTROS PROBLEMAS

Los padecimientos endócrinos generales como el hipotiroidismo o una función deficiente o exagerada de la corteza suprarrenal pueden dar lugar a infertilidad.

2.1.3 Valoración Diagnóstica.

Debido a que la infertilidad es un problema de la pareja, ambos integrantes deben presentarse a la consulta inicial. El hombre puede aportar valiosos datos para la historia clínica, y su participación le hace enfrentar el problema y aumentar su interés al respecto.

Es necesario resumir los datos obtenidos de múltiples

valoraciones simultáneas, así como los recabados en los interrogatorios. Es por eso que para cada pareja se elabora una hoja de trabajo como un informe global registrando en-ella los resultados del estudio de cada uno de los facto--res implicados en el proceso de la fecundación.

En la mujer, la valoración debe iniciarse con una historia clínica incluyendo exploración física integral, en - la cual se pondrá especial interés en las características-sexuales secundarias.

Los estudios básicos de rutina en el laboratorio de--ben incluir VDRL, biometría hemática, velocidad de sedimentación globular, exámen general de orina, TSH sérica. (45)

En el hombre, la valoración debe iniciarse con una espermatobioscopía. En presencia de normalidad en dicho - exámen, la mayor parte de las anomalías adicionales en el-hombre probablemente carezcan de importancia. Sin embargo cuando aquella es anormal, debe hacerse una valoración más a fondo; la historia debe incluír cualquier antecedente de padecimiento genital, diabetes mellitus, exposición a sustancias tóxicas o a radiaciones, etc. Asímismo, deberá - efectuarse una exploración física, lo que descartará la - presencia de enfermedad general, endocrinopatía, valorar - características sexuales secundarias, y detectar anomalías congénitas.

Los exámenes de laboratorio iniciales, deben incluir: VDRL, biometría hemática, velocidad de sedimentación, exámen general de orina, estudio de la secreción prostática,- y TSH sérica.

OTROS ESTUDIOS DE LABORATORIO Y DE GABINETE: (37,45)

Mujer:

- Prueba Postcoital (evalúa la interacción entre el factor espermático y el cervical (transporte cervical)).

- Biopsia Endometrial (evalúa la respuesta del endometrio a las influencias hormonales, e indirectamente valora la función del cuerpo lúteo).

- Valoración del huevo:
  a) Presencia de ovocitos.
  b) Ovulación (se valora por los siguientes efectos biológicos de la progesterona: temperatura corporal basal, endometrio secretorio, tensión premenstrual, moco cervical espeso, citología vaginal).
  c) Función del cuerpo lúteo.

- Valoración del transporte tubario, por medio de las siguientes técnicas:
  Insuflación útero-tubaria con CO_2
  Histerosalpingografía.
  Laparoscopía (indicada también para identificar endometriosis y adherencias).

Hombre:

- Espermatobioscopía (movilidad, morfología, número y transporte de los espermatozoides).

- Exámen de secreción prostática.

Después de realizados todos los estudios comprendidos en los párrafos anteriores, el médico deberá organizar los resultados e indicar en caso de que sea necesario, algún - (os) exámen (es) adicionales, como es el caso de que se -- presenten resultados como los siguientes:

Espermatobioscopía normal
Exámen Post coital anormal

Otros estudios de gabinete y laboratorio = normales.

En este momento se deberá indicar la búsqueda de anti cuerpos antiespermatozoides en ambos miembros de la pareja.

2.2 Mecanismos Inmunológicos.

Considerando los diversos mecanismos que pueden operar en problemas de infertilidad espontánea, puede segregarse un grupo de pacientes de quienes decimos sufre de "infertilidad inmune".

El sistema multicelular inmune está compleja y delicadamente balanceado. La activación vía células receptoras por antígenos específicos, causan dos respuestas inmunes distintas, celular y humoral, las cuales defienden al organismo contra la invasión por virus, bacterias, parásitos y en algunos casos, células neoplásicas. Sin embargo, las respuestas inmunes no siempre sirven a los mejores intereses del individuo, y algunas veces pueden causar respuestas adversas incluyendo la reacción anafiláctica, hipersensibilidad, y desórdenes autoinmunes. En años recientes, se ha demostrado que el sistema inmune juega también un papel importante en la regulación de la fertilidad. Cuando se refiere a un grupo de personas que sufren de infertilidad inmune, hablamos de que su fertilidad ha sido grandemente reducida por la ocurrencia de la actividad de anticuerpos contra el espermatozoide, y que ésta podría bien reflejarse en una larga demora en el tiempo requerido para lograr un embarazo. Esta respuesta inmune puede ocurrir ya sea en el hombre o en la mujer. En ambos, pueden formarse una variedad de anticuerpos contra el espermatozoide así como contra los constituyentes del plasma seminal. Los anticuerpos son comúnmente clasificados como: esperma-aglutinantes y esperma-inmovilizantes. Esta actividad de anticuerpos, puede ser detectada por un número de métodos, incluyendo aglutinación, inmovilización, inmunofluorenscencia, como principales y de mayor interés.

Es también verdad, que la aparente demostración de anticuerpos no siempre es una demostración de anticuerpos actuales; podría haber resultados falsos positivos debido a una aglutinación no específica.

2.2.1 Antígenos en el Sémen.

En publicaciones recientes (22), Jones ha descrito al sémen humano, como una "pesadilla antigénica", esta consideración es justa, porque debido a la composición del sémen y a las consecuencias de las reacciones inmunológicas hacia él, ha sido necesario dividir los antígenos seminales en dos grupos y considerarlos por separado para su estudio. En forma general, tenemos a los que se encuentran en el plasma seminal (provenientes de las secreciones de glándulas accesorias de la reproducción y en pequeña proporción del fluído epididimal), y además aquellos que están ligados a los espermatozoides. (44)

Estas sustancias son inmunogénicas, ya que su formación ocurre después del desarrollo del sistema inmune y, por otro lado, se encuentran separadas de la circulación sistémica por la barrera hematotesticular. (45)

Aquellos que son únicos del plasma seminal, tienen una relevancia incierta en cuanto a la inducción de infertilidad inmune se refiere. Se ha señalado que el plasma seminal contiene proteínas séricas así como antígenos específicos producidos por las glándulas anexas. Entre las proteínas séricas, están albúmina, transferrina e inmunoglobulinas (IgG e IgA), las últimas comprenden cerca del 1% de la concentración sérica. Estas probablemente entren al fluído seminal por difusión vía próstata. Sin embargo,

evidencia indirecta indica la posible síntesis local de IgA. (44)

Un pequeño número de componentes del plasma seminal han sido señalados como autoantigénicos en conejos y cobayos. Estos antígenos del plasma seminal, pueden encontrarse sobre los espermatozoides y entonces son llamados "antígenos recubridores del espermatozoide". Estos antígenos están ausentes del esperma epididimal, pero son la causa de una reacción cruzada entre espermatozoides eyaculados y plasma seminal, (44); estos componentes del plasma seminal se absorben firmemente sobre la superficie de el espermatozoide y no pueden ser separados por lavado. (42)

La no inmunogenicidad de estas sustancias en hombres, es notable, como antígenos recubridores están entre los más potentes inmunógenos en inmunización heteróloga, además anticuerpos contra antígenos recubridores, han sido descritos en mujeres infértiles. Ocasionalmente, algunas mujeres han desarrollado reacciones anafilácticas a una glicoproteína presente en el plasma seminal.

El principal antígeno recubridor en sémen humano, es la lactoferrina, que es secretada por las vesículas seminales y que tiene por función ser una proteína fijadora de fierro. (45)

Se han encontrado también que antígenos del sistema sanguíneo ABO, pueden ser adsorbidos sobre el espermatozoide a partir del fluído seminal; así como antígenos de histocompatibilidad del sistema HL-A. Pero al parecer, ninguno de ellos desempeña un papel importante en casos de infertilidad.

Consecuentemente, sólo los antígenos del espermatozoide deben ser considerados, pero aún así, nos enfrentamos con un amplio espectro.

Normalmente, sólo los antígenos de superficie en espermatozoides vivos son accesibles para los anticuerpos, y por lo tanto, significativos para la infertilidad.

La respuesta inmune hacia los antígenos de subsuperficie pueden jugar un papel, pero el efecto de tal respuesta podría ser indirecto, y podría ocurrir sólo si el espermatozoide degenera y pierde sus antígenos en el organismo masculino (permitiendo la formación y deposición de complejos inmunes). Tales condiciones con contínua pérdida de antígenos espermáticos, podrían sucederse después de una vasectomía. (42)

La siguiente tabla muestra los principales antígenos espermáticos y sus características principales:

(*) AUTOANTIGENOS DEL ESPERMATOZOIDE (42) .

Antígenos	Localización y caracterización del antígeno.	Antígeno en Espermatozoide vivo, accesible para el anticuerpo.	Autoanticuerpo de significancia para infertilidad inmune.
1.-Antígenos de Membrana	Dos glicoproteínas en cabeza y tallo. Un antígeno en la cola.	sí	sí (Cuando se presenta en plasma seminal).
2.-Enzimas Espermáticas; LDH-X	Area postacrosomal, membrana y plasma seminal.	sí	No conocido pero posible.
Acrosina	Acrosoma, incluyendo región ecuatorial.	no	No conocido pero dudoso.
Hialurodinasa.	Acrosoma	no	No conocido pero dudoso.
DNA polimerasa.	Núcleo y plasma seminal.	no	No conocido..
3.-Proteínas Nucleares	Protaminas 1 y 2 en núcleo del espermatozoide.	no	No
4.-Varios antígenos de superficie, caracterizados por su localización.	Acrosoma (2 antígenos), segmento ecuatorial, área postnuclear, pieza mayor, cola del tallo.	no	No

(*) NOTA: Las pruebas de la presencia de auto o isoantígenos en los espermatozoides, provienen de estudios clínicos en pacientes infértiles en quienes se ha encontrado que sus espermatozoides reaccionan específicamente con tales antígenos.

Anticuerpos aglutinantes, inmovilizantes y citotóxicos detectados en técnicas que usualmente requieren espermatozoides móviles, reconocen los antígenos ligados a la membrana.

Diferentes tipos de aglutinación sugieren la existencia de distintos antígenos de membrana en la cabeza, el tallo, y la cola del tallo. Por inmunofluorescencia en espermatozoides fijos, los antígenos pueden ser reconocidos en el citoplasma y el núcleo.

Diferentes técnicas de tinción, tales como acrosomal, ecuatorial, postnuclear, pieza media, y tallo, señalan también la diversidad de autoantígenos.

Al ser detectados por la técnica de inmunofluorescencia, se ha visto que se encuentran confinados en los humanos, en los estados más maduros de la espermatogénesis.(38)

ANTIGENOS DE SUPERFICIE: Se afirma que son usualmente organoespecíficos. El problema principal para la investigación de los antígenos de membrana, es su insolubilidad en medio acuoso. Es necesario para su solubilización, la presencia de detergentes, pero en su presencia, las pruebas convencionales que requieren células vivas, no pueden ser empleados. (42)

Entre estos se encuentran:

a) El antígeno mayormente patógeno, es una glicoproteína medianamente grande soluble en agua, y localizada en el acrosoma; induce la formación de anti-cuerpos inmovilizantes, además tiene reacción cruzada con microorganismos.

b) Un segundo antígeno también derivado del acrosoma, es menos frecuente que el anterior, menos patogénico, es también una glicoproteína, induce anticuerpos precipitantes, no puede ser obtenido en forma soluble.

c) El tercer antígeno, es el único que puede inducir anticuerpos esperma-aglutinantes y esperma-inmovilizantes.

d) El cuarto antígeno es un componente menor y no ha sido muy estudiado. (9)

Entre las enzimas de los espermatozoides, sólo la Deshidrogenasa Acido Láctico específica del esperma (LDH-X), se ha visto que esté presente por sí misma en la superficie del espermatozoide intacto. Pero se encuentra también libre en el plasma seminal del cual la enzima humana ha sido aislada. Es obviamente, un pobre inmunógeno en machos.

ANTIGENOS DE SUBSUPERFICIE: Estos pueden ser enzimas esperma-específicas, proteínas nucleares o varios tipos de antígenos, caracterizados por su localización. Estos no juegan un papel en la infertilidad en varones. Algunos de estos antígenos no son esperma-específicos., pero son sus-

tancias que sufren reacciones cruzadas con ciertas bacte-- rias y tejidos humanos. (42)

Se han encontrado anticuerpos contra protamina, aisla da como proteína nuclear del espermatozoide, estos anti- - cuerpos tienen reacciones cruzadas con protamina de otras- especies, tales como el salmón. La presencia de anticuer- pos aglutinantes de espermatozoides del tipo antiprotamina se correlaciona con altos niveles de anticuerpos aglutinan tes en suero.

2.2.2 Condición Antigénica del Sémen, desde el punto de vista Femenino.

A través de la actividad sexual, el tracto reproduc-- tor femenino, es inoculado repetidamente con millones de - espermatozoides inmunogenéticamente extraños, una minoría- de otro tipo de células (incluyendo leucocitos), y el com- plejo que contiene las proteínas del plasma seminal secre- tados por los órganos reproductores accesorios especializa dos del varón. Aparte del efecto obvio de embarazo, los - posibles efectos inmunológicos de esta exposición de la mu jer a una multiplicidad de antígenos del sémen de su pare- ja, han sido sujetos de repetidas investigaciones, así co- mo de grandes especulaciones.

RAMA AFERENTE DE LA RESPUESTA INMUNE: La introducción de un antígeno extraño en el tracto reproductivo, ha sido señala- do como causante de evocar tanto respuesta inmune local, co mo sistémica, en el huésped. En la mayoría de los mamífe-- ros, incluyendo el hombre, la submucosa del tracto genital- femenino, está abundantemente dotado de linfocitos, macrófa

gos, y vasos linfáticos. La deposición de material antígenico en el tracto reproductivo femenino, inicia la rama -- aferente del "arco reflejo inmune". (6)

Los requerimientos específicos para una rama aferente intacta del arco reflejo inmune son:

(1) Antígeno específico (celular, químico o particulado).
(2) Linfocitos reactivos específicos del antígeno.
(3) Macrófagos funcionales que residan en un órgano - linfático (folículo linfático o nódulo linfático)
(4) Y una ruta intacta vascular o linfática.

Una vez que el antígeno es depositado en el tracto reproductivo, hay una reproducción de macrófagos, polimorfonucleares y linfocitos dentro de la cavidad endometrial.

El antígeno es tomado y procesado por los macrófagos, que en turno, deben presentar los determinantes antigénicos enfocados, a los linfocitos reactivos del antígeno, - que son capaces de reconocer aquellos determinantes extraños por virtud de receptores específicos en la membrana superficial de estas células. El acoplamiento del antígeno- con los receptores de membrana de los linfocitos reactivos, completa la rama aferente del arco reflejo inmune, y establece la condición de la subsecuente división y diferenciación de los linfocitos reactivos del antígeno, en linfocitos sensibilizados, o células plasmáticas productores de - anticuerpos. Estos últimos eventos, constituyen el Proceso Central.

PROCESO CENTRAL: Este ocurre en un medio microinducti

vo apropiado de un folículo linfoide, un nódulo linfático, o el bazo. Aquí el linfocito T reactivo del antígeno, - - accionado por el antígeno específico, se divide. La progenie celular resultante, son llamados Linfocitos efectores. Estas células, responsables de las reacciones de inmunidad mediada por células, circulan en la sangre del huésped, y-algunas retornan al sitio de estimulación antigénica para-convertirse en linfocitos residentes efectores, y de memoria dentro del estroma uterino.

Otra población de Linfocitos T accionados por el antígeno entran en disposición de colaborar con una clase separada de linfocitos, llamado Linfocitos B. Los linfocitos-B cuando son confrontados con el antígeno, presentados por el macrófago y ayudados por una cierta clase de linfocitos T llamados "Ayudantes", proliferan y se diferencían en células plasmáticas maduras capaces de secretar varias cla--ses de anticuerpos inmunoglobulínicos, IgM,IgG,IgD,IgE,IgA. Otros linfocitos T accionados, se diferencían en mediado--res (células) químicos, que producen las llamadas linfocinas. Algunos linfocitos B circulan y producen anticuerpos específicos en la sangre, otros retornan al sitio de estimulación antigénica, por ejemplo, el tracto reproductivo,-se convierten en residentes ahí y secretan anticuerpos locales en las secreciones reproductivas. La principal inmunoglobulina producida ahí, son IgG e IgA.

