



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**Instituto Nacional de Perinatología
“Isidro Espinosa de los Reyes”
Subdirección de Medicina Reproductiva**

EFFECTO DE LA CAPACITACIÓN IN VITRO SOBRE
LOS NIVELES DE ANTICUERPOS ANTI-ESPERMA
(AAE) EN VARONES INFERTILES

TESIS

Que para obtener el título de:

ESPECIALISTA EN BIOLOGÍA DE LA
REPRODUCCIÓN HUMANA

PRESENTA:

JOSÉ LUIS ELIZARRARÁS CENDEJAS

DR. GREGORIO PÉREZ PALACIOS
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN

DR. ARMANDO JUÁREZ BENGOA
DIRECTOR DE TESIS



MÉXICO, D.F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

DR. JOSE JORGE ESPINOSA CAMPOS
DIRECTOR DE ENSEÑANZA

DR. GREGORIO PÉREZ PALACIOS
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA
REPRODUCCIÓN HUMANA

DR. GERARDO BARROSO VILLA
PROFESOR ADJUNTO DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA
REPRODUCCIÓN HUMANA

DR. ARMANDO JUÁREZ BENGOA
DIRECTOR DE TESIS

ÍNDICE DE CONTENIDOS

PAGINA

I.	INTRODUCCIÓN	
	1.1 MARCO TEÓRICO.....	1
	1.2	1
	1.3	2
	1.4	3
	1.4.1	3
	1.4.2	5
	1.4.3	5
	1.4.4	6
	1.5	6
	1.6	6
	1.6.1	7
	1.6.2	9
	1.7	10
	1.8	11
	1.8.1	11
	1.8.2	12
II.	2.1 MATERIAL Y MÉTODOS	
	2.1.1 CONTEXTO Y SELECCION DE LITERATURA PARA MARCO TEÓRICO.....	13
	2.1.2	15
	2.1.3	15
	2.1.4 DEFINICIONES Y VARIABLES DE ESTUDIO.....	21
	2.1.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	23
III.	3.1 RESULTADOS	
	3.1.1	25
	3.1.2	34
	3.1.3	43
	3.1.4	47
IV.	4.1 ANEXOS	
	4.1.1	48
V.	5.1 BIBLIOGRAFÍA.....	50
VI.	6.1 RESUMEN DEL CURRÍCULUM DEL TESISISTA.....	53

CAPITULO 1	INTRODUCCION	1
CAPITULO 2	MATERIAL Y MÉTODOS	13
CAPITULO 3	RESULTADOS	25
CAPITULO 4	DISCUSION	43
CAPITULO 5	ANEXOS	47
CAPITULO 6	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	49
CAPITULO 7	RESUMEN DEL CURRICULUM DEL TESISISTA	52

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

TITULO DE LA TABLA	
#	Pagina
1	7
2	8
3	8
4	25
5	26
6	26
7	27
8	27
9	29
10	28
11	29
12	30
13	30
14	30
15	31
16	31
17	32
18	32
19	33
#	Pagina
20	34
21	34
22	35
23	35
24	36
25	36
26	37
27	38
28	39
29	39
30	39
31	40
32	40
33	41
34	41
35	42

FIGURAS

#	TITULO DE LA FIGURA	PAGINA
1		14
2		14
3		16
4		17
5		19
6		20
7		24
8		25
9		29
10		39

RESUMEN (ESPAÑOL)

Tipo de estudio: Prospectivo/transversal, observacional y analítico.

Objetivo: Evaluar el efecto de la capacitación espermática in vitro de varones infértiles con anticuerpos anti-esperma (AAE) positivos altos evaluados con sperMAR test® e Immunobeads® (IBT) y las variaciones de medición entre ellos.

Material y métodos: Se realizó en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER) buscando pacientes en la base de datos de laboratorio de andrología de 2007 a junio del 2008 en busca de varones con AAE elevados (>50%). Se evaluó la variación intra-observador y se evaluaron en las muestras seminales recolectadas y analizadas de acuerdo a la OMS; las pruebas sperMAR IgG, IBT IgA e IgG directos se realizaron de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Posteriormente se capacitaron in-vitro (CIV) con fluido tubario humano (HTF) + albúmina humana al 10% con gradiente de densidades (Isolate® ó Percoll®) y se repitieron las mismas mediciones post-CIV. Para el análisis de las variables estudiadas se utilizó prueba de Wilcoxon y estadística descriptiva.

Resultados: Se encontraron 13 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión, se encontró una mejora significativa en los parámetros seminales post-CIV de morfología ($p = 0.002$), movilidad tipo A ($p = 0.008$) y B ($p = 0.003$) sin cambios significativos en la concentración espermática ($p = 0.753$). Los niveles de AAE disminuyeron significativamente post CIV cuando fue medida IgG con sperMAR con media pre-CIV 74.4% a 38% post-CIV ($p = 0.01$). No se encontraron diferencias significativas para mediciones de AAE con IBT IgA (0.726) ni IgG ($p = 0.359$). Solo hubo correlación entre sperMAR IgG e IBT IgG pre-CIV ($p = 0.016$)

Conclusiones: La CIV disminuye los niveles de AAE medidos con IgG sperMAR directa en varones infértiles con AAE positivos altos, no así para AAE medidos por IBT directos IgA e IgG. No hubo correlación con las distintas técnicas de medición de AAE utilizadas.

RESUMEN (INGLÉS)

Study design: Prospective/transversal, observational and analytic.

Objective: Evaluate the effect of in-vitro sperm capacitation (CIV) in male with high elevated anti-sperm antibodies (ASA) evaluated with sperMAR test® and Immunobeads test® (IBT) and the variations between these methods.

Material and Methods: The study was performed at Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” (INPerIER) searching for patients with high levels of ASA (>50%) in the andrology laboratory database from 2007 to 06/2008. The interobserver variation was determined and the samples were evaluated according with de WHO and the direct sperMAR test and IBT were performed following the fabricant instructions.

The samples were CIV with human tubal fluid (HTF) + 10% human albumin, and density gradients (Isolate® or Percoll®) and a second measurement was made post-CIV.

For the analysis of our variables we made Wilcoxon test and descriptive measures

Results: Thirteen patients were found according the inclusion criteria, we found a significative improvement on the post-CIV seminal parameters: morphology ($p = 0.002$), A motility ($p = 0.008$), B motility ($p = 0.003$) and no significative changes on density ($p = 0.753$). The ASA levels diminished statically when measures with direct IgG sperMAR from a mean of 74.4% to 38% ($p = 0.01$). No statistic differences were found on ASA levels when measured with direct IBT IgA ($p = 0.726$) nor IgG ($p = 0.359$). Only with IgG sperMAR and IBT pre-CIV we observed correlation ($p = 0.016$).

Conclusions: The CIV diminish the levels of ASA when massured with direct sperMAR test in mal with high ASA levels, but not when massured with direct IBT for IgA nor IgG. There were no correlation among the different techniques of ASA measures.

CAPÍTULO 1 (INTRODUCCIÓN)

Los primeros métodos para describir los AAE se realizaron desde el año 1900 por Metchnikoff¹ y Metalnikoff², después de esto se han descrito una gran cantidad de ensayos al respecto que pueden realizarse con plasma seminal, suero, espermatozoides o moco cervical y son un componente importante en la evaluación seminal.

Los estudios a finales la década de 1950 por Rumke y Hellinga³ demostraron que un número significativo de hombres infértiles presentan autoinmunidad contra los espermatozoides y sugirieron que los AAE pueden interferir con la capacidad de fertilizar de los espermatozoides.

En años más recientes Sushan y Schenker⁴, Vázquez-Levin⁵, Koide y col⁶, mostraron que los AAE pueden actuar negativamente en la motilidad de los espermatozoides en el semen, en la fusión de los gametos que es pieza clave en el evento de la fertilización y también aun pueden interferir en el primer evento del desarrollo embrionario.

Los métodos para detectar AAE más utilizados y difundidos a la fecha son la de inmunoglobulinas mixtas (MAR) y la de inmunobeads (IBT), ambos utilizan microperlas recubiertas de antiglobulinas; el primer método fue descrito por Jager⁷ en 1978, Vermeulen y Comhaire⁸ en 1983; el segundo IBT fue descrito en 1981 por Bronson⁹. Actualmente con el desarrollo de la proteómica se pueden identificar de manera individual los anticuerpos de manera individual, sin embargo parece que los efectos adversos de los AAE no dependen de un solo anticuerpo, por lo que en el futuro deberá desarrollarse una prueba con varios anticuerpos importantes en el proceso reproductivo.

Actualmente el método mas usado para

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente los criterios para decidir el tipo de procedimiento de reproducción asistida a que deben ser sometidos los varones con AAE fuertes y débiles no están del todo definidos. Es importante si por medio de las 2 pruebas para medir AAE mas difundidas como lo son sperMAR test® e Immunobeads test® se pudiera identificar cambios importantes en los niveles de AAE antes y después de capacitación in vitro; y subsecuentemente generar hipótesis y trabajos que ayuden a definir si los varones que mejoran hipotéticamente con esta intervención tienen resultados favorables en procedimientos reproductivos de baja o alta complejidad respectivamente.

Otro aspecto importante a evaluar es la variación entre dos mediciones; esto con el objeto de determinar si es de importancia confirmar con una segunda o tercera prueba dicho diagnóstico que no está establecido en el último manual de la OMS.

MARCO TEÓRICO

PERSPECTIVA HISTORICA

Los primeros métodos para describir los AAE se realizaron desde el año 1900 por Metchnikoff y Metalnikoff^{1,2}, después de esto se han descrito una gran cantidad de ensayos al respecto que pueden realizarse con plasma seminal, suero, espermatozoides o moco cervical y son un componente importante en la evaluación seminal.