La concentración local de una de estas inmunoglobulinas (IgA) excede su concentración en suero.

La concentración de IgG en secreciones de el tracto - reproductivo, es bastante menor que aquella en el suero. - El proceso central es completado cuando la división celu--

lar y diferenciación en respuesta al antígeno, han alcanzado el punto en el cual las moléculas de anticuerpos específicos son producidos sistémica y localmente,, y los linfocitos T efectores, así como los linfocitos de memoria, - están presentes en la sangre y en los tejidos en cuestión. (6)

RAMA EFERENTE: Una vez que los mediadores de inmunidad celular y humoral han sido generados, el arco reflejo-inmunológico es completado por medio de la rama eferente. La interacción de los linfocitos o de los efectores celulares con el antígeno presentado en la sangre, o en el órgano donde el antígeno fué primeramente presentado, resulta-en su destrucción y/o inactivación. (6)

Inmunidad Local en el tracto reproductivo:

Así como otros de superficies mucosas, los tejidos y-secreciones del tracto reproductivo de la mujer, contienen anticuerpos, células productoras de anticuerpos, así como-otras células linfoides, macrófagos y linfocitos T.

Estas células linfoides residentes protegen un sistema abierto al medio externo con inmunidad no necesariamente bien representada en la sangre del individuo.

Es obvio que el coito no conduce normalmente a una -- respuesta inmune funcionalmente adversa, esto es una rama-eferente efectiva.

Sin embargo, el cérvix uterino, parece ser el principal sitio de actividad inmunológica secretoria en el tracto genital femenino. El endometrio uterino y las trompas-

de Falopio, pueden también participar en una extensión limitada, pero la vagina es probablemente inactiva.

La inmunización local (intravaginal) con antígenos experimentales, resulta en una respuesta específica de anticuerpos en el moco cervical. (22)

En condiciones normales, la cantidad de estímulo inmunogénico puede ser manejada por las células fagocitarias - sin iniciar respuesta inmune; además el plasma seminal contiene prostaglandinas E y algunas fracciones protéicas con propiedades inmunosupresoras.

Por el lado contrario, existen varios factores que - tienden a estimular la respuesta inmune, como las infecciones virales y las microbianas del tracto genital femenino, que actúan como coadyuvantes, haptenos, o modificadores de los antígenos, o pueden causar aumento en la permeabilidad de la mucosa y permitir una mayor absorción de antígenos - espermáticos. A su vez, las infecciones pueden modificar- los componentes inmunosupresores del plasma seminal incluso, los mismos agentes infecciosos pueden inducir la formación de anticuerpos que tengan reactividad cruzada con los espermatozoides. (45)

El cérvix está adecuadamente equipado con células plasmáticas y moco cervical conteniendo inmunoglobulina, al menos parte de la cual es secretada localmente. (22) La IgA-secretoria es la inmunoglobulina más común en las secreciones del cérvix, útero y trompas de Falopio. IgG e IgM raramente están también presentes. La relación IgA: IgG en moco cervical es mucho más alta que en suero.

Aunque varios componentes del complemento han sido encontrados en moco cervical, la cascada completa de los componentes del complemento no son constituyentes normales de las secreciones del tracto reproductivo. Se le da importancia a la presencia o no del complemento, porque de los anticuerpos específicos contra el espermatozoide, aquellos cuya función es inmovilizarlo, requieren para tal acción, la presencia de componentes esenciales del complemento. Pero además, encontramos que el sémen tiene potente actividad anticomplementaria capaz de neutralizar los componentes complementarios que pudieran encontrarse en el moco cervical. (6)

Aún sin embargo, la operación de inmunidad local puede ser influenciada por los siguientes factores:

(1) Gran número de espermatozoides son introducidos en la vagina, es posible que sólo la minoría genéticamente seleccionada, gane acceso a las trompas de Falopio y que estas sean inmunológicamente diferentes de la mayoría residual.

(2) Los espermatozoides son fagocitados por células somáticas del cérvix uterino así como por macrófagos y neutrófilos.

(3) Otros antígenos extraños ganan acceso al tracto genital y pueden tener efecto de adyuvante. Por ejemplo la respuesta inmune hacia los antígenos espermáticos, puede ser exagerada en presencia de infecciones vaginales.

(4) Los linfocitos en el sémen podrían contribuir a la inducción en la mujer, de esterilización hacia antígenos

de histocompatibilidad de la pareja masculina,

(5) Podría haber factores presentes que modificaran la respuesta inmune hacia el espermatozoide. Estos incluyen prostaglandinas E, la cual es inmunosupresora, y varios glicoproteínas del plasma seminal las cuales también tienen propiedades inmunosupresoras. Además, el plasma seminal ejerce un fuerte efecto anticomplementario, parte del cual al menos, podría ser debido a precipitinas dirigidas contra componentes del complemento. (22)

En la mitad de un ciclo de una mujer normal, cuando el espermatozoide puede penetrar el moco cervical, hay pocos linfocitos en el útero. Una infección puede cambiar este panorama. Cuando un DIU es usado como método de contracepción, hay un influjo de células blancas que ingieren espermatozoides; este influjo podría ser responsable por la eficacia de este anticonceptivo. Si estos macrófagos presentan antígeno a las células B, podrían influenciar la producción de anticuerpos antiespermatozoides, lo cual sugiere que el nivel de anticuerpos locales o aún sistémicos, podrían ser más común en mujeres que usan o han usado DIU.

2.2.3 Condición Antigénica del sémen, desde el punto de vista masculino.

El sémen es un complejo congregado de células y secreciones elaborados por el tracto reproductivo masculino, para la fertilización del óvulo. De principal importancia en esta mezcla de células --el espermatozoide-- es secretado por los testículos.

Auxiliado en varios y desconocidos caminos por los - - otros constituyentes del sémen, un inmenso número de espermatozoides atraviesan un formidable cúmulo de obstáculos y sufren extremos agotamientos en una jornada a través del - tracto reproductivo femenino rumbo a la unión con el óvulo que espera. Esta sucesiva jornada, para llegar a su fin,- requiere muchos millones de espermatozoides eyaculados que tengan motilidad progresiva y vigorosa. Igualmente esen-- cial es la habilidad del espermatozoide para arrivar a la- vecindad del óvulo para interaccionar con este blanco hasta que uno de ese número, participe en la formación de un- cigoto.

Entre los millares de caminos en los cuales el proceso de reproducción podría obstruirse, es la posibilidad de infertilidad inmunológica en el varón. Ya que los constituyentes únicos del sémen, hacen su aparición un poco tarde- en la vida de un individuo, algunos de ellos son potencialmente autoantigénicos.

Bajo circunstancias apropiadas, un individuo podría - ser capaz de montar una respuesta inmunológica hacia los - elementos de su propio sémen. Así, hay evidencia de que - tal respuesta ocurre ocasionalmente en el caso de espermatozoides y sus antígenos asociados.

Además, las manifestaciones de autoinmunidad hacia el- espermatozoide pueden incluír, interferencia con el potencial migratorio de estas células, y presumiblemente con su habilidad para alcanzar el óvulo. Por lo tanto, parece - probable que la autoinmunidad a ciertos constituyentes del sémen, podrían ser un factor en infertilidad masculina.

AUTOINMUNIDAD AL ESPERMATOZOIDE E INFERTILIDAD MASCULINA: Consideraciones teóricas sugieren que autoinmunidad hacia el espermatozoide podría comprometer la fertilidad masculina en por lo menos tres áreas fundamentales; interferencia con la producción de número normal de espermatozoides, reducción en el potencial migratorio del espermatozoide y daño en la interacción del espermatozoide con el óvulo.

La interferencia autoinmune con la espermatogénesis normal puede ser inducida en animales de laboratorio con antígenos específicos de espermatozoides. Hallazgos experimentales han llevado a la teoría de que algunas manifestaciones clínicas de oligo o azospermia no obstructivas podrían ser atribuídas a la auntoinmunidad al esperma. Un soporte hacia esa posibilidad, ha sido las demostraciones de una alta incidencia de inmunidad mediada por células contra el espermatozoide en hombres con azo ú oligospermia comparados con aquellos en hombres normales. También ha sido demostrada una alta incidencia de inmunidad humoral en estos hombres. (6)

La segunda categoría de infertilidad inmunogógica en el varón, la reducción de la capacidad migratoria del espermatozoide, tiene significancia tanto práctica como teórica. Ningún embarazo se ha producido de inseminaciones artificiales cuando sémen de donador normal es mezclado con plasma seminal del esposo que tenía grandes niveles de inmunoglobulinas y complemento, produciendo aglutinación e inmovilización del esperma del donador. (6)

La tercera categoría, el daño en la interacción del espermatozoide con el óvulo, es enteramente especulativa.

ANTICUERPOS CONTRA ESPERMATOZOIDES EN SUERO Y SEMEN: - La aparente asociación de esperma-aglutininas en suero con infertilidad, no indica en sí que estos anticuerpos jue- - guen un papel en el proceso patogénico. Un compromiso claro requeriría que los anticuerpos estén presentes en el sémen así como en el suero. Sin embargo, títulos altos en - el suero nó necesariamente implica que estos anticuerpos - se encontrarán en el sémen donde la interacción con el espermatozoide puede ocurrir. Algunas clases de autoanti-- cuerpos circulantes contra el espermatozoide, particular-- mente aquellos de la clase de IgM, no pueden ser detecta-- dos en sémen.

Otra clase de anticuerpos séricos, tales como aquellos de la clase IgG, ocurren en sémen, presumiblemente por - - transudación de la circulación hacia las secreciones de la glándula prostática. Estos anticuerpos son usualmente responsables de la aglutinación espermática de cabeza-tallo.- La fuente de IgA que está presente en el sémen, hasta hoy- es controversial. La secreción local ha sido necesaria para explicar los casos ocasionales en los cuales los títu-- los de espermaglutininas son más altas en sémen que en suero, y donde las espermaglutininas del plasma seminal pertenecen al orden de las IgA, mientras que las del suero son- del tipo IgG o IgM.

AUTOINMUNIZACION ESPERMATICA: Ya que el espermatozoide posee autoantígenos, es necesario preguntarse porqué la autoinmunidad hacia el espermatozoide rara vez posee una - amenaza hacia la fertilidad masculina. Una parte sustan-- cial de la respuesta la encontramos en un mecanismo aislado que sirve de doble función, de prevenir el escape de antígenos del tracto reproductivo en el medio de el huésped,

y provenir la entrada de anticuerpos y células inmunes en el tracto del huésped en el caso de una sensibilización accidental. El mecanismo de aislamiento es un sistema de uniones que sellan el epitelio de recubrimiento de los túbulos y ductos del tracto y sistema reproductivo masculino. Estas uniones herméticas, normalmente forman una barrera hacia la difusión intercelular que protege al individuo de la sensibilización a sus propios antígenos espermáticos.

La barrera puede ser rota por trauma, enfermedad, y obstrucción de los túbulos o ductos. En tales circunstancias, la incidencia de sensibilización a los autoantígenos espermáticos, es bastante significativa. La vasectomía es un ejemplo de la obstrucción de ductos, que lleva a una alta incidencia de autoanticuerpos contra el espermatozoide, del tipo circulantes. En tales casos no es necesario que el espermatozoide completo escape del ducto; el egreso de antígenos solubles a través del epitelio dañado, puede ser suficiente para sensibilizar al individuo.

Los detalles del proceso por medio del cual la obstrucción del tracto genital inicia la adquisición de inmunidad hacia el espermatozoide, aún no son muy claros, presumiblemente, los antígenos previamente secuestrados, escapan de los tubos distendidos e interaccionan con el sistema inmune del huésped hasta que las manifestaciones humorales o celulares, de la sensibilización al espermatozoide son excitadas. (6,22,38,42)

El hombre puede producir anticuerpos contra sus propios espermatozoides, ya que el inmunosistema no reconoce estos antígenos como parte del cuerpo. Durante la etapa de reconocimiento de "sí mismo", en la época fetal avanzada y en

el período neonatal temprano, no ha comenzado el desarrollo de los espermatozoides; sólo durante la pubertad es evidente la presencia de antígenos espermáticos los cuales nó serán secuestrados hasta que ellos nó se encuentren con las células del sistema inmune. En el adulto "intacto", cerca de la mitad de los espermatozoides producidos nunca son eyaculados pero son reabsorbidos en el epidídimo; aún así, ningún estímulo antigénico alcanza el sistema inmune. No es sino hasta que debido a un trauma o enfermedad del tracto genital, los antígenos sufren extravasación y resulta una autosensibilización. (39)

2.2.4 Efectos Patológicos de la Respuesta Inmune.

En el hombre, la autoinmunidad contra espermatozoides, puede causar infertilidad de dos maneras: por los efectos directos de los anticuerpos sobre los espermatozoides, o por interferir con la espermatogénesis normal, lo cual causa oligospermia y azospermia. Dentro de la primera categoría, podríamos citar ejemplos como el que la autoaglutinación en el eyaculado, provoca que los espermatozoides queden atrapados en acúmulos, lo cual origina que queden pocas células libres para migrar dentro del moco cervical; otra situación que cabe mencionar, es que cuando hay presentes en el suero esperma-aglutininas, los espermatozoides se encuentran cubiertos con anticuerpos contra los componentes de su membrana, dañando la buena interrelación esperma-moco cervical, y así disminuyendo la capacidad de penetración del espermatozoide sobre el moco cervical. (42) Hablando de la segunda categoría, cabe mencionar que los experimentos que se han efectuado en animales de laboratorio, en los cuales por medio de inmunizaciones específicas se ha inducido interferencia sobre la espermatogénesis nor

mal. (6)

En la mujer, la esterilidad de origen inmunológico puede ser causada por los siguientes mecanismos:

1.- Los anticuerpos locales pueden armar a los macrófagos, y aumentar la limpieza fagocítica de espermatozoides del tracto genital femenino. (6)

2.- Pueden encontrarse presentes tanto en el tracto genital como a nivel sérico, anticuerpos inmovilizantes que pueden ser citotóxicos para el espermatozoide, en el caso de niveles adecuados de los componentes de la cascada del complemento se encuentres presentes. (45)

3.- Inhibición de la penetración de los espermatozoides a través del canal cervical. Los anticuerpos antiespermáticos, especialmente de la clase IgA secretoria, inhiben el proceso de penetración al causar la combinación de los espermatozoides con las fibras del moco; también pueden alterar la motilidad flagelar y causar pobre penetración. (6,45)

4.- Inactivación de las enzimas espermáticas acrosomales.- Estas enzimas son necesarias para que el espermatozoide penetre a través del "cumulus oophorus", corona radiada y zona pelúcida para fertilizar el óvulo. (6,45)

5.- Inhibición de la adherencia espermática a la membrana ovular. En estudios animales, se han encontrado anticuerpos que impiden la adherencia de los espermatozoides a la zona pelúcida y a la membrana vitelina. (45)

6.- Inducción de mortalidad embrionaria. Se han demostrado reacciones cruzadas entre antígenos de espermatozoides y embriones antes de la implantación, en animales de laboratorio y en ellos se ha encontrado una mayor incidencia de muerte embrionaria y aborto espontáneo, de los cuales se infiere que esto puede suceder en mujeres. (45,6)

7.- Los anticuerpos locales, bajo circunstancias normales, podrían jugar un importante papel en la selección espermática. (6)

2.2.5 Quiénes deben ser examinados para la búsqueda de Anticuerpos Antiespermatozoides.

Hasta hace poco, la demostración de Infertilidad Inmunológica en una pareja sin otro diagnóstico más que "Infertilidad de Causa Desconocida", era de interés principalmente para evaluar las posibles oportunidades de concepción, sin embargo, como ahora es posible el tratamiento para tales pacientes, la demostración de anticuerpos antiespermatozoides contra los antígenos de membrana del espermatozoide, puede ser decisivo en la elección de el tratamiento, y las pruebas para buscar tales anticuerpos deben ser consideradas parte de cualquier investigación completa de parejas infértiles dónde ninguna otra explicación para la infertilidad ha sido encontrada.

Cerca del 16% de las parejas con infertilidad inexplicable, se han visto que presentan cualquiera de sus miembros o en ocasiones ambos, anticuerpos contra el espermatozoide, lo cual puede explicar su infertilidad y además ha-

ce justificable probar a este grupo. (10)

¿Cuándo los médicos deberán enviar al (os) paciente (s) para búsqueda de anticuerpos antiespermatozoides al laboratorio?.