Los estudios a finales la década de 1950 por Rumke y Hellinga³ demostraron que un número significativo de hombres infértiles presentan autoinmunidad contra los espermatozoides y sugirieron que los AAE pueden interferir con la capacidad de fertilizar de los espermatozoides.

En años más recientes Sushan y Schenker⁴, Vázquez-Levin⁵, Koide⁶ y col, mostraron que los AAE pueden actuar negativamente en la motilidad de los espermatozoides en el semen, en la fusión de los gametos que es pieza clave en el evento de la fertilización y también aun pueden interferir en el primer evento del desarrollo embrionario.

Los métodos para detectar AAE más utilizados y difundidos a la fecha son la de inmunoglobulinas mixtas (sperMAR®) y la de immunobeads test® (IBT), ambos utilizan microperlas recubiertas de antiglobulinas ; el primer método fue descrito por Jager en 1978⁷, Vermeulen y Comhaire⁸ en 1983; el segundo IBT fue descrito en 1981 por Bronson⁹. Actualmente con el desarrollo de la proteómica se pueden identificar de manera individual los anticuerpos de manera individual, sin embargo parece que los efectos adversos de los AAE no dependen de un solo anticuerpo, por lo que en el futuro deberá desarrollarse una prueba con varios anticuerpos importantes en el proceso reproductivo.

ORIGEN DE LOS AAE

El desarrollo de AAE en el hombre dependen del secuestro de los antígenos de las células germinales por la presencia de la barrera hemato-testicular, durante la fase de la espermatogénesis se expresan nuevos antígenos que se muestran en los espermatozoides en desarrollo y espermátides, cuando estos antígenos se ponen en contacto con las células inmunocompetentes, la formación de AAE ocurren. Las anomalías en la formación de la barrera hemato-testicular, la disrupción traumática, la obstrucción críptica unilateral puede llevar a la formación de AAE, Muñoz y col.¹⁰ han encontrado evidencia de inmunidad cruzada con antígenos de microorganismos como Chlamydia. Otro aspecto interesante es el hecho que la exposición de espermatozoides expuestos a la mucosa intestinal en modelos animales y homosexuales generan AAE.

La secreción de dichos anticuerpos es diversa, también debe tomarse en cuenta que los antígenos de la membrana espermática es modificada en el epidídimo, Poulton y col.¹¹ describió el antígeno de AAE en hombres infértiles y vasectomizados en espermatozoides extraídos del epidídimo pero ausentes en los espermatozoides testiculares. Las glicoproteínas ligadoras de lecitina GP-83 y GP-39 presentes en la membrana de espermatozoides maduros son secretadas principalmente por las células principales del epidídimo y se conjugan con los espermatozoides durante su paso por este¹².

Con lo anterior puede deducir que se puede inducir antigenicidad intra y extra testicularmente sin que a la fecha existan estudios o trabajos que indiquen en que proporción se producen en las distintas partes del aparato reproductor.

TIPOS DE AAE

Además de la prueba MAR en la que se usan eritrocitos, existe una alternativa en que se usan perlas de látex, en contraste con las perlas de poliacrilamida usadas en IBT, las primeras tienen un diámetro uniforme de 2µm. Los reactivos para esta prueba se producen por el laboratorio Fertility Technologies Inc, EE.UU.

Para la prueba MAR existen IgG, IgA e IgM, estas recubren las perlas utilizadas o eritrocitos en su defecto, se agregan a 10µl de semen fresco sin lavar, la IgG es la más utilizada por su especificidad y su utilidad clínica. Dado que los anticuerpos IgA casi nunca ocurren sin la presencia simultánea de IgG, la determinación de esta última se considera suficiente como método de rutina.

En el caso de la prueba IBT, se requiere un proceso más complejo consistente en lavar los espermatozoides para que estos queden libres de plasma seminal, requiere mayor volumen que la prueba MAR, la prueba IBT puede obtenerse para IgG, IgM, e IgA (SperMAR IgG, Fertipro N.V. Industriepark Noord 32, 8730 Beernem Belgium. www.fertipro.com).

La prueba de IBT se puede hacer de manera indirecta en suero, plasma seminal o moco cervical solubilizado con bromelina. (Fertility Technologies Inc, EE.UU)

EFFECTO DE LOS ANTICUERPOS SOBRE LA FERTILIDAD

Este es un punto muy controversial con resultados muy variables de acuerdo a la cita o el centro que ha realizado los estudios, a la fecha sigue siendo un gran tema de debate en el medio, para la prueba MAR en un estudio por Comhaire y col.¹³, se encontró en 200 parejas estudiadas, los hombres de este grupo que tenían partículas adheridas a los espermatozoides móviles fueron significativamente más infértiles que los controles (OR 3.59, 1.13-11.41 IC95%), y ninguno de los controles estudiados tuvo >40% de positividad MAR para IgG con una $p = 0.034$. Otro estudio por Mahmoud y col.¹⁴, encontró que cuando los varones tenían >40% de positividad en el estudio MAR tuvieron solo 10 embarazos dentro de un grupo de 70 parejas seguidas por 601 meses-pareja con embarazos de 1.7% por pareja por ciclo.

Existen alrededor 10 tipos de proteínas implicadas a las que se fijan los AAE, tendrían que llevarse a cabo 10 tipos de estudio por ELISA para decidir si los pacientes estudiados tienen infertilidad de causa inmunitaria, las pruebas IBT y MAR se tornan positivos también con otras proteínas no implicadas en el proceso de fertilización.¹⁵

En cuanto a la motilidad, se ha reportado una asociación entre AAE e hipomotilidad espermática por Mathur y col.¹⁶, esto no se ha demostrado plenamente; debido a que los AAE se fijan a la membrana celular, las estructuras subcelulares no son alcanzadas por estos anticuerpos, luego es entonces difícil explicar como los AAE pueden interferir con la motilidad espermática. Se ha especulado que la función proteica intra y extra membrana puede ser alterada por los AAE. Otra posible explicación es la vía del complemento durante la penetración al moco cervical, pero el complemento es solo una fracción de la intensidad de la que se lleva a cabo a nivel sérico.

Munuce y col.¹⁷ en el 2000 determinó los parámetros de motilidad espermática por computadora (CASA), no encontró diferencias entre las muestras positivas a AAE detectadas por IBT y MAR, y aquellas libres de AAE. Los AAE se encontraron presentes en 15% de las muestras normozoospermicas y 9.5% de las muestras anormales.

Actualmente se estudia la implicación de las tubulinas, las tectinas, proteínas reguladoras del complemento, proteínas de intercambio cloruro bicarbonato, intercambiadores de aniones y proteosomas. No se conoce si los AAE interactúan con algunas de estas proteínas.¹⁸

PARAMETROS DE REFERENCIA DE AAE DE LA OMS

MAR

Para esta prueba se considera positiva si es de >10% de partículas adheridas a espermatozoides, se refiere como sospecha de significancia clínica si es de 10-50% y de significancia clínica probable si es >50%.

IBT

Para esta prueba se reporta como significativa si >20% de partículas están adheridas a los espermatozoides y se reporta como significativamente clínica si es >50%.¹⁹

TRATAMIENTOS RECOMENDADOS DE ACUERDO AL NIVEL DE AAE

Actualmente no existe un consenso en el manejo de AAE y se mencionan en base a la evidencia disponible las mejores alternativas terapéuticas.

Desde el punto de vista terapéutico, las enfermedades inmunológicas pueden ser tratadas con esteroides inmunosupresores, desafortunadamente no existen ensayos clínicos aleatorizados doble ciego, y a medida que se han usado métodos de reproducción asistida exitosos como el ICSI que ha sido exitoso inclusive en pacientes con AAE severa (>80%), se ha tendido a abandonar este tipo de manejos por lo que no se mencionaran.

Algunos grupos como la Sociedad Europea de Urología recomiendan ante niveles altos de AAE se pasen a un programa de reproducción asistida y denotan falta de eficacia con el uso de corticoesteroides.¹⁹

El tratamiento de primera línea para pacientes con AAE bajos (20-50%) es la inseminación intrauterina (IIU) usando espermatozoides capacitados in vitro con una diversa variedad de técnicas, utilizando como máximo 4 ciclos. La mayoría de los centros de reproducción

toman típicamente como punto de corte $>5-10$ millones/ml de espermatozoides o capacidad de fertilización previa probada, esto se sustenta en el estudio de Ombelet y col.²¹ donde se hizo comparó IIU y fertilización in vitro (FIV) preparando las muestras con swim-up convencional si los parámetros seminales eran normales y con Percoll si eran anormales, después se sometió la muestra a un medio rico en proteínas, se realizó inseminación con 10^5 espermatozoides por oocito en los 2 grupos de pacientes con infertilidad asociada a AAE. Se obtuvieron 64.3% de embarazos después de 3 ciclos de IIU y 93.3% después de 3 ciclos de FIV.

Para pacientes con niveles elevados de AAE ($\geq 80\%$ MAR/IBT) el tratamiento de elección es la inyección intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI), esto tiene base en el primer estudio reportado por Nagy y col.²² en 1995, ellos evaluaron un total de 37 pacientes con MAR/IBT $\geq 80\%$, la fertilización fue significativamente mayor en grupo AAE negativo, los autores concluyeron que el desarrollo embrionario, el índice de embarazo y fertilización después del ICSI no están influenciados por el porcentaje de partículas adheridas a los espermatozoides, ni por el tipo dominante de AAE, ni por la localización de estos en el espermatozoide, por otro lado ellos reportaron una significativa calidad espermática pobre en los pacientes AAE positivo comparado con la población general sometida a ICSI.

Posteriormente, tratando de re-examinar los datos de la ICSI en base a reportes previo, Clarke y col.²³ estudiaron un grupo de 39 pacientes con IBT altamente positivos ($\geq 80\%$ IgG ó IgA) que luego fueron a ICSI, los resultados de este estudio confirman que la fertilización y los índices de embarazo son comparables en los grupos AAE positivos y negativos, sin embargo este autor no reporta disminución en la calidad embrionaria ni mayor número de pérdidas del primer trimestre de pacientes AAE positivos.