Esto depende de varios factores. Si la pareja presenta una prueba post coital pobre, entonces ellos podrán ciertamente, ser probados para la búsqueda de tales anticuerpos, ya que hay una alta probabilidad -aunque no del 100%-, de una situación de anticuerpos positivos. Sin embargo, aún con un resultado regular de un exámen postcoital, la oportunidad de anticuerpos antiespermatozoides presentes, no es excluída.

Un exámen post coital pobre, es casi siempre atribuído a un factor femenino, sin embargo, debe ser importante considerar que el hombre podría ser la causa de un post coital pobre, especialmente si él tiene anticuerpos antiespermatozoides. Se ha enfatizado este concepto para proponer según Shulman (10), el término de "Sémen Suicida".

Considerando al hombre en la pareja, debe interpretarse su exámen de sémen. Si este señala un grado de acúmulos de espermatozoides en su eyaculado, esto es, una autoglutinación, se puede pensar ciertamente en anticuerpos antiespermatozoides; en algunos casos, el fenómeno de autoglutinación no es causado por anticuerpos, así que nosotros no podemos estar seguros, sin haber sido examinado por las pruebas indicadas, es decir, tanto en plasma seminal, como en suero sanguíneo. Por otro lado, debemos indicar que un eyaculado que no presente acúmulos, no necesariamente prueba que el hombre no sufre de anticuerpos contra espermatozoides.

Puede ser un problema de anticuerpos, sin presentar cualquier autoglutinación. Debemos tener en mente que los anticuerpos no se ponen en contacto con los espermatozoides hasta el momento de la eyaculación; ellos no son premezclados dentro del organismo. Por lo tanto, una motilidad normal puede ser observada aún en caso de dificultades por anticuerpos. Sin embargo, si la motilidad es baja, digamos abajo de 20%, uno podría sospechar aún más la oportunidad de que los anticuerpos contra los espermatozoides hayan causado una inmovilización de las células espermáticas. O una baja cuenta podría reflejar un asentamiento y un descenso en el número porque haya presentes algunos acúmulos de espermatozoides.

Sin embargo, aún con una cuenta normal así como buena motilidad, podría haber un problema de anticuerpos, y es posible debido a que el anticuerpo puede simplemente cubrir las células espermáticas sin hacerles daño alguno. Y aún, según Shulman un exámen postcoital bueno y una prueba de penetración de moco cervical normal, podría haber un problema de anticuerpos. Por lo tanto, si todos los factores parecen normales, esto es, si podemos llamar a este caso de infertilidad inexplicable con una historia de un año o más tratando de lograr un embarazo, uno podría definitivamente buscar la presencia de anticuerpos contra las células espermáticas. (10)

2.2.6 Pronóstico y Tratamiento.

Aunque es muy difícil establecer un pronóstico para cada una de las alteraciones del factor inmunológico, por las diferentes modalidades terapéuticas requeridas, falta-

de controles adecuados y empleo de muy diversas técnicas - diagnósticas, en el momento actual, existen modalidades de tratamiento que se utilizan ante estas situaciones y que - han dado buenos resultados cada una en diferentes porcentajes, (registrando como buenos resultados, lograr la concepción). Los resultados han sido muy diferentes en las experiencias de varios autores. Aunque es factible que personas con títulos altos de anticuerpos logren un embarazo, - las posibilidades son menores que en aquellas con títulos- bajos. Un hecho interesante es el encontrar una incidencia aumentada de abortos en aquellas pacientes a las que - previamente se les habían encontrado anticuerpos antiespermáticos, esto es compatible con el aumento de mortalidad - embrionaria en animales de laboratorio isoinmunizados con- células espermáticas.

En hombres, la presencia de anticuerpos inmovilizantes tiene peor pronóstico que cuando sólo hay anticuerpos del- tipo aglutinante. En casos de análisis seminal normal y - aglutininas presentes, la fertilidad es inversamente pro-- porcional al título de anticuerpos.

TRATAMIENTO:

Cualquier terapia para anticuerpos antiespermáticos será aplicada una vez que se han realizado los estudios clínicos y del laboratorio que sean necesarios, y se requiere gran paciencia y perseverarcia por parte de la pareja. Es esencial que antes de iniciar el tratamiento, el médico esté completamente seguro de: (42)

a) Que los anticuerpos antiespermatozoides están interfiriendo realmente con la fertilidad.
b) Que la cuenta de espermatozoides del esposo, es tan

buena como sea posible.

c) Y que la esposa tenga tubos permeables y que la presencia y tiempo de ovulación ha sido establecida.

Hay por lo menos cuatro posibles líneas de tratamiento ninguna de las cuales es completamente satisfactoria en el presente:

1.- Terapia oclusiva.
2.- Antibióticos.
3.- Inseminación artificial-Lavado de esperma.
4.- Esteroides.

NOTA:

La terapia oclusiva por medio de condones parece ser la modalidad que brinda mejor pronóstico, además que no representa ningún peligro en la alteración de ninguna actividad en el organismo.

3.- METODOLOGIA

3.1 Selección de las muestras.

El trabajo de laboratorio se realizó con muestras obtenidas a partir de pacientes que se encontraban en estudio en el Departamento de Ginecología y Obstetricia de los Hospitales "Ramón Garibay" y "Dr. Angel Leaño", quienes presentaban un Diagnóstico de "Infertilidad de Causa Desconocida". Tales pacientes tenían un historial de estudios realizados anteriormente. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Patología Clínica del Hospital Dr. Angel Leaño.

3.1.1 Toma y Tratamiento de las Diferentes Muestras.

Para llevar a cabo las diferentes evaluaciones dentro del estudio, fué necesario obtener diferentes muestras:

(a) Moco cervical.
(b) Sémen.
(c) Suero sanguíneo.

MOCO CERVICAL:

Se colocó un espejo vaginal, previa colocación de la paciente en posición ginecológica y se prosiguió a obtener la muestra; para el exámen post coital, se hicieron tres tomas utilizando pipetas Pasteur estériles a nivel de Fondo de Saco Posterior, Exocérvix, Endocérvix, estas muestras fueron obtenidas durante el onceavo día del ciclo menstrual (en el caso de que éste durara 28 días) o durante el 13 avo. día del ciclo menstrual (en caso de que éste durara 30 días). (45)

El estudio del moco cervical se realizó en la misma

muestra que se obtuvo del exocérvix para exámen post coi-- tal.

La muestra para las pruebas SCMS-test y Penetración de Moco por el esperma, se obtuvo por medio de una pipeta Pasteur a partir del canal cervical, previo aseo de exocérvix con un hisopo estéril, esta toma se realizó el día 14avo.- del ciclo menstrual (en caso de que este durara 28 días),- y el 16avo. del ciclo menstrual (en caso de que este durara 30 días). (42,5)

La muestra para la búsqueda de anticuerpos inmovilizantes en moco, se obtuvo por medio de una jeringa de insulina, la cual contenía 0.5 ml de solución PBS, ésta toma se- realizó entre el 12 avo. y el 14 avo. día del ciclo mens-- trual. (18)

SEMEN:

Estas muestras se obtuvieron después de un mínimo de - tres días de abstinencia, y por medio de masturbación. El sémen fué recolectado en recipientes de vidrio de boca ancha y estériles. Cuando la técnica lo requirió, se dejó - sedimentar por media hora. (32)

SUERO SANGUINEO:

Se obtuvo a partir de una punción venosa de aproximadamente 10 ml. después de coagular, el suero fué recolectado e inactivado calentado a 56°C por 30 minutos. (32)

3.2 Métodos.

Comprendieron dos secciones, aquellos que se dedicaron

para un Prediagnóstico, es decir, los que orillaron al médico a pensar en la presencia de anticuerpos antiespermatozoides (en adición con la historia clínica de la pareja);- y aquellos que permitieron corroborar la presencia de tales anticuerpos, es decir, los métodos de Diagnóstico Inmunológico.

3.2.1 Técnicas de Prediagnóstico.

A) Espermatobioscopía Directa:

El estudio del sémen suele formar parte de la investigación completa de una infertilidad que comprenda a los - dos cónyuges de una pareja estéril. Debe recalcarse que - el estudio del sémen sólo constituye una faceta del estudio médico del varón.

Este exámen tiene una limitación inherente que consiste en que los estándares de calidad del sémen se basan en los resultados de estudios de una población de varones pertenecientes a parejas fértiles e infértiles. En consecuencia, los estándares de calidad de el sémen son índices relativos y no absolutos de fertilidad o de esterilidad.(42)

El sémen puede variar cualitativa y cuantitativamente con la edad, enfermedad, temporada y actividad sexual. En adición a estas variaciones reales, puede haber otros problemas porque las técnicas de análisis son imprecisas, siguiendo variaciones de hasta 25% entre los diferentes laboratorios. (42)

Los parámetros que se consideraron para el exámen de - sémen fueron: Aspecto, Consistencia, Licuación, Color, PH, Volúmen, Número de espermatozoides por c.c., Movilidad y -

Normalidad de espermatozoides, además de señalar cualquier otras células presentes. El sémen recién eyaculado es un coágulo muy viscoso, opaco, blanco o grisáceo, que puede tener un olor mohoso o acre. Después de 10 a 20 minutos, el coágulo se licúa espontáneamente para formar un líquido translúcido, turbio y viscoso que es ligeramente alcalino con un pH alrededor de 7.7. (42)

Los parámetros que se consideran más a menudo son la cuenta espermática, y la motilidad. La motilidad es el parámetro más importante que ejerce influencia sobre la calidad del sémen. Hay dos componentes de la motilidad espermática: la velocidad de los espermatozoides y el porcentaje de tales células que tienen movimiento de progresión. Estándares mínimos aceptables para la motilidad han sido establecidos y se requiere al menos un 40% de los espermatozoides que señalen una buena progresión.

Los cambios en la morfología de las células podría indicar un defecto en el mecanismo de espermatogénesis. Existe una relación directa entre la motilidad espermática y la morfología. Los espermatozoides con pobres características morfológicas tienen pobre mortilidad y por lo tanto pierden habilidad para penetrar la barrera de moco en el cérvix. (47)

B) Prueba de Post coito de Sims Hühner:

Esta prueba tiene como propósito medir la capacidad de los espermatozoides para atravesar el moco cervical manteniendo su actividad, así como medir la calidad del moco.

Durante el coito, 200 a 500 millones de espermatozoi--

des son depositados en el cérvix y fórnix vaginal poste- - rior. El sémen humano coagula inmediatamente después de - la eyaculación y atrapa a la mayoría de las células espermáticas hasta que las enzimas proteolíticas seminales llevan a cabo la licuefacción. La primera porción del eyaculado, sin embargo, contiene la más alta concentración de - espermatozoides, los cuales, bajo condiciones favorables,- penetran prontamente en el moco cervical. La combinación- del eyaculado y el moco cervical, que es causada por los - movimientos peniles y el desplazamiento de la columna de - moco cervical, pueden ayudar a este proceso.

El contenido vaginal es usualmente ácido, con un pH de aproximadamente 3 a 4. Sin embargo, las secreciones cervicales cubren la parte más superior de la vagina e incrementan considerablemente la alcalinidad del medio vaginal, -- proveendo una condición favorable para el espermatozoide,- y aparentemente promoviendo su longevidad.

La migración del espermatozoide a través del cérvix, - envuelve tres factores distintos pero interrelacionados: -

(1) La habilidad del espermatozoide para penetrar el - moco.
(2) La estructura única y composición del moco cervi-- cal, el cual guía y protege al espermatozoide.
(3) La configuración morfológica de las criptas cervicales las cuales contribuyen al almacenamiento y - preservación del espermatozoide en el canal cervical y su sustención en el tracto superior.

Las propiedades físicas y ciertos constituyentes químicos del moco cervical señalan variaciones cíclicas. Estas

alteraciones cíclicas en los constituyentes del moco cervical, pueden influir sobre la penetrabilidad, nutrición y sobrevivencia del espermatozoide. Los cambios óptimos sobre las propiedades del moco cervical, tales como incremento en la cantidad, finlancia y arborización, pH, y decenso en la viscosidad y contenido colular, ocurren inmediatamente antes de la ovulación y son invertidas después de la ovulación. Usualmente es inhibida dentro de los dos días después de la ovulación, pero podría persistir por algún tiempo más.

La prueba post coital debe realizarse lo más cercanamente posible al tiempo de ovulación.

Después de recogidas las muestras, se procedió a observarlas al microscopio bajo el objetivo de 40X y se registró el número de espermatozoides por campo y su calidad de movimiento, así como el pH de cada región de donde se obtuvieron las muestras (fondo de saco posterior, exocérvix y endocérvix). Asímismo, se obtuvo una muestra aparte del canal cérvico, para determinar celularidad, finlancia, arborización, para el exámen de moco cervical. (45,47)

Interpretación:

Fondo de saco posterior: Los espermatozoides son usualmente destruídos en la vagina dentro de 12 horas. Así pues, el propósito de examinar esta muestra, fué asegurarse que el sémen había sido depositado en la vagina.

Exocérvix: El número de espermatozoides en la parte baja del canal cervical, varía de acuerdo al tiempo que pasa después del coito. En una mujer normal, después del coito.

con un hombre fértil, más de 25 espermatozoides móviles /-HPF (x200) son observados comúnmente en el especímen exo--cervical.

Endocérvix: Se considera una prueba buena, cuando 10-o más espermatozoides/HPF son vistos y cuando más del 50%-de estos, señalan motilidad progresiva. En el extremo, se considera un postcoital malo, cuando se observan menos de-5 espermatozoides/HPF y cuando más del 50% de la población entera de espermatozoides no se mueven a través del campo-microscópico.

En parejas donde el varón tiene autoanticuerpos a ni--vel local, la prueba post coital a menudo es negativa o pobre. Esto es particularmente debido a la presencia de espermatozoides aglutinantes en el sémen. Los aglutinados -de espermatozoides pueden ser observados aún bajo el microscopio, directamente después de la licuefacción del eyaculado.

El exámen post coital puede ser también negativo o po--bre cuando existen anticuerpos inmovilizantes presentes en-el moco cervical o aún en el suero de cualquiera de los dos miembros de la pareja.

3.2.2 Técnicas de Diagnóstico Inmunológico.

Después de realizados los estudios anteriores, (espermatobioscopía y Post Coital, así como exámen del moco cervi--cal), y de acuerdo a los resultados arrojados por tales exámenes, se llevaron a cabo los estudios inmunológicos, que -comprendieron pruebas tanto de suero, como de sémen y moco-cervical.

Como originalmente se describió en forma independiente por Wilson (1954) y Rümke (1954), el suero de algunos pacientes infértiles, puede contener aglutininas y algunas veces también inmovilizinas (anticuerpos inmovilizantes complemento dependientes) contra el espermatozoide. Por lo tanto los métodos utilizados para determinar tales anticuerpos a nivel sérico, fueron los siguientes:

A) Microaglutinación Espermática:

Este método fué propuesto por Franklin y Dukes en 1964 (6,22,32,38,42,44), hoy en día es comúnmente referido como Prueba de aglutinación tubo - placa.

- Una mezcla de suero y espermatozoides se incuban a 37°C en un tubo de ensaye y gotas de esta mezcla se transfieren a una placa para su inmediata examinación al microscopio.