ESTUDIOS DONDE SE COMPARAN AAE PRE Y POSTCAPACITACIÓN

Desde la década de 1980 se han reportado diversos métodos para eliminar los AAE con distintos métodos que incluyen dilución, cambios de pH, criopreservación, procesamiento con medios ricos en proteínas, métodos de digestión enzimático, métodos de migración, absorción de immunobeads y finalmente la que se tratará en el presente trabajo que es la capacitación in vitro. La capacitación in-vitro tiene distintos resultados en la literatura de acuerdo al método de medición de AAE, también con el método de capacitación.

Los primeros trabajos al respecto se hicieron en 1984 por Hinrichsen-Kohane y col.²⁴, el abordaje surgió de la idea de que durante la capacitación in vivo en el tracto genital femenino o in-vitro, los espermatozoides pierden parte de sus estructuras de membrana que están presentes al momento de la eyaculación. Muchas de estas estructuras se adhieren a la membrana durante su paso por el epidídimo como ya se expuso en puntos anteriores.

Los primeros reportes del efecto de la capacitación in-vitro en diferentes períodos de incubación se hicieron en 1990 por Fusi y Bronson²⁵ quienes encontraron que tiempos prolongados de incubación (>18 hrs) modificaban la antigenicidad de semen lavado y espermatozoides capacitados, Monroe y col.²⁶ en 1990 midieron con IBT IgA e IgG en espermatozoides sometidos a capacitación y encontraron una disminución en la antigenicidad contra espermatozoides autólogos, a este estudio le siguieron Lenzi y col.²⁷ en 1992 en el que se reportan disminución de AAE tanto estadística como significativamente medidos por IBT directo tratando espermatozoides con solución de Tyrode y albúmina humana sérica como medio de capacitación, midieron a las 3, 6, 9 y 12hrs.

OBJETIVO

Describir los cambios en los AAE medidos por sperMAR e Immunobeads test debidos a la capacitación espermatica in vitro en una población de varones infértiles con valores previos altos (>50%)

HIPÓTESIS

(Hipótesis de trabajo) La capacitación in vitro disminuye los porcentajes de anticuerpos anti esperma medidos por sperMAR e Immunobeads test.

JUSTIFICACIÓN PARA LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO

La medición de AAE a nivel mundial se hace con sperMAR e Immunobeads test, en base a esto se decide si el varón o la pareja es candidata a procedimientos de reproducción de baja o alta complejidad; especialmente si son de >80% como se ha cometido previamente en el marco teórico se prefiere ICSI.

Seria de utilidad saber si la CIV modifica el nivel de anticuerpos, y de ser así; valorar a futuro si mejora el pronóstico o sirve para recomendar a una pareja procedimientos de baja complejidad.

CAPÍTULO 2 (MATERIAL Y MÉTODOS)

CONTEXTO Y SELECCION DE LITERATURA DE MARCO TEÓRICO

Se realizó en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER) un estudio piloto prospectivo/transversal, observacional y analítico³⁸ con el fin de conocer el efecto de la capacitación in vitro sobre los anticuerpos anti-esperma medidos por sperMAR test IgG e immunobeads test IgA e IgG. Se realizaron las pruebas en muestras seminales solicitadas como parte de su estudio integral en el servicio de Andrología teniendo un riesgo menor al mínimo.

Para el marco teórico y el diseño del estudio se investigó literatura en las bases de datos de Medline, Artemisa 10, base Cochrane y OVID con las palabras anticuerpos antiesperma, sperMAR, immunobeads test, anti sperm antibodies, male immune infertility, antisperm immunity, latex and polyacrylamide beads, , IBT, MAR, in vitro sperm capacitation.

Se llevó a cabo una revisión las libretas de laboratorio de andrología del 2007 a junio del 2008 en busca de varones con AAE elevados (>50%) y de ellos se revisaron los expedientes clínicos por una sola persona (el investigador), se extrajeron datos que incluyeron características demográficas, antecedentes patológicos y heredofamiliares etc. Se recopiló la información en una hoja de captura del programa SPSS 15.0.1 2006 Lead Technologies Inc. asignando cada tipo de variable correspondiente a su categoría.

Criterios de inclusión de pacientes:

- Varones con infertilidad
- Anticuerpos antiesperma positivos >50% medidos con metodo directo de MAR y/ó IBT.

Criterios de no inclusión de pacientes:

- Varones con astenospermia severa (<20% de motilidad A+B)

Criterios de exclusión de pacientes:

- Pacientes en los que no se confirmo anticuerpos pre CIV de >50% medidos por método directo de sperMAR y/ó IBT.

Se realizó análisis seminal previo a la CIV y post-CIV de acuerdo a los estándares de la OMS y con criterios estrictos de Kruger para morfología.

Se realizó prueba de Ortho SperMAR® test IgG e Immunobeads® test IgA e IgG directo por un solo observador de acuerdo a las instrucciones del fabricante agregando 10µl de la muestra seminal fresca, 10µl de vedas mezclandolo 5 veces con la orilla de un cubreobjeto y agregando 10µl de antisuero para mezclar de la misma manera, se esperaron de 2-3 minutos y se analizó la muestra a 400x al microscopio contando únicamente los porcentajes

de espermatozoides móviles con esferas adheridas a su estructura. No se midieron IgG de sperMAR® pues de acuerdo a la OMS cuando están positivos IgG, lo están de manera simultánea IgA.

Para la capacitación in vitro se realizó gradientes más resuspendido recolectando la muestra en un frasco estéril, posteriormente se incubó la muestra seminal a 37°C y se agregó volumen 1:1 de “medio” Human Tubal Fluid (HTF) con albúmina humana al 5% y rojo fenol homogeneizando la muestra, se colocó de acuerdo a las instrucciones del fabricante en tubos cónicos de 10ml 1ml de Percoll® ó Isolate® 1ml de “upper” y “lower” respectivamente de acuerdo a las instrucciones del fabricante y encima la muestra homogeneizada, se centrifugó por 10min a 200rpm la muestra eliminando el sobrenadante y resuspendiendo la muestra en 0.5ml de “medio”.

Terminando este procedimiento se procedió a medir nuevamente AAE utilizando las mismas técnicas pre-CIV.

Se determinó la variación intraobservador de $\leq 5\%$.

DEFINICIONES Y VARIABLES DE ESTUDIO

Anticuerpos antiesperma positivos débiles: Medidos en porcentaje de espermatozoides móviles con adhesión de esferas recubiertas de anticuerpos monoclonales anti IgA y anti IgG sperMAR® e IBT® observados con microscopía óptica y considerados leves de 30-50%.

Tipo de variable: Cuantitativa continua.

Anticuerpos antiesperma positivos fuertes: Medidos en porcentaje de espermatozoides móviles con adhesión de esferas recubiertas de anticuerpos monoclonales anti IgA y anti IgG sperMAR® e IBT® observados con microscopía óptica de >50%.

Tipo de variable: Cuantitativa continua.

Concentración espermática: Es un estimado de la concentración de espermatozoides por mililitro y medido tomando 10µl del semen homogeneizado por pipeteo, colocado en un portaobjeto y colocando un cubreobjeto de 22x22mm y observado en microscopio óptico a 400X, la cuenta observada en un campo es el estimado en millones/mililitro.

Movilidad progresiva rápida A: Movilidad del espermatozoide $\geq 25\mu\text{m}/\text{segundo}$ observada en microscopio óptico.

Motilidad espermática tipo B: Movilidad del espermatozoide $< 25\mu\text{m}/\text{segundo}$ y $\geq 5\mu\text{m}/\text{segundo}$ observada en el microscopio óptico.

Morfología espermática normal: Espermatozoides normales con cabeza oval, contornos regulares, casquete acrosómico que cubre la tercera parte de la cabeza.

Pieza intermedia delgada y alineada con el eje longitudinal de la cabeza, la cola delgada no enrollada y de contornos regulares. Gota citoplasmática $\leq 10\%$ del tamaño de la cabeza.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico y gráficos se utilizó el programa SPSS software for windows (versión 15.0.1;SPSS Inc, Chicago Ill) y Microsoft Excell 2003.

Para variables cuantitativas continuas se prueba de Wilcoxon considerando una distribución anormal y por el tipo y tamaño de muestra y estadísticas descriptivas considerando significativo $p < 0.05$, esto con el único propósito de diferencias significativas y generación de hipótesis para futuros estudios.

CAPÍTULO 3 (RESULTADOS)

Se revisaron un total de 13 expedientes completos de pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión de un total de 38 pacientes, los restantes no fueron incluidos pues no tenían estudios completos.

VARIABLES DEMOGRÁFICAS

Variable	Media (Máx-Mín)	Desv. Estándar +-
Edad	34 (23-46)	7.34
Duración de Infertilidad	6.1 (2-18)	4.3
Peso	77 (58-100)	15.1
Talla	1.65 (1.50-1.77)	8.9
IMC	28.1 (23.1-34.4)	3.6
Volumen testicular	14 (5.9-24.3)	4.6

Tabla 1

FACTORES DE RIESGO PARA AAE

Dentro de los factores de riesgo identificados en la literatura a la fecha los pacientes presentaron los siguientes:

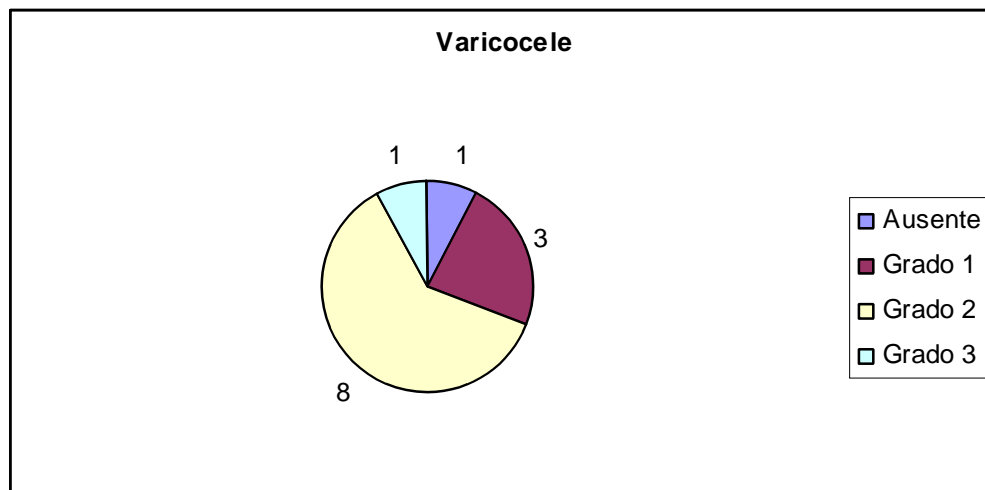


Figura 1

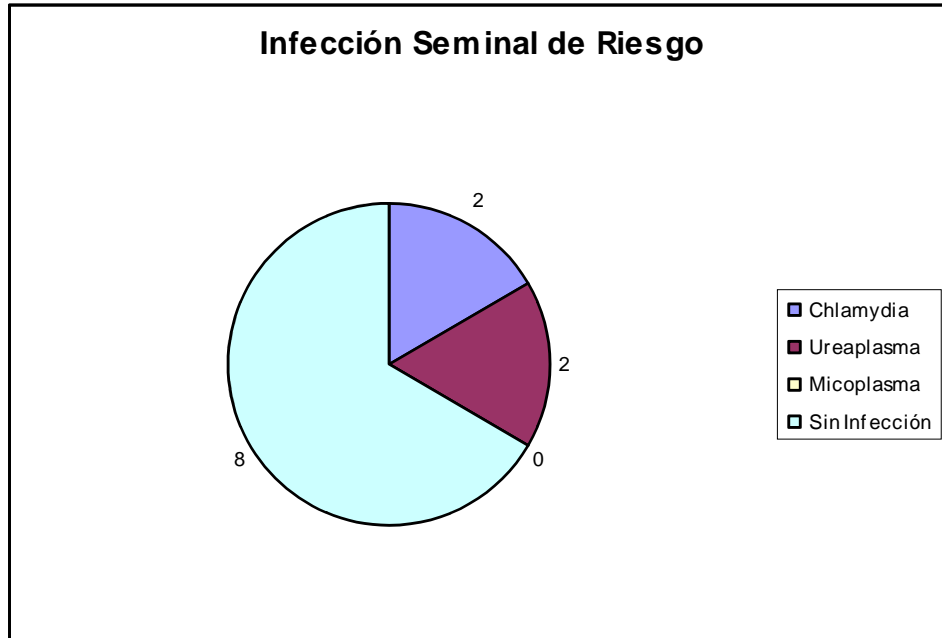


Figura 2

Solo un paciente tuvo antecedente de cirugía testicular en esta muestra.

CAMBIOS EN LOS PARÁMETROS SEMINALES PRE Y POST CIV

Los resultados muestran mejora significativa en todos los parámetros seminales excepto en la concentración y se describen en la siguiente tabla.

Variable	Media Pre CIV	Media Post CIV	<i>p</i>
Morfología *	5.2	9.5	0.002
Concentración †	40.4	37.9	0.753
Motilidad A *	0	10.7	0.008
Motilidad B *	34.8	50	0.003
Índice de células móviles *	31.5	10.8	0.006
Prueba de Wilcoxon * Valores en % † Valor en Millones/mL			

Tabla 2

Es importante aclarar que el índice de células móviles post-CIV se hizo con 0.5ml ajustado a todos los valores post-CIV.