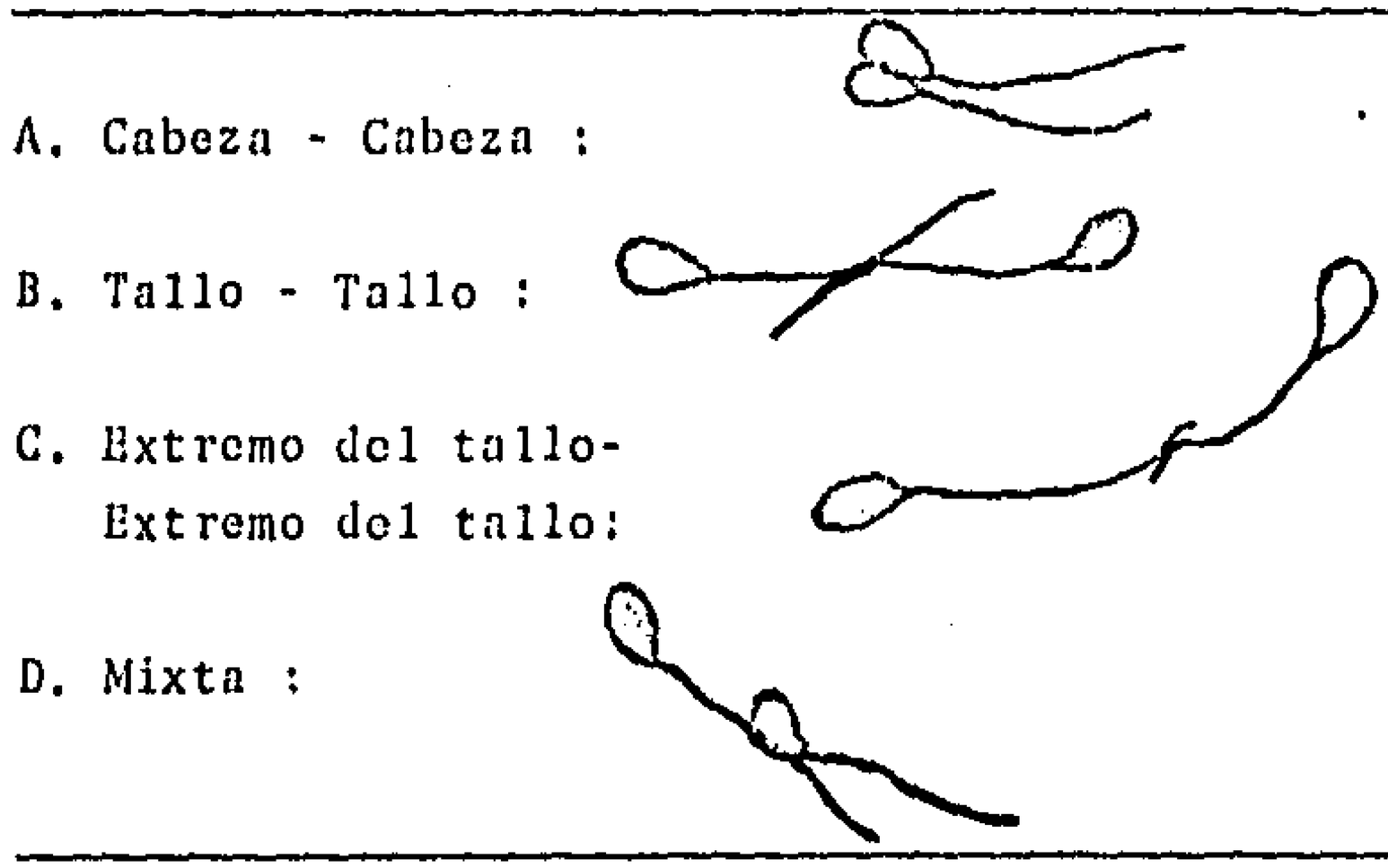
- Las células espermáticas en cada doce campos bajo 40 x se cuentan anotando sólo las células móviles, y contando el número de células libres y el número de células aparentemente atacadas y estos pueden ser de cualquier cantidad, desde dos células o grandes agregados. Para esta prueba se utilizaron controles de suero y sémen. Si un diez porciento de los espermatozoides se aglutinan, se considera una prueba positiva.

Aparentemente algunos aglutinados, particularmente aglutinados tallo-tallo, son dañados debido a la transferencia hacia la placa, y la técnica puede revelar por lo tanto, en su mayoría, aglutinados del tipo cabeza,cabeza. (42)

La esperma - aglutinación mediada por anticuerpos específicos ocurre cuando los anticuerpos con dos sitios reactivos (anticuerpos bivalentes) son capaces de combinarse - con el antígeno. Si los dos determinantes antigénicos están en dos células separadas, estas son unidas por el anticuerpo, y la aglutinación ocurre.

Esta aglutinación puede sucederse de varias formas; - las cuales se indican en el siguiente cuadro:

FRACCIONES ENVUELTAS EN LAS DIFERENTES MODALIDADES DE AGLUTINACION.



Los anticuerpos esperma-aglutinantes, son los más comúnmente ensayados en lo que respecta a anticuerpos antiespermáticos.

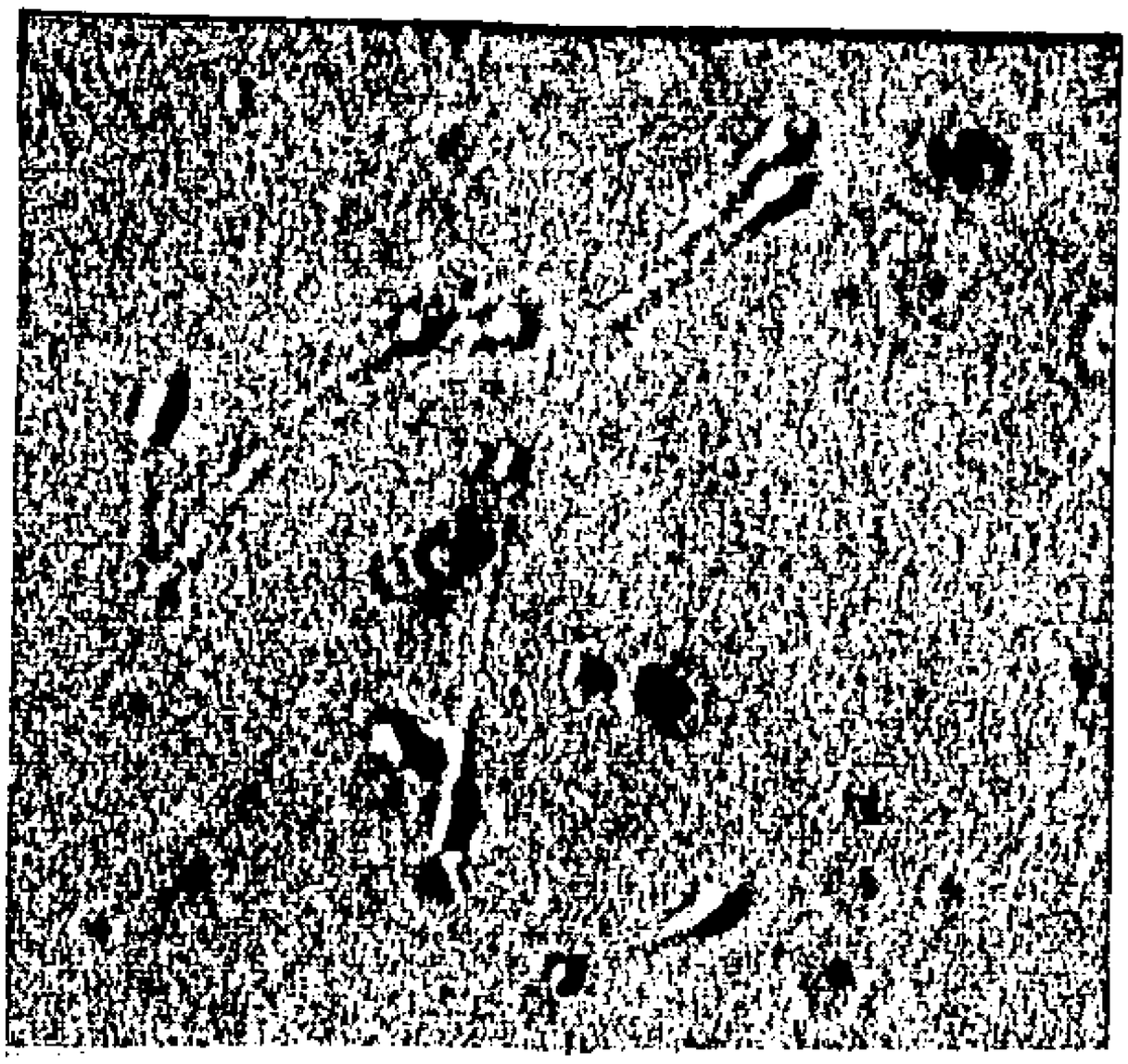


FIGURA IA:

Aglutinación tipo Cabeza-Cabeza

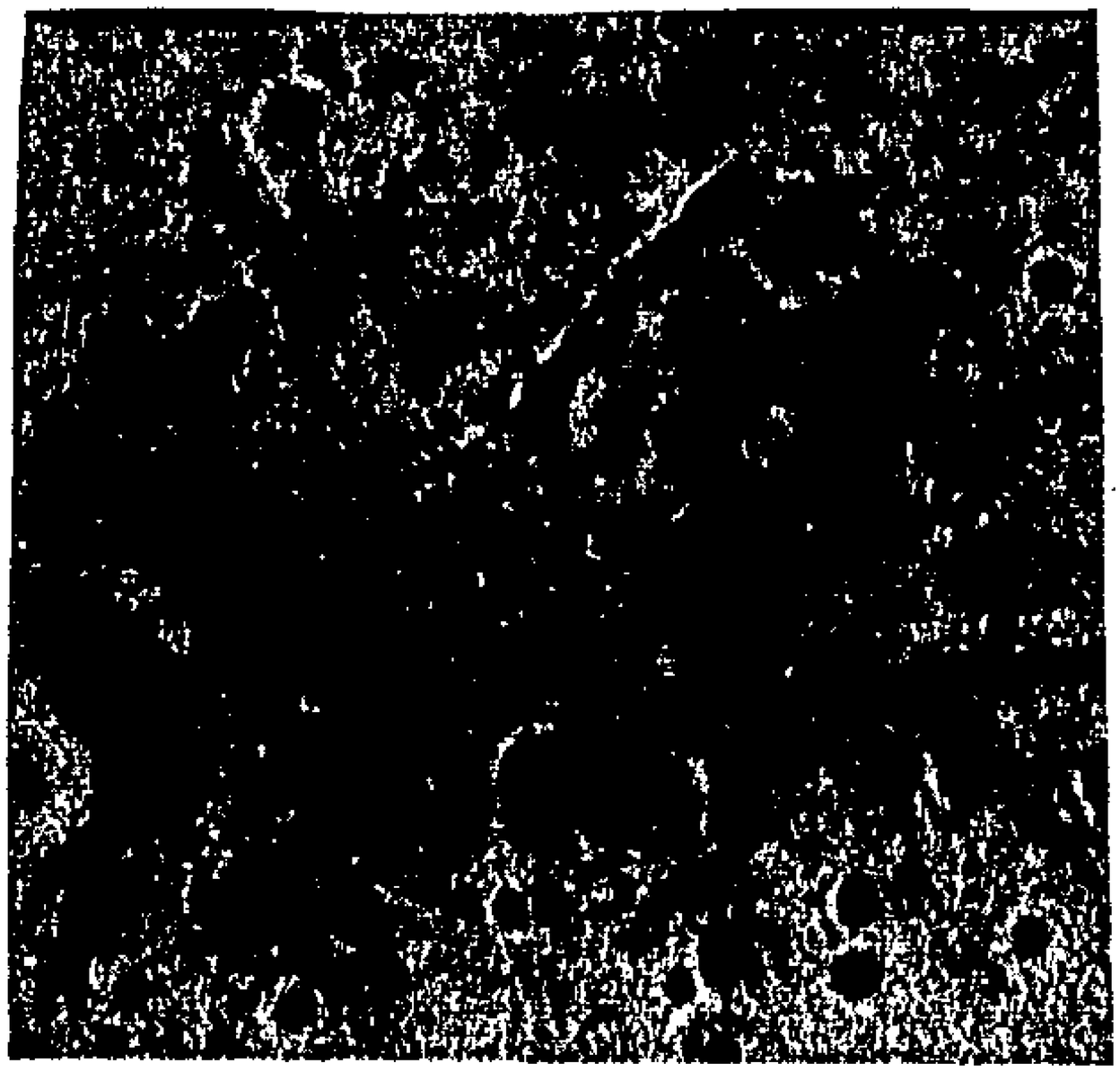


FIGURA IB:

Aglutinación tipo Mixto (Cabeza con tallo)

Estudios electroforéticos del suero, revelaron que algunos sueros contienen anticuerpos antiesperma que son IgG, algunos contienen IgM y otros contienen ambos. El suero con títulos altos, generalmente tiene más IgM, mientras que el suero con IgG, tiende más a producir microaglutinación con títulos bajos. Una razón para esto, es que la gran molécula de IgM tiene más sitios de enlace y puede captar más espermatozoides (antígeno) que varias moléculas de IgG.

Los espermatozoides en eyaculados de hombres con anticuerpos antiespermáticos séricos, a menudo presentan aglutinación. La habilidad reducida para migrar es encontrada en espermatozoides de hombres con niveles séricos de esperma-aglutininas. Las muestras colectadas a partir del cérvix de la esposa, a menudo son inmóviles y no se encuentra esperma en la cavidad uterina. (39)

Puede haber variaciones en la incidencia de microaglutinación espermática en el suero de pacientes y sujetos control. Varias razones pueden explicar estas variaciones y dictan precaución en la interpretación clínica e inmunológica de esta prueba. El esperma humano podría aglutinar en la presencia de agentes microbianos, hongos, químicos, esteroides, y aún suero homólogo. Aunque esto no causa gran interferencia de importancia con la detección de anticuerpos contra espermatozoide, pero hay que considerar tales factores a la hora de dictar el diagnóstico.

Los tipos de aglutinación más comunes son: el tipo tallo, tallo en el suero de hombres, y el tipo cabeza-cabeza en suero de mujeres. Los anticuerpos contra las cabezas, son principalmente de la clase de IgM y aquellos contra el

tallo son de la clase de IgG. En el hombre, en los casos en que los títulos séricos son mucho más altos que en plasma seminal, podría especularse que los anticuerpos séricos son del tipo del IgM y podría entonces no difundir en el plasma seminal (contrario a IgG e IgA, el líquido seminal generalmente no contiene IgM).

B) Inmovilización Espermática:

Esta técnica fué propuesta por Isojima et al., en 1972 (18,38,39,42). Provee un método más específico y digno de confianza.

- Aquí se determina si después de una hora de incubación a 37°C, la motilidad de los espermatozoides disminuye por debajo de un 50% de la motilidad de una mezcla control, después de haber puesto en contacto, suero, células espermáticas, y suero de cobayo. Esta técnica es llamada a menudo la Técnica Complemento-Dependiente. (38)

Los anticuerpos en presencia de complemento, a menudo causan inmovilización de los espermatozoides, (en este caso la fuente de complemento fué el suero de cobayo). Varios autores afirman que la inmovilización espermática, está más asociada con infertilidad que la aglutinación de espermatozoides. (39)

La inmovilización de espermatozoides complemento dependiente, forma las bases de una prueba simple y reproducible de anticuerpos con antígenos espermáticos, activa el sistema de complemento y daña la permeabilidad o integridad de la membrana celular del acrosoma y parte media del espermatozoide. El último efecto sobre la célula, puede -

ser detectada microscópicamente como una pérdida de motilidad seguida por la muerte de la célula. Los títulos son determinados como la más alta dilución que da reacción positiva. Debe incluirse una mezcla del suero del paciente y complemento inactivado como un control; así la prueba provee una garantía de que la inmovilización es complemento dependiente y además mediada por anticuerpos; pero ya que la IgA no activa el complemento, la prueba sólo detecta IgG o IgM. (42)

Los sueros con actividad inmovilizante, usualmente señalan actividad esperma-aglutinante, pero viceversa no se aplica.

La prueba de inmovilización es el método de elección para buscar anticuerpos antiesperma en mujeres y además puede ser aplicado para búsqueda de anticuerpos en moco cervical. Parece exhibir relativamente baja actividad en suero masculino. (22)

La incidencia de esperma-inmovilizinas complemento dependiente es menor que la de esperma-aglutininas, y también los títulos son generalmente más bajos. Entre más grande es el título de aglutininas espermáticas, mayor es la probabilidad de que el suero contenga además inmovilizinas. Esto se cumple para aglutininas del tipo cabeza-cabeza y tallo-tallo. Un suero que excepcionalmente contenga aglutininas del tipo de extremo de cola, no tiene actividad inmovilizante.

Como se mencionó, los componentes del complemento son necesarios para un efecto de inmovilización, y ya que el plasma seminal a menudo contraresta los factores de comple

mento, no es sorprendente que se observe una pequeña inmovilización, aún en los casos en que se encuentren grandes títulos de inmovilizinas en el suero.

El hecho de que la inmovilización ocurre después del contacto con el moco cervical, podría sugerir que el moco cervical contiene factores de complemento que escasean o son inhibidos en el plasma seminal.

C) Penetración de Moco por el espermatozoide:

Una prueba post coital negativa o anormal, es indicación para realizar una prueba de penetración de moco in vitro. Se pueden utilizar la técnica de placa o la técnica de capilar.

- En el método de placa, se observa un límite bien marcado que separa el moco cervical colocado en yuxtaposición con el sémen. En la interfase, se forman una especie de falanges o proyecciones desde el fluído seminal, que se desarrolla en unos minutos y penetra en el moco. El esperma usualmente llena estos canales antes de entrar al moco, la mayoría de los espermatozoides penetran a la cumbre de las falanges, y entonces entran al moco. Una vez en el moco cervical, los espermatozoides se dispersan y se mueven al azar.

Cuando ambos, las pruebas en vivo o in vitro son negativos, debe probarse un esperma de donador fértil contra el moco de la paciente y moco preovulatorio obtenido de donadora fértil debe probarse contra el sémen del paciente. De esta manera se determina si el esperma o el moco son el responsable de la pobre penetración.

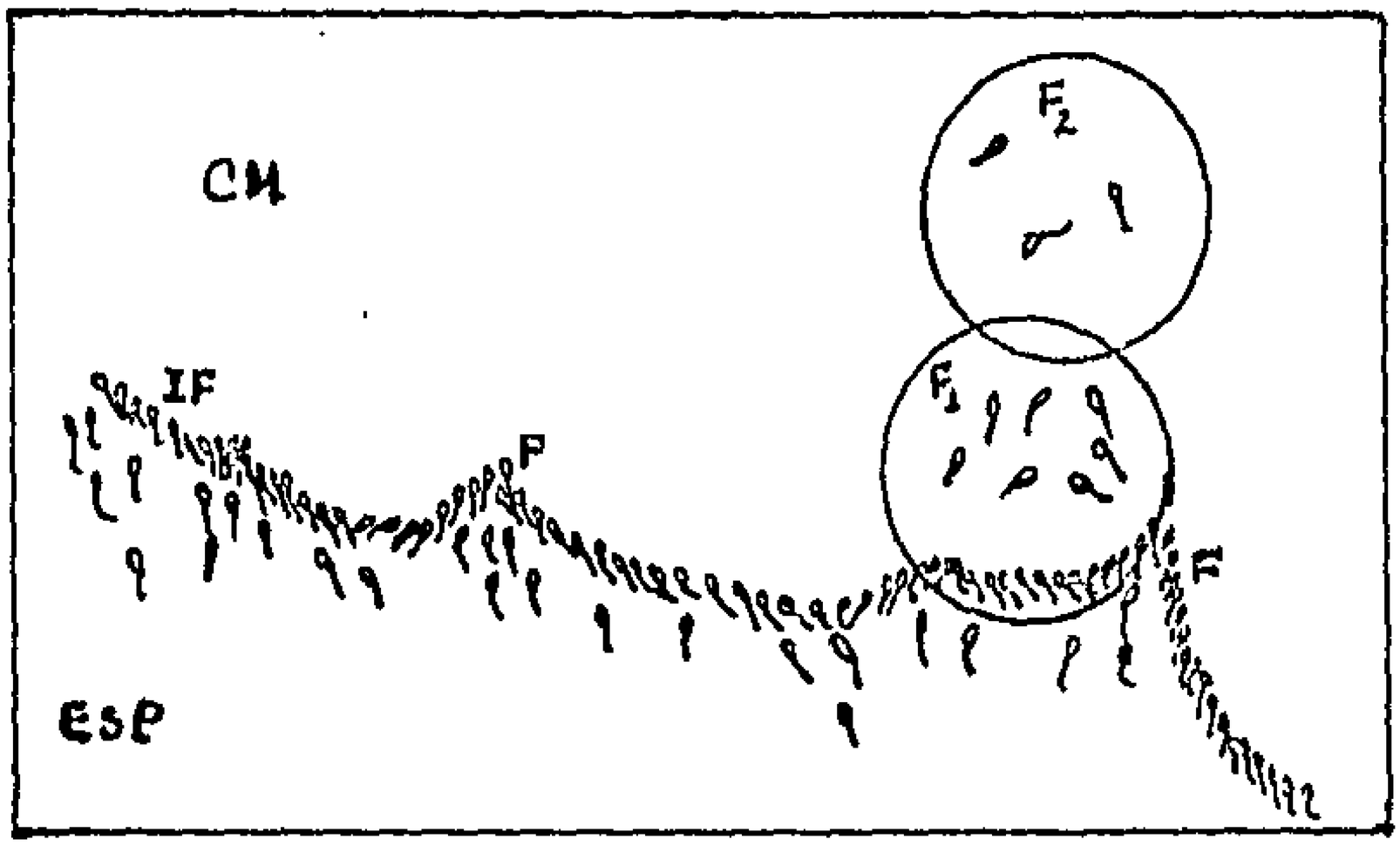


FIG. 2. Representación esquemática de la penetración - in vitro del moco cervical por el espermatozoide. Método de placa. CM = moco cervical; ESP = esperma; IF = interfase; F= falanges; F_1= primer campo microscópico; F_2= segundo campo adyacente a F_1. (42,47)

INTERPRETACION:

Loa resultados son evaluados como sigue: (27)

(a) Excelente: F_1 25 esperm/HPF; F_2 25 esper/HPF.
(b) Bueno : F_1 15 esperm/HPF; F_2 10 esperm/HPF.
(c) Pobre : F_1 5 esperm/HPF; $F_2$0-1 esperm/HPF.
(d) Negativo : No hay penetración en F_1 o en F_2.

D) <u>SCMC-t</u> (<u>prueba de contacto del moco cervical con esperma</u>.)

Esta prueba fué lanzada por Kremer y Jager (22) para demostrar la presencia de anticuerpos locales en cualquiera - de los miembros de la pareja. Es usualmente llevada a cabo como una prueba de hostilidad cruzada. Por ejemplo, el sémen del marido y el de un donador son cruzados en la prueba con moco cervical de una donadora y con el de la esposa, - respectivamente. De esta manera, el exámen puede ser usado

para confirmar que los anticuerpos antiespermatozoides encontrados por medio de otras técnicas, son significativos, (22, 42)

La ventaja de esta prueba, es que se requiere muy poca cantidad de moco, y el tipo de motilidad espermática puede ser detectada.

- Un resultado positivo que indique anticuerpos antiespermáticos ya sea en moco o en sémen, o en ambos, es indicado con movimientos característicos de "sacudimiento" del espermatozoide cuando estos se ponen en contacto con el moco cervical en una placa. (38, 42)

Kremer (42) señala que "un fenómeno positivo de sacudimiento, es dependiente de la presencia de Inmunoglobulina en las secreciones genitales". La presencia de IgG en el esperma, no es suficiente para producir el fenómeno de sacudimiento en la ausencia de IgA en las secreciones genitales.

Para explicar el fenómeno de "sacudimiento", las siguientes hipótesis se han declarado:

" Los anticuerpos antiespermatozoides, presentes en el espermatozoide o en el moco cervical, pueden causar una unión cruzada entre el espermatozoide y las micelas de glicoproteínas que forman la malla de glicoproteínas del moco cervical. La adhesión del espermatozoide hacia la malla de glicoproteínas, resulta en movimientos de sacudimiento del espermatozoide, porque las glicoproteínas que forman la malla, pueden moverse sólo hasta un límite de extensión".

Para conocer ya sea que los anticuerpos están localizados en el espermatozoide o en el moco cervical, esta prueba se realiza por medio de un sistema de prueba cruzado.

Los anticuerpos sobre el espermatozoide resultan en la unión de los tallos a los bordes del moco, y movimientos de sacudimiento del espermatozoide. Los anticuerpos en el moco cervical, resultan en la unión de las cabezas en el borde del moco y movimientos de sacudimiento del espermatozoide. (38)

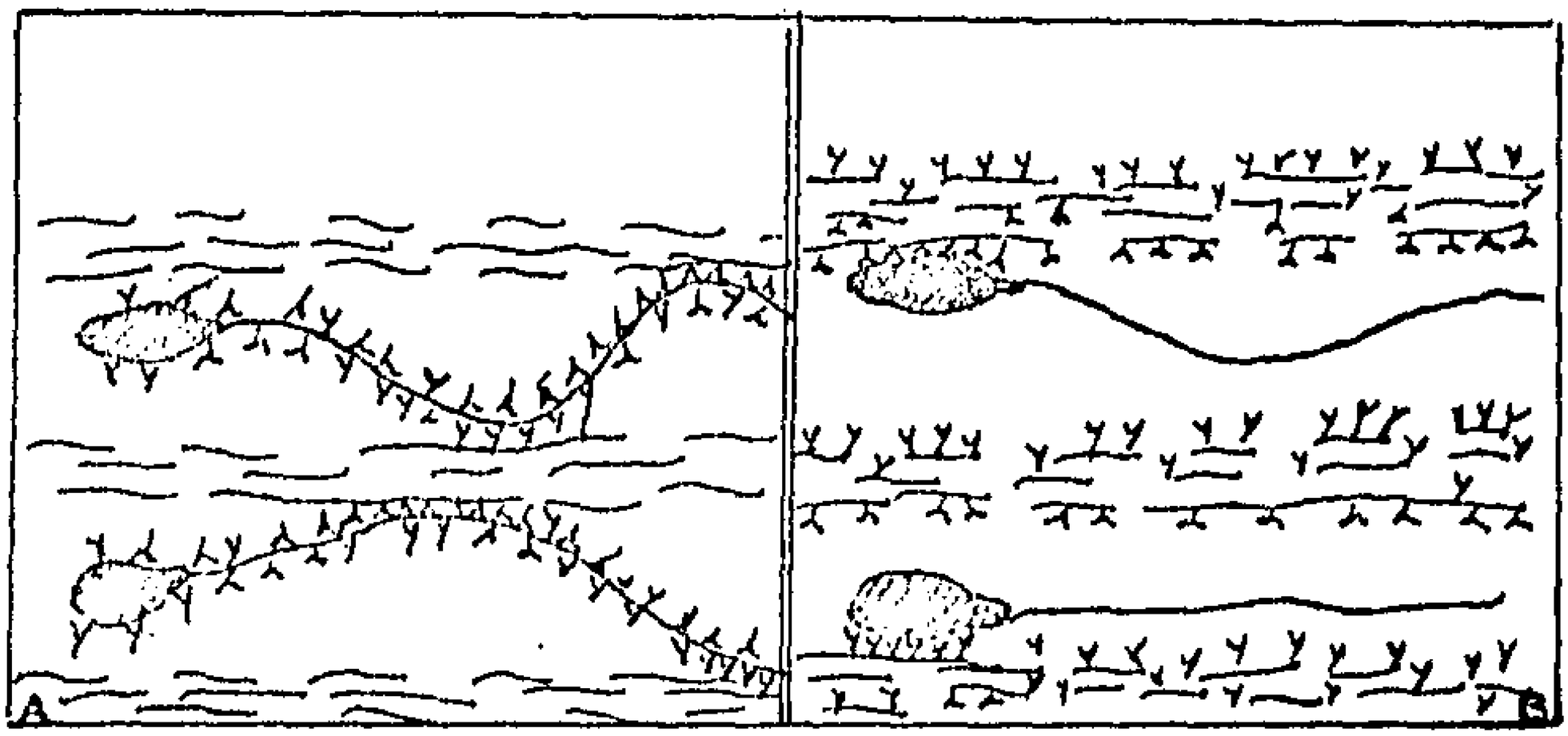


FIG. 3. Resultados positivos del SCMC.

A) Anticuerpos en el espermatozoide.

B) Anticuerpos en el moco cervical.

E) MAR (mixed erythrocyte - spermatozoa antiglobulin reaction)

Esta prueba no es realmente nueva, fué utilizada por - primera vez para la detección de anticuerpos antiespermatozoides por Coombs et al. en 1973. Sin embargo, recientemente (1978) ha sido estudiada en detalle y perfeccionada- por Jager et al. para la detección en sémen humano fresco, de anticuerpos antiespermatozoides, no sólo para la detección de IgG, sino también para IgA.

- Está basada en la formación de aglutinados mixtos móviles entre eritrocitos sensibilizados con anticuerpos incompletos anti- Rh y espermatozoides frescos con anticuerpos en su superficie contra el esperma, y después mezclando gotas de células rojas, sémen y suero antihumano anti - IgG.

- El resultado puede estimarse como el porcentaje de - espermatozoides móviles envueltos en aglutinados mixtos. - (42)

Esta MAR-test, puede convertirse en el método de elección en la autoinmunidad contra el espermatozoide en el varón infértil porque:

a) Detecta los anticuerpos sobre las células blanco y
b) La prueba puede ser llevada a cabo con agentes reactivos comercialmente disponibles en análisis de rutina.

Una limitación seria es que la prueba depende de una adecuada motilidad de la muestra del paciente.

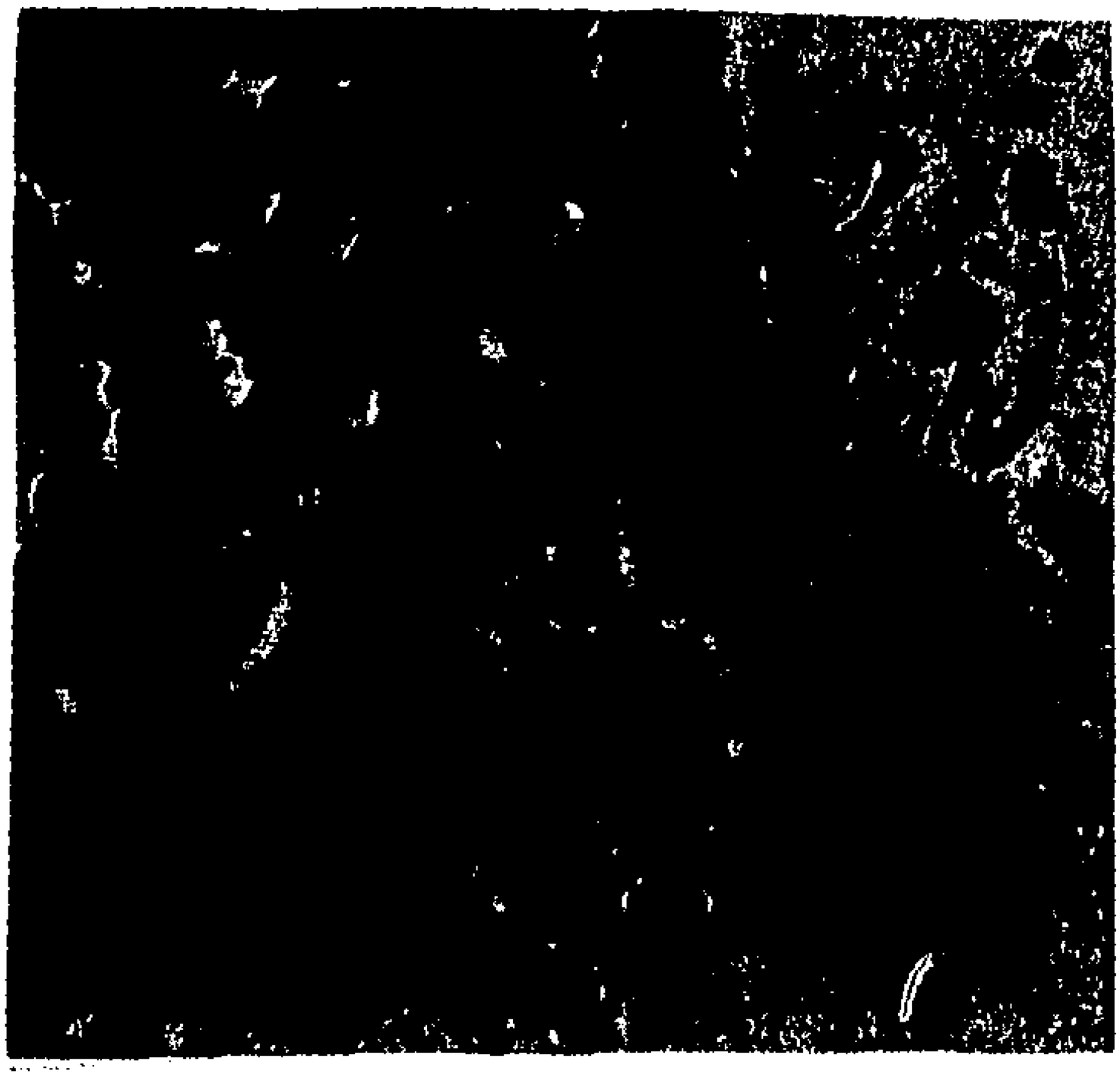
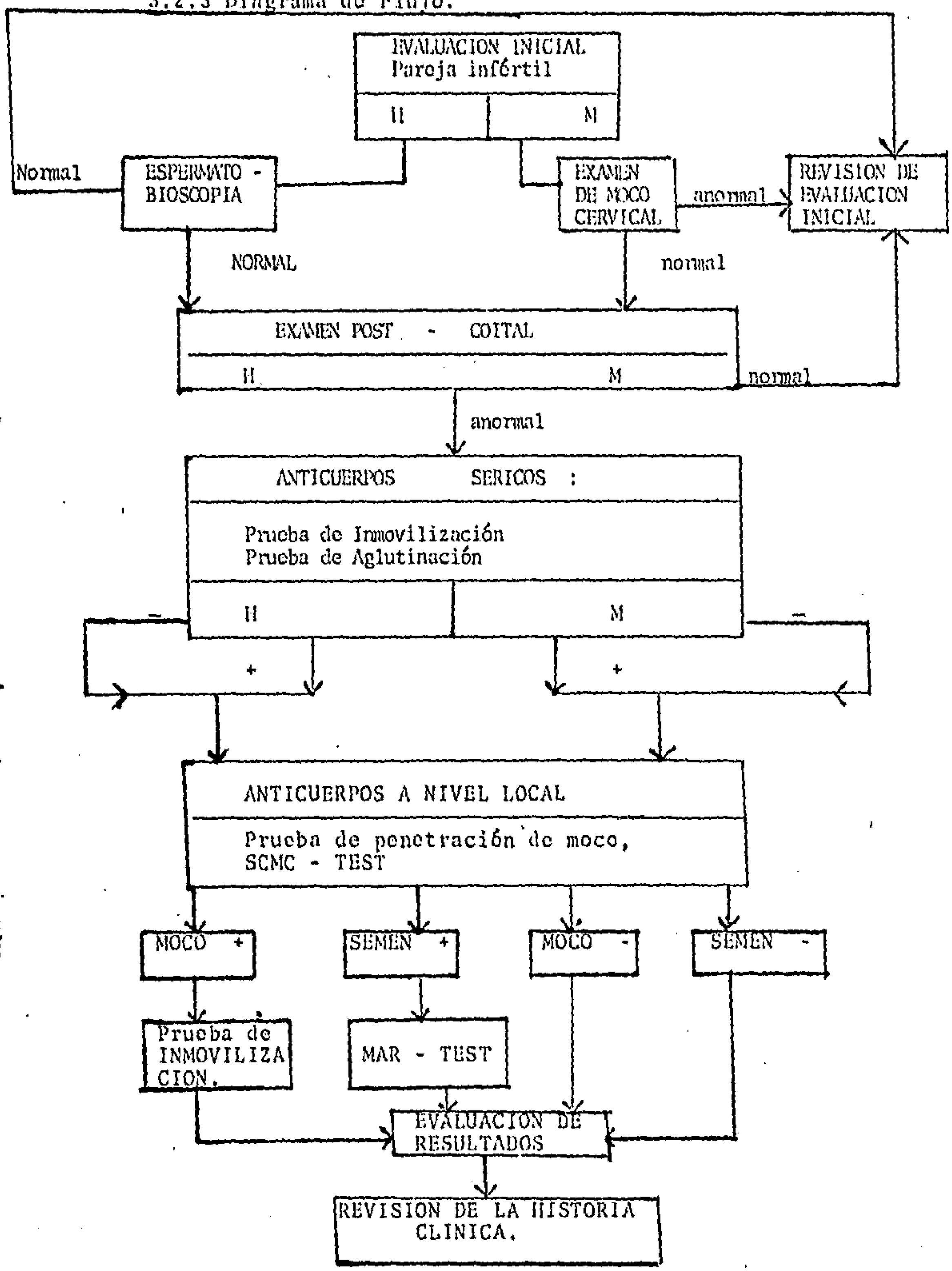


FIG. 4. Una prueba MAR-t positiva, que muestra un acúmulo de células rojas mezclado con células espermáticas aglutinadas en forma cruzada con los eritrocitos.

3.2.3 Diagrama de Flujo.



4.- RESULTADOS

Se investigaron 16 parejas con Diagnóstico = Infertilidad de Causa Desconocida.

A estas parejas se les sometió al protocolo de trabajo antes indicado, y de acuerdo a los resultados de cada una- do las fases fué el seguimiento que se les dió a las diferentes muestras. (Tabla Num. 1).

En la primera fase se verificó que las parejas cumplieran con las condiciones requeridas para el estudio, como - fué, que se contara con semen y moco cervical de buena calidad y con un exámen Post coital anormal (pobre - regular)

Durante la segunda fase, se prosiguió a investigar la- presencia de anticuerpos aglutinantes e inmovilizantes de- espermatozoides en el suero de los integrantes de las 16 - parejas (32 pacientes). Para la determinación de anticuerpos aglutinantes, se siguió el método de FRANKLIN-DUKE. - (obteniéndose los resultados que se muestran en la tabla - Num. 2). En esta prueba se obtuvieron títulos positivos a partir de 1:4 y títulos tan altos como 1:2048.

Así en total, en 16 pacientes se encontró aglutinación de los espermatozoides por el suero, pero como título significativo de la presencia de anticuerpos antiesperma, se- consideró el de 1:32 o mayor. De acuerdo a este parámetro obtuvimos ocho resultados positivos de anticuerpos antiesperma, tres en pacientes mujeres y 5 en hombres. (tabla - núm. 3). Debe puntualizarse que la prueba se corrió con - control negativo.

A partir de estos resultados, un 18.75% de las mujeres y un 31.25% de los hombres estudiados, presentaron títulos

significativos de anticuerpos antiesperma; en total, un 25 % de los pacientes estudiados tuvieron resultados positi-- vos.

En la determinación de Anticuerpos Inmovilizantes, se- utilizó el método de Inmovilización de ISOJIMA, en el cual, los anticuerpos inmovilizantes se reportan como índice lla mado "valor de inmovilización", indicado como "Vi"

$$(Vi = \frac{\text{espermatoz. inmóviles muestra}}{\text{espermatoz. inmóviles control}})$$

y se acepta como dato significativo un Vi - 2 en el cual un 50% de los espermatozoides han sido inmovilizados.

Se obtuvieron Vi desde 0.75 hasta Vi de 4.16 en suero.

Y así, 13 pacientes tuvieron un Vi 2; de los cuales 6 eran mujeres y 7 hombres (tabla núm 1). Esto es un 37.5%- de las mujeres y el 43.75% de los hombres presentaron un - Vi 2. En total el 40% de los pacientes presentó anticuer pos inmovilizantes en suero. (tabla num. 3)

En la tercera fase se buscó la presencia de anticuer-- pos locales, auxiliándose de pruebas como son la de Pene-- tración de moco cervical por el espermatozoide "in vitro"- y la prueba de contacto del moco cervical con el esperma,- en la cual buscamos el fenómeno de "sacudimiento" como in- dicativo de anticuerpos antiesperma (tabla núm.1), obte- - niéndose dos resultados positivos. Además cuando durante- la prueba de penetración "in vitro" se observó inmoviliza- ción en gran escala de espermatozoides, se decidió llevar- a cabo la prueba de inmovilización en moco según la técni- ca de ISOJIMA.

Los resultados de la prueba de penetración se indican en la tabla núm. 4, comparándose con los resultados del exámen post coital y la presencia de anticuerpos séricos.

La búsqueda de anticuerpos inmovilizantes en moco, arrojó los siguientes resultados: en tres muestras, se encontró un Vi 2 , en uno de los cuales el Vi fué de 4.16 (correspondiente a un 100% de inmovilización de espermatozoides).

La presencia del fenómeno de "sacudimiento" y títulos significativos de anticuerpos antiesperma en suero, nos sugirió la búsqueda de anticuerpos en plasma seminal, obteniéndose el único resultado positivo en semen, en un título de 1:32 (tabla núm. 1,2).

En la gran mayoría de las parejas, sólo uno de ellos presentaba anticuerpos inmovilizantes y rara vez ambos. (el 28% de los casos con anticuerpos inmovilizantes, se presentaron en sólo un miembro de la pareja, mientras que el 6.25% de los casos se presentaron en ambos miembros los anticuerpos).

De los pacientes que presentaron anticuerpos inmovilizantes, sólo dos presentaron anticuerpos aglutinantes también, es decir, sólo un 1.5%.

De los pacientes que presentaron anticuerpos aglutinantes, sólo tres de ellos presentaron también anticuerpos inmovilizantes, es decir, un 37.5% de estos. (tablas 3A y 3B) Un 78.6% de los pacientes que mostraron resultados positivos en la búsqueda de anticuerpos antiespermatozoides, señalan una historia de infertilidad de más de cinco años.

Asímismo, el 56% de los hombres y el 63.5% de las mujeres, miembros de las parejas estudiadas, tienen una edad - mayor de 30 años. (tabla núm. 5)

TABLA NUM. I:

RESULTADOS OBTENIDOS DURANTE TODAS LAS FASES DEL ESTUDIO.

Pareja Número:	Post Coital	Penetración de moco "in vitro"	SCMC (Sacudimiento)	Aglutinación Hombre (A)	Aglutinación Mujer (B)
1	Pobre	Buena	Positivo	1:128	1:32
2	Pobre	Pobre	Positivo	1:2048	1:256
3	Pobre	Regular	Negativo	1:4	Negativo
4	Regular	Buena	Negativo	1:8	1:8
5	Pobre	Buena	Negativo	1:64	1:8
6	Pobre	Buena	Negativo	Negativo	1:256
7	Pobre	Excelente	Negativo	Negativo	Negativo
8	Pobre	Buena	Negativo	1:4	Negativo
9	Pobre	Regular	Negativo	Negativo	Negativo
10	Pobre	Regular	Negativo	Negativo	Negativo
11	Regular	Buena	Negativo	Negativo	Negativo
12	Pobre	Regular	Negativo	Negativo	Negativo
13	Pobre	Pobre	Negativo	1:64	Negativo
14	Pobre	Pobre	Negativo	1:64	Negativo
15	Pobre	Buena	Negativo	1:4	1:4
16	Regular	Regular	Negativo	1:16	Negativo

TABLA NUM. I:

RESULTADOS OBTENIDOS DURANTE TODAS LAS FASES DEL ESTUDIO (Continuación)..

Pareja Núm. :	Inmovilización Hombre	Mujer	Moco	MAR-TEST	Tiempo sin Procrear	Edades H	M
	Vi	Vi	Vi	Título			
1	2.21	1.75	3.0	Negativo	16 años	45	38
2	1.38	2.6	3.35	1:32	14 años	48	43
3	0.75	2.12	-	Negativo	8 años	35	32
4	1.46	2.41	-	Negativo	1 año	22	22
5	3.25	0.92	-	Negativo	3 años	25	30
6	1.46	1.42	3.2	Negativo	8 años	29	24
7	3.08	2.21	-	Negativo	5 años	36	35
8	2.25	1.33	-	Negativo	8 años	31	28
9	1.08	0.96	-	Negativo	8 años	34	30
10	4.16	2.04	-	Negativo	5 años	36	34
11	2.08	1.75	-	Negativo	8 años	36	32
12	1.33	2.16	4.16	Negativo	5 años	33	30
13	1.6	1.79	-	Negativo	8 años	45	33
14	1.5	1.91	-	Negativo	3 años	25	23
15	2.38	0.8	-	Negativo	7 años	30	28
16	1.54	1.66	-	Negativo	8 años	33	30

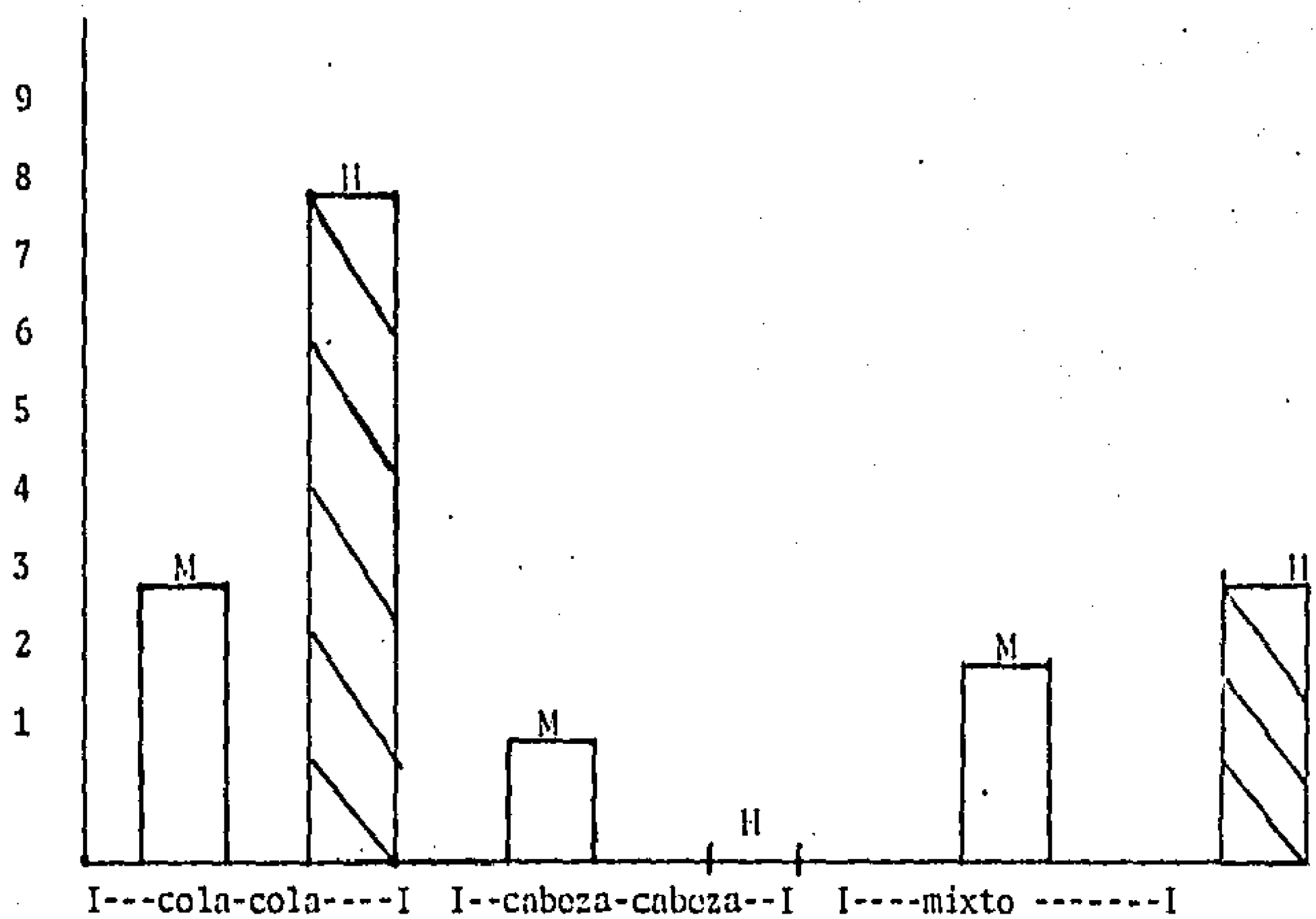


FIGURA 5: Frecuencia de las diferentes modalidades de aglutinación M= mujer, H= hombre.

Grupo de Pacientes	Presentaron aglut.	Títulos								Tipo de Aglutinación. (+).		
		1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:2048	C	Cb	M
MUJERES	6	1	2	0	1	0	0	2	0	3	1	2
HOMBRES	10	3	1	1	0	3	1	0	1	8	0	2

Tabla II: Resultados de la prueba de aglutinación.

(+) c = cola - cola

cb= cabeza - cabeza

m = mixto.

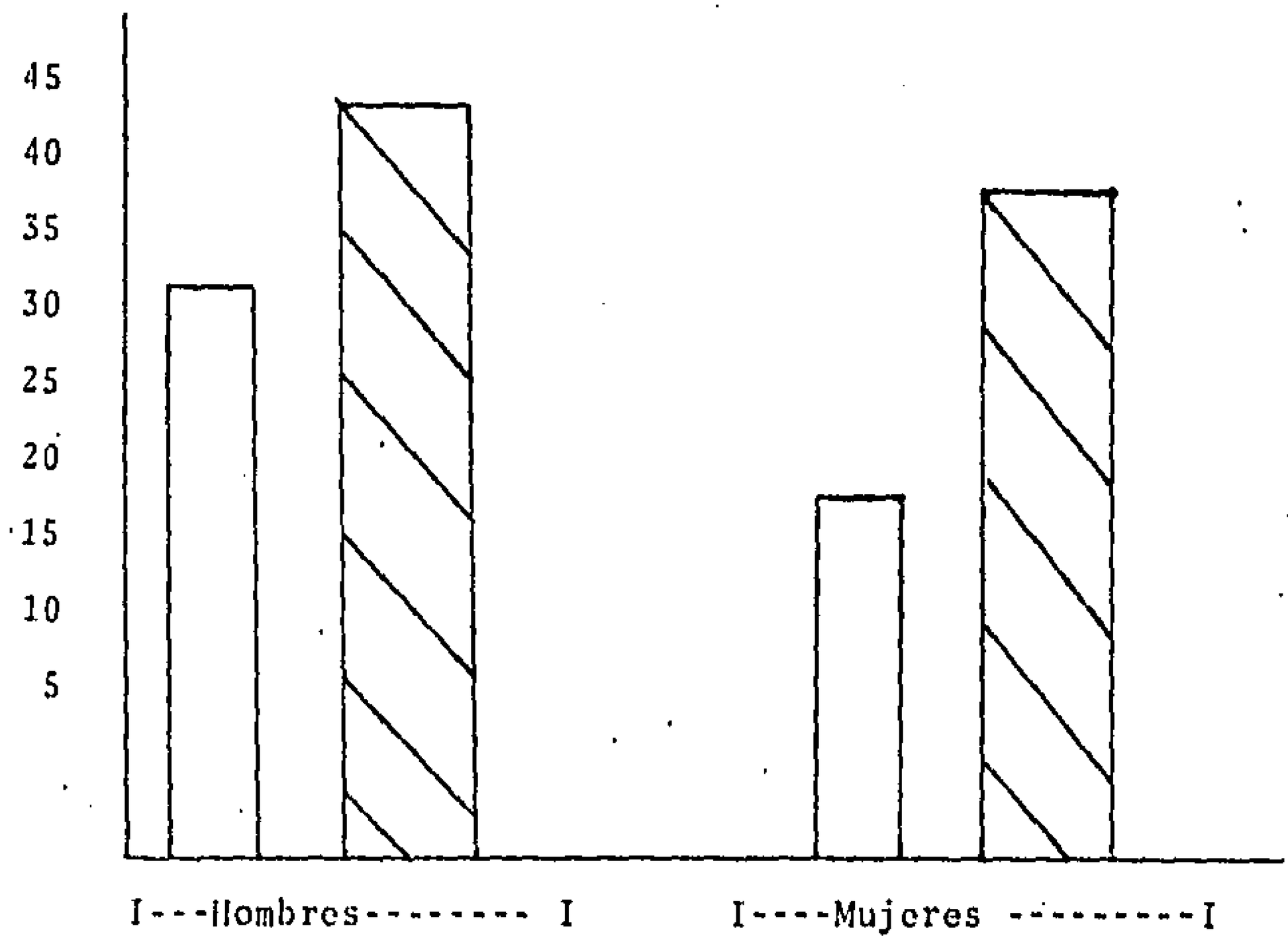


FIGURA 6: Incidencia de anticuerpos séricos.

= Prueba de inmovilización
= Prueba de aglutinación.

	MICROAGLUTINACION Método Franklin-Duke		INMOVILIZACION Método Isojima	
	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres
Número total de pacientes	16	16	16	16
Número pacientes Positivos	3	5	6	7
Porcentaje de pacientes positivos.	18.75%	31.25%	37.50%	43.75%

TABLA III: Incidencia de resultados positivos en muestras de suero de parejas infértiles. (positivos=título mínimo de 1:32.)

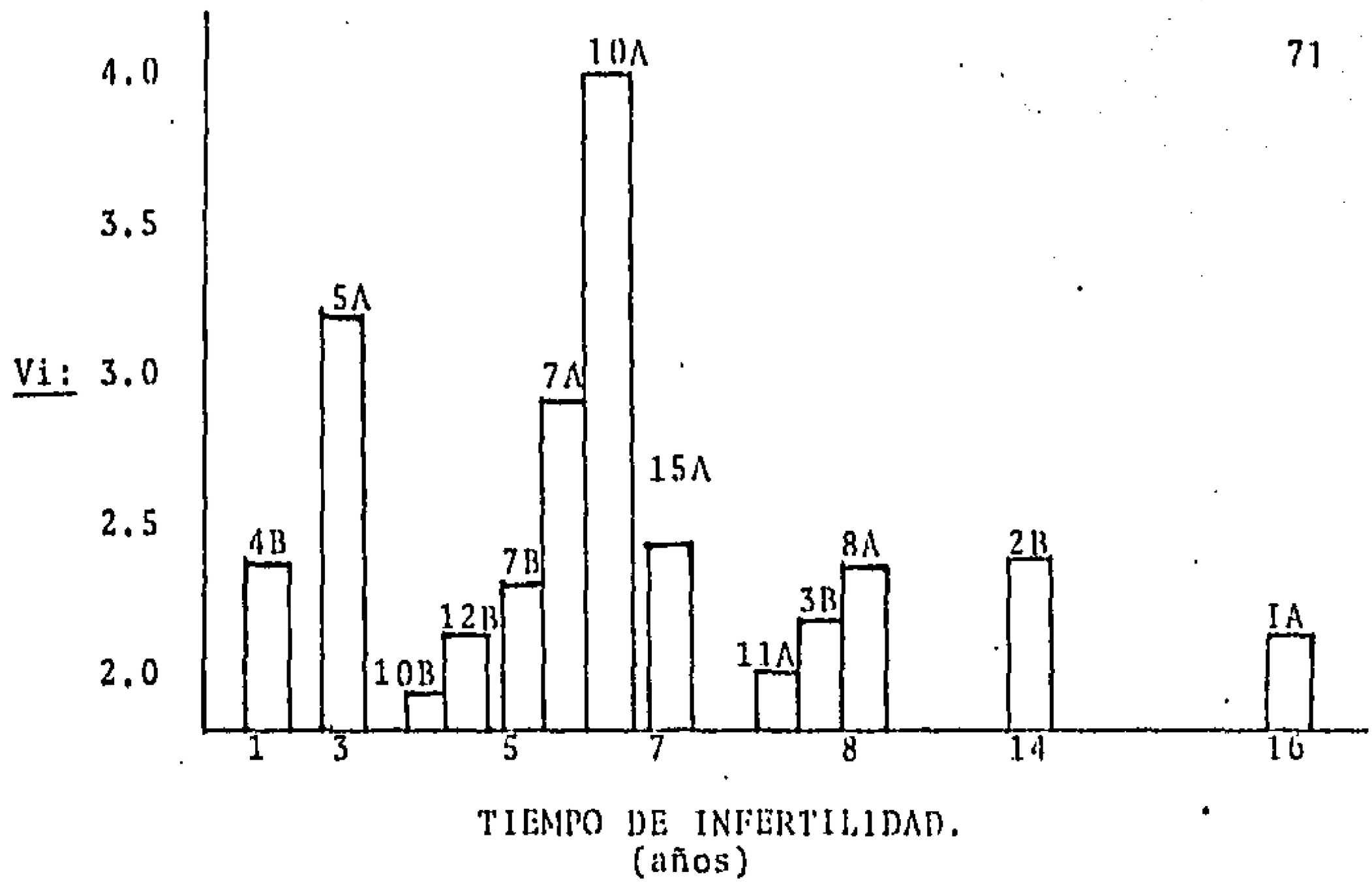


FIGURA 7: Valores de Inmovilización en relación al tiempo de Infertilidad de la pareja.

Paciente Núm.	Valor de Inmovilización.		Años de Infertilidad.	Calidad de semen.	Post coital.
1A	2.21	-	16	Regular	Pobre
2B	2.6	3.35	14	Buena	Pobre
3B	2.12	-	8	Buena	Pobre
4B	2.41	-	1	Buena	Regular
5A	3.25	-	3	Buena	Pobre
6B	-	3.2	8	Buena	Pobre
7A	3.08	-	5	Regular	Pobre
7B	2.21	-	5	Buena	Pobre
8A	2.25	-	8	Buena	Pobre
10A	4.16	-	5	Regular	Pobre
10B	2.04	-	5	Regular	Pobre
11A	2.08	-	8	Buena	Regular
12B	2.16	4.16	5	Buena	Pobre
15A	2.38	-	7	Excelente	Pobre

TABLA III-A: Historia clínica de los pacientes con resultados positivos de anticuerpos inmovilizantes.

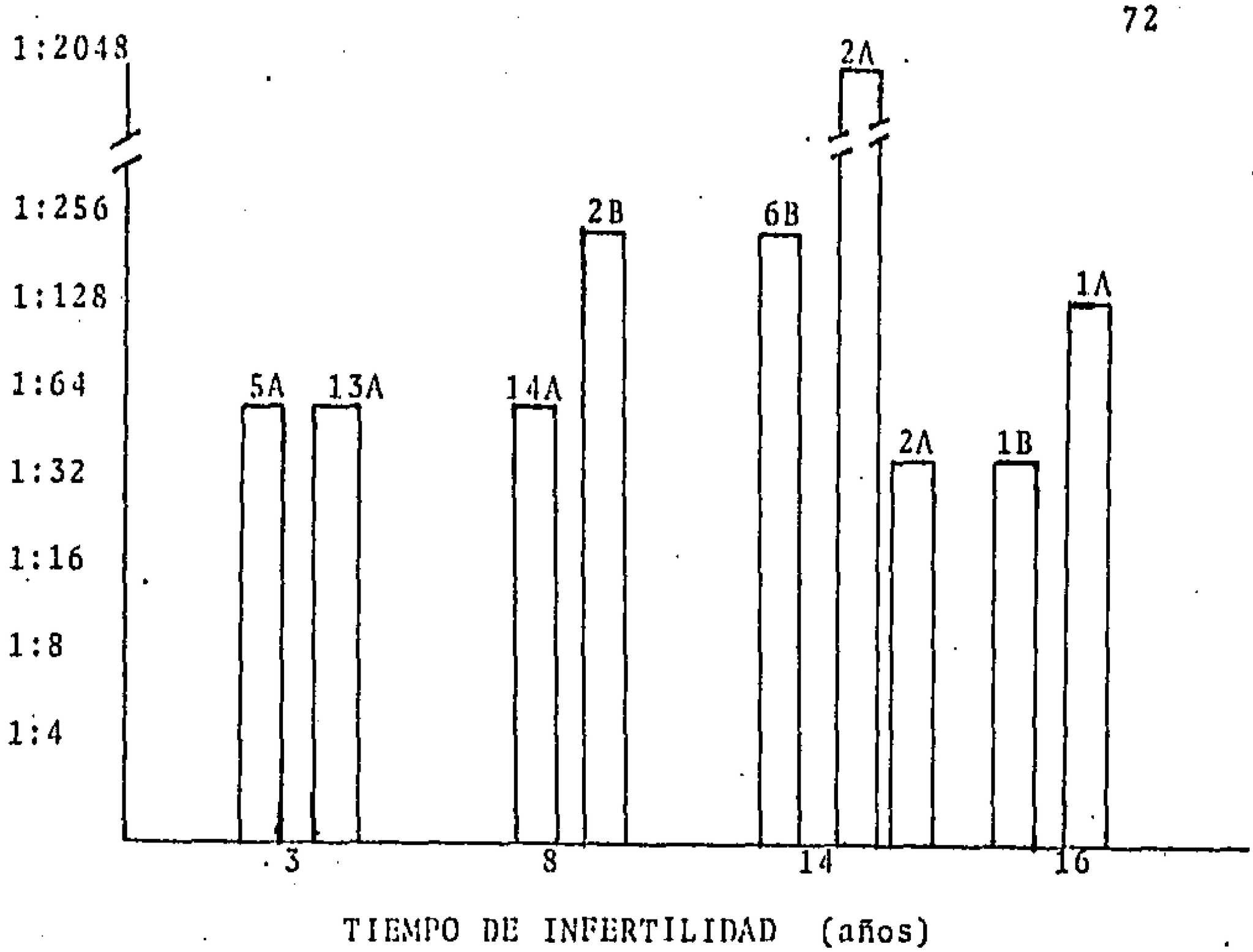


FIGURA 8: Títulos de aglutinación en relación al tiempo de infertilidad de la pareja.

Paciente número:	Título de Aglut.	Años de Infertilidad	Calidad de Semen	Post Coital
1A	1:128	16	Regular	Pobre
1B	1:32	16	Regular	Pobre
2A	1:2048	14	Buena	Pobre
2B	1:256	14	Buena	Pobre
5A	1:64	3	Buena	Pobre
6B	1:256	8	Buena	Pobre
13A	1:64	8	Regular	Pobre
14A	1:64	3	Buena	Pobre
	Título de Aglutinación Semen:			
2A	1:32	14	Buena	Pobre

TABLA III-B: Historia clínica de los pacientes con anticuerpos-aglutinantes en suero.

TABLA NUM. IV:

INTEGRACION DE RESULTADOS DE EXAMENES POST COITAL, PENETRACION DE MOCO "IN VITRO, Y ANTICUERPOS AGLUTINANTES E INMOVILIZANTES.

Pareja Núm:	Post coital	Penetración de moco "in vitro"	Presencia de Anticuerpos			
			Aglutinantes títulos más-altos.		Inmovilizantes (suero, moco)	
			suero	semen	Vi:	Vi:
1	Pobre	Buena	1:128	-	2.21	3.0
2	Pobre	Pobre	1:2048	1:32	2.6	3.35
3	Pobre	Regular	1:4	-	2.12	-
4	Regular	Buena	1:8	-	2.41	-
5	Pobre	Buena	1:64	-	3.25	-
6	Pobre	Buena	1:256	-	1.46	3.2
7	Pobre	Excelente	-	-	3.08	-
8	Pobre	Buena	1:4	-	2.25	-
9	Pobre	Regular	-	-	1.08	-
10	Pobre	Regular	-	-	4.16	-
11	Regular	Buena	-	-	2.08	-
12	Pobre	Regular	-	-	2.16	4.16
13	Pobre	Pobre	1:64	-	1.79	-
14	Pobre	Pobre	1:64	-	1.91	-
15	Pobre	Buena	1:4	-	2.38	-
16	Regular	Regular	1:16	-	1.66	-

TABLA NUM. V:

RELACION DE PAREJAS CON ANTICUERPOS ANTIESPERMATOZOIDES - PRESENTES EN SUERO, SEMEN O MOCO EN CUALQUIERA DE LOS MIEMBROS: COMPARADA CON SU EDAD Y EL TIEMPO SIN PROCREAR.

Pareja Núm.	E D A D		Tiempo de Infertilidad:
	Mujeres	Hombres	(años)
1	38	45	16
2	43	48	14
3	32	35	8
4	22	22	1
5	30	25	3
6	24	29	8
7	35	36	5
8	28	31	8
10	34	36	5
11	32	36	8
12	30	33	5
13	33	45	8
14	23	25	3
15	28	30	7

5.- COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

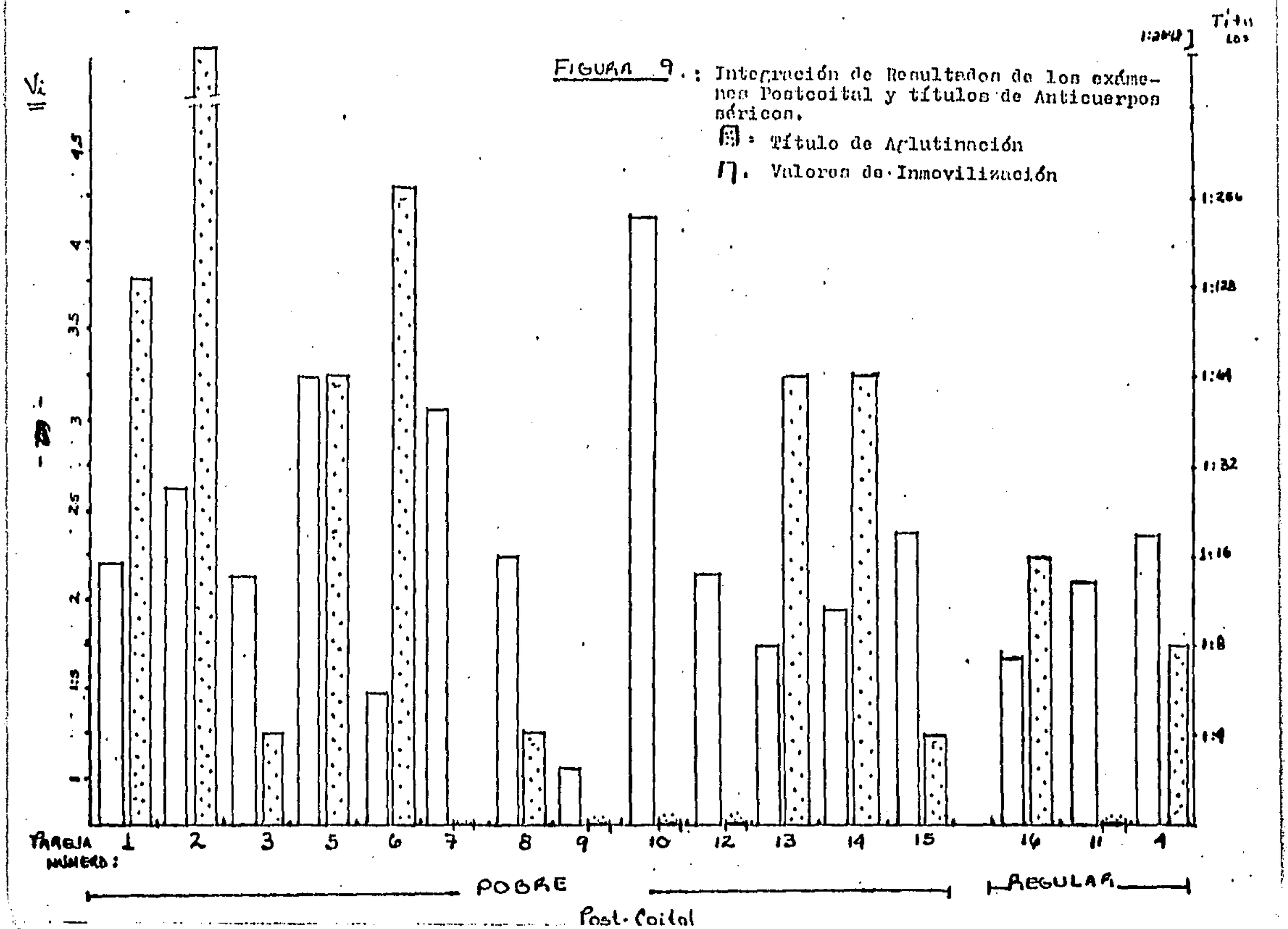


FIGURA 9.: Integración de Resultados de los exámenes Postcoital y títulos de Anticuerpos séricos.

▦ : Título de Aglutinación

⊓. Valores de Inmovilización

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo, podemos concluir que:

1.- De los 32 pacientes estudiados (16 parejas), el 56.26% del total de los mismos, presentaron anticuerpos antiespermatozoides, ya sea en suero sanguíneo, moco cervical o plasma seminal. De este porcentaje, un 25% corresponde a mujeres, y un 31.25% corresponde a hombres; es decir, el 50% de las mujeres y el 62.5% de los hombres estudiados tuvieron anticuerpos de este tipo. (Cifras que resultan elevadas en comparación con los resultados de las series publicadas por Beer, Alexander, Shulman, (6), (3) y (32) respectivamente, donde reportan que aproximadamente entre el 11.8 y 18.1% de los pacientes estudiados presentan anticuerpos; correspondiendo un 9-15.9% a las pacientes mujeres y un 2.8 - 9.8 % a pacientes hombres).

El porcentaje elevado obtenido en este estudio, probablemente se encuentre favorecido por: las modas del mundo moderno, como son el retraso del embarazo y la gran proliferación de métodos anticonceptivos, aunados a la crisis económica que actualmente vive nuestro país.

2.- La presencia de anticuerpos inmovilizantes en tres muestras de moco cervical y de anticuerpos aglutinantes en una muestra de semen, apoyan la hipótesis de que se presenta una respuesta inmune local contra los espermatozoides a nivel de tracto genital. El porcentaje mayor de anticuerpos correspondió a las muestras del tracto genital, por sobre las muestras séricas, lo que indica que tuvo que haber respuesta local para obtener un título de anticuerpos mayor.

3.- Títulos de anticuerpos inmovilizantes en moco, no es - indicativo de la presencia de anticuerpos inmovilizantes en suero, y viceversa. Pero es importante considerar su búsqueda en moco, cuando los títulos séricos - sean altos.

4.- La presencia de anticuerpos aglutinantes no implica la presencia de anticuerpos inmovilizantes, pudiendo coexistir los dos tipos en el suero.

5.- La combinación: Post coital pobre + Prueba de penetración de moco "in vitro" pobre, en parejas con semen y moco cervical normal, es sugestivo de Infertilidad Inmunológica. Pero además, en nuestros resultados, observamos que aún con una prueba de Penetración "in vitro" buena, se presentan anticuerpos antiespermatozoides en suero, moco o semen.

6.- La prueba de Contacto de moco cervical - esperma, es - un método simple para detectar anticuerpos antiespermatozoides en semen o moco cervical, siempre y cuando el título de anticuerpos aglutinantes sea alto. Además - cabe señalar que esta prueba no es cuantitativa.

7.- Los pacientes con Post coital Deficiente, mostraron anticuerpos antiespermatozoides ya sea sistémicos o locales. Esto demuestra que la presencia de anticuerpos - sobre todo del tipo Inmovilizante, afecta el resultado del Exámen Post coital, ya que impide el movimiento de los espermatozoides.

8.- Títulos de anticuerpos aglutinantes en suero de hombre no necesariamente implica la presencia de estos en lí-

quido seminal. Pero cuando los títulos séricos son altos, es importante buscar estos anticuerpos a nivel de plasma seminal.

9.- La prueba MAR, constituye un método práctico para la - determinación de anticuerpos antiesperma en el plasma- seminal y puede pensarse en ella como un exámen más - que puede incluirse dentro del exámen de rutina del - plasma seminal.

10.- Confirmando lo indicado en las referencias de Beer (6) una de las pacientes estudiadas, refirió haber usado - DIU por 10 años y resultó tener en moco cervical un Vi = 3.35, por lo que podemos afirmar que el uso de este- dispositivo, a largo plazo, acarrea la producción de - anticuerpos locales en moco.

11.- La alta incidencia de pacientes con anticuerpos antiespermatozoides; aglutinantes o inmovilizantes, en aquellas parejas catalogadas infértiles por "causa desconocida", pueden disminuir aún más su probabilidad de embarazo.

Aunque la Infertilidad Inmunológica no es completamente entendida, los títulos de anticuerpos antiespermatozoides nos indican que estos pueden jugar un papel muy importante en el proceso de la Fertilidad.

12.- Es de importancia que el médico cuente con pruebas de- laboratorio que pongan de manifiesto los anticuerpos - antiespermatozoides en aquellos pacientes que ya han - sido estudiados y cuya causa de infertilidad no ha si- do definida.

13.- La determinación de Anticuerpos contra espermatozoides como causa posible del problema, sirven además para evaluar la evolución inmunológica de los pacientes durante el Tratamiento empleado.

14.- Las técnicas en este trabajo, no representan un gran desembolso para el laboratorio, pudiéndose implantar dentro de su "roll" de exámenes. Y lo único que requieren son un poco de tiempo e interés por parte de la persona que los tiene a su cargo.

15.- La mayoría de los pacientes que presentan anticuerpos ya sea a nivel sérico o local, tienen un historial de más de tres años de matrimonio (81.25%); lo que indica que se requiere un período largo para la sensibilización. El título de anticuerpos es proporcional al tiempo de infertilidad.

16.- Es indudable el escepticismo por parte de los médicos, respecto al papel que juegan los anticuerpos antiespermatozoides en el proceso de Fertilidad y aún difícil borrar estas dudas, pero éste y futuros estudios, ayudarán a reafirmar la importancia de la Inmunología en el problema de la Infertilidad.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

6.- BIBLIOGRAFIA

1.- Abdel F.A., Abdel A.A., Habeid M., Rafik M. Studies on Infertility in Males. Fertility and Sterility. Vol. 33 No. 6, 1980 p. 157.

2.- Alexander N.J. Anderson D.J. Vasectomy: Consequences of autoinmunity to sperm antigens. Fertility and Sterility Vol. 32: No. 3, 1979, p. 348.

3.- Alexander N., Bearwood D. And inmunosorption assay for-antibodiesto spermatozoa; comparison with agglutination and inmobilization test. Fertility and Sterility. Vol.- 41: No. 2, 1984, p. 270.

4.- Alexander N.J. Antibodies to human spermatozoa impede-sperm penetration of cervical mucus or hamster eggs. - Fertility and Sterility, Vol. 41: No. 3, 1984, p. 433.

5.- Baker G. Clarke G.N., Mc Gowan M.P., Hoon Koh S., Cau-chi M.N. Incresead frecuency of autoantibodies in men-with sperm antibodies. Fertility and Sterility. Vol.43: No. 3, 1985, p. 459.

6.- Beer A., Neaves W.B. Antigenic Status of semen from -- the viewpoints of the female and male. Fertility and - Sterility. Vol. 29: No. 1, 1978, p. 03.

7.- Blandau R.J. In vitro fertilization and Embryo transfer Fertility and Sterility. Vol.33: No.1, 1980, p.03.

8.- Bronson R.A., Cooper G.E., Rosenfield D.L. Autoinminity to spermatozoa: effect on sperm penetration of cervical mucus as reflectedby post coital testing. Fertility and Sterility. Vol. 41: No. 4, 1984, p. 609

9.- Cantuaria A.A., Jones A.L. Influencia de las Inmuno-- globulinas sobre emigración del esperma en las secre-- ciones córvico vaginales de las mujeres estériles. Laboratorio Vol. 72: No. 427, 1981, p. 56.

10.- Forbes W., Sledronska J., Parslow J., Hughes L. The results of intermitentshigh doses steroid therapy for male infertility due to antisperm antibodies. Fertility. Vol. 36: No. 3, 1981, p. 351.

11.- Hass G. Diagnóstico de Laboratorio de la Pareja Estéril Mundo Médico. Vol. IX: No. 100, 1982, p. 103.

12.- Hendry W.F. Stendronska J., Lake R.A. Mixed erythrocyte spermatozoa antiglobulin reaction (MAR-test) for IgA antisperm antibodie in subfertile males. Fertility and - Sterility. Vol. 37: No. 1, 1982, p. 108.

13.- Hill L.A., Hampton J.K. Detection of spermatozoal antibodies by Radio assay: A Comparative Evaluation. Fertility and Sterility. Vol. 33: No. 3, 1980, p. 302.

14.- Ingerslev H. L. Poulson F. Bromelin for liquefaction - of cervical mucus in sperm antibody testing: its effect on spermagglutinating inmunoglobulin G. Fertility and - Sterility. Vol. 33: No. 1, 1980, p. 61.

15.- Ingerslev H.J., Ingerslev M. Clinical Findings ind infertile women with circulating antibodies against spermatozoa. Fertility and Sterility. Vol. 33: No. 5, 1980, p. 514.

16.- Ingerslev H.J. Spermagglutinating antibodies and sperm-penetration of cervical mucus from infertile women with

spermagglutinating antibodies in serum. Fertility and-Sterility. Vol. 34: No. 6, 1981, p. 792.

17.- Insler V., Bernstein D., Glezerman M., Misgav N. Correlation of seminal fluid analysis with mucus penetrating ability of spermatozoa. Fertility and Sterility. Vol.32 No. 3, 1979, p. 316.

18.- Isojima S., Shun Li T., Ashitika Y. Inmunologic Analysis of sperm inmovilizing; factor found in sera of women - - with unexplained sterility. am J. Obstet. Gynecol. 1968, p. 677.

19.- Jager S., Kremer J., Kwiken J., Mulder I. The significanse of the induction of the shaking phenomenon by Pretreatment of spermatozoa with sera containig antispermatozoal antibodies. Fertility and Sterility. Vol. 36: No. 6 - 1981, p. 784.

20.- Jager S., Kremer J., Kwikwn J., Mulder I. The significanse of the Fc part of antiespermatozoal antibodies for - the shaking phenomenon in the sperm-cervical mucus contact test. Fertility and Sterility. Vol. 36: No. 6, 1981 p. 792.

21.- Jager S., Kwikwn J., Kremer J. Comparison of two supravital stains in examination of human semen and in test cytotoxic antibodies to human spermatozoa. Fertility and - Sterility. Vol. 41, No. 2, 1984, p. 294.

22.- Jones W. Inmunologic Infertility - fact or fiction. Fertility and Sterility Vol. 33: No. 6, 1980, p. 577.

23.- Katz D.F., Overstreet J.W., Hanson F.W. A new quantitati-

ve test for sperm penetration into cervical mucus. Fertility and Sterility. Vol. 33: No. 2, 1980, p. 179.

24.- Marmar J.L. Praus D.E., Benedict Th. J. Functional Role of spermagglutinating antibodies in men. Fertility-and Sterility. Vol. 34: No. 4, 1980, p. 365.

25.- Mathur S., Baker E.R., Williamson H.O. Derrick F.C., - Teague K.J. Fudenberg H.H. Clinical Significance of - Sperm antibodies in infertility. Fertility and Sterility, Vol. 36: No. I, 1981, p. 486.

26.- Matthews C.D., Makin A.E., Woodrow L. Experience with-in vitro sperm penetration testing in infertile and - fertile couples. Fertility and Sterility. Vol. 33: No. 2, 1980, p. 187.

27.- Mettler L., Shirwani D. Intervención de los anticuer-- pid contra el esperma en la reproducción humana. Laboratorio. Vol. 72: No. 432, 1981, p. 565.

28.- Rosse P.G., Blandau R.J., LEE W.I., Sperm penetration-into cervical mucus in vitro I. Comparative studies. - Fertility and Sterility. Vol. 33: No. 6, 1980, p.636.

29.- Rosse P.G., Blandau R.J., Lee W.I., Sperm penetration-into cervical mucus in vitro II. Human spermatozoa in-bovine mucus. Fertility and Sterility. Vol. 33: No. 6, 1980, p. 644.

30.- Rousseau S. Antisperm antiboides and infertility. Fertility and Sterility. Vol. 40: No. 4, 1983, p. 549.

31.- Schoenfeld C. amelar R.D., Dubin L., Amelar S.A. new -

stainig technique for the rapid determination of the - morphologic characteristics of sperm. Fertility and - Sterility. Vol. 36: No. 3, 1981, p. 408.

32.- Shulman S., Jackson H., Stone M. Antibodies to spermatozoa. Comparative Studies of spermagglutinating activity in groups of infertile and fertile women. Am J. - Obstet Gynecol. 1975, p. 139.

33.- Shulman S., Harlin B., Davis P., Reyniak J.V. Inmune - Infertility and New Approaches to Treatment. Fertility and Sterility. Vol. 29, No. 3, 1978, p. 309.

34.- Sullivan H., Quinlivan W.L. Inmunoglobulins in the semen of men with azoospermia, oligospermia, or self - - agglutination of spermatozoa. Fertility and Sterility- Vol. 34: No. 5, 1980, p. 465.

35.- Wong C., Gordon H.W., Gail M., Burger H., Lutjin P. Interaction between human cervical mucus and sperm surface antibodies. Fertility and Sterility. Vol.44: No. 4- 1985, p. 570.

36.- Amelar R.D. Infertilidad en el varón. España. Editr. - ESPAXS, 1968.

37.- Benson R.C. Diagnóstico y Tratamiento Gineco Obstétrico, tercera edición, México, Editr. El Manual Moderno- 1983.

38.- Cohen J. Hendry W.F. Spermatozoa Antibodies and Infertily. England. Blackwell Scientific Publications,1978.

39.- Cockott A.T. Urry R.L. Male Infertility. U.S.A. Grune and Stratton, 1968.

40.- Demorest R., Sciarra J. Una Presentación visual de concepción y Nacimiento y Anticoncepción. México. Mc Graw Hill Editr. 1976.

41.- Guyton A. Medical Physiology, fourth edition. U.S.A. W. B. Saunders Company, 1971.

42.- Hargreave T.B. Male Infertility. U.S.A. Springer - Verlag, 1983.

43.- Joel C.A. Estudios sobre el esperma humano. España. Editores Científico Médico. 1954.

44.- Mancini R.E., Martini L., Male Fertility and Sterility England Academic Press, 1974.

45.- Pérez Peña E. Infertilidad, Esterilidad y Endocrinología de la Reproducción. México. Editr. Salvat, 1981.

46.- Tyler E.T. Sterility. U.S.A. Mc Graw Hill, 1961.

47.- Wallech E., Kempers R. Modern Trends in Infertility and conception control. U.S.A. The Williams and Wilkins Company, 1979.