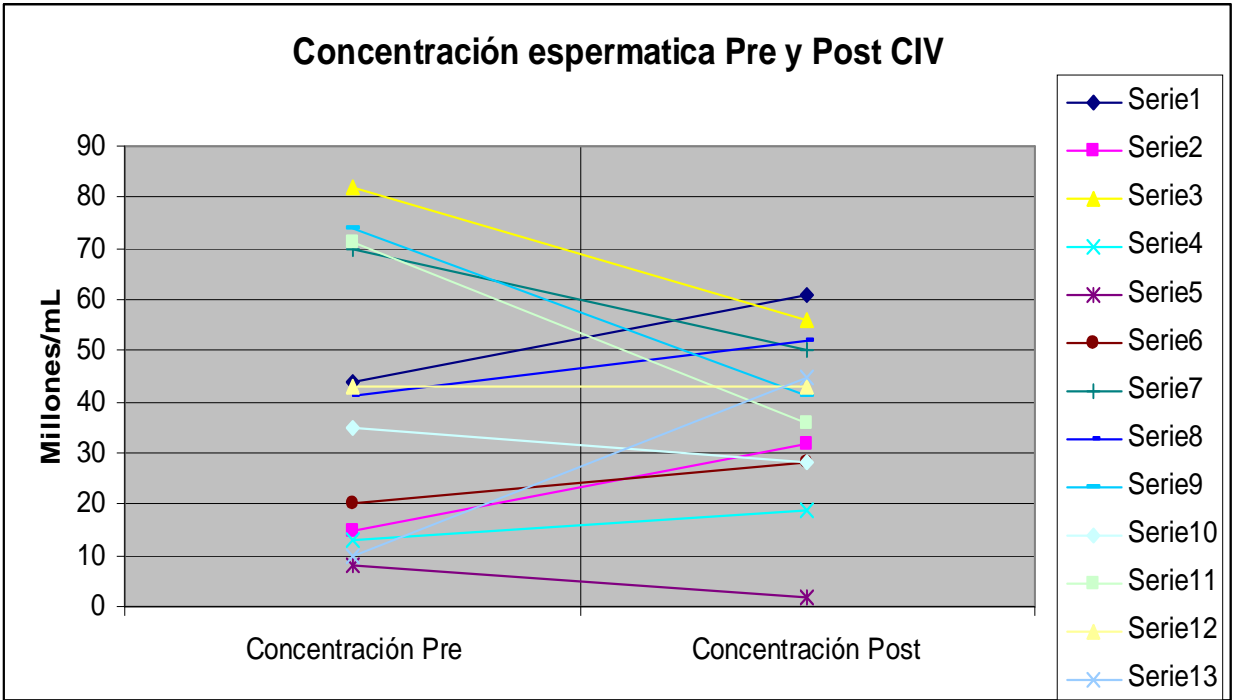


Figura 3

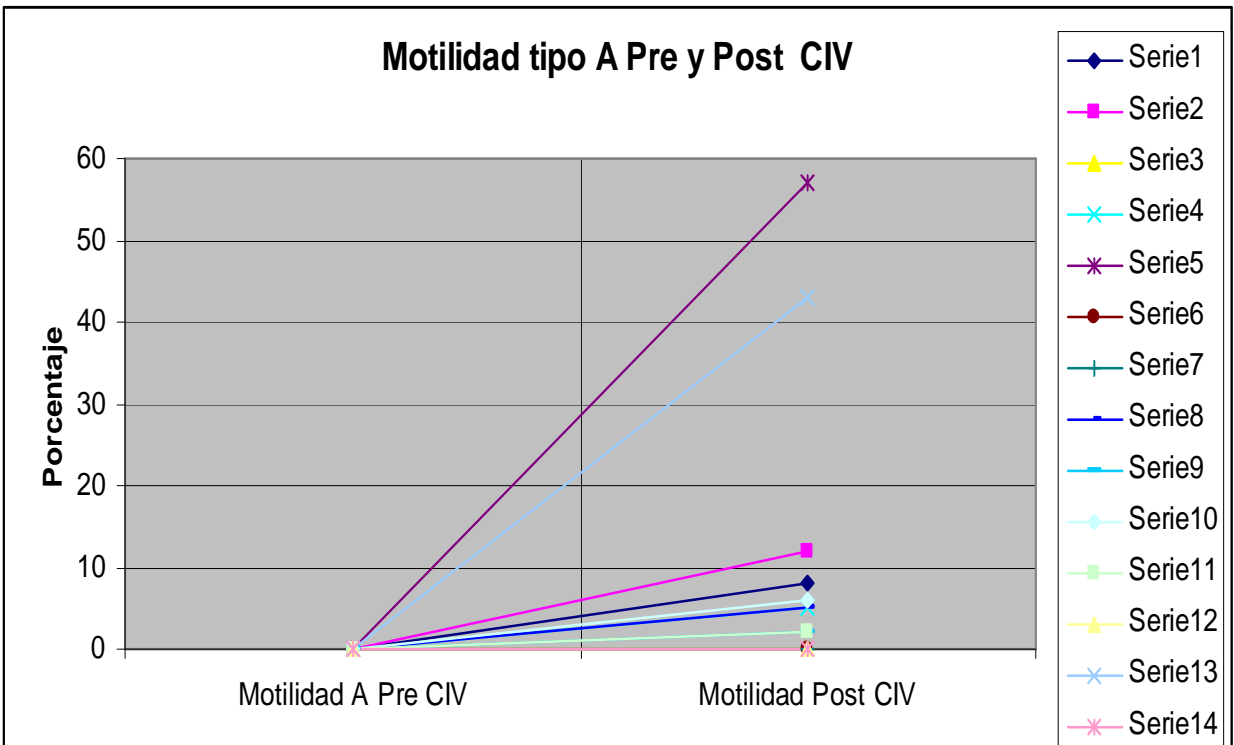


Figura 4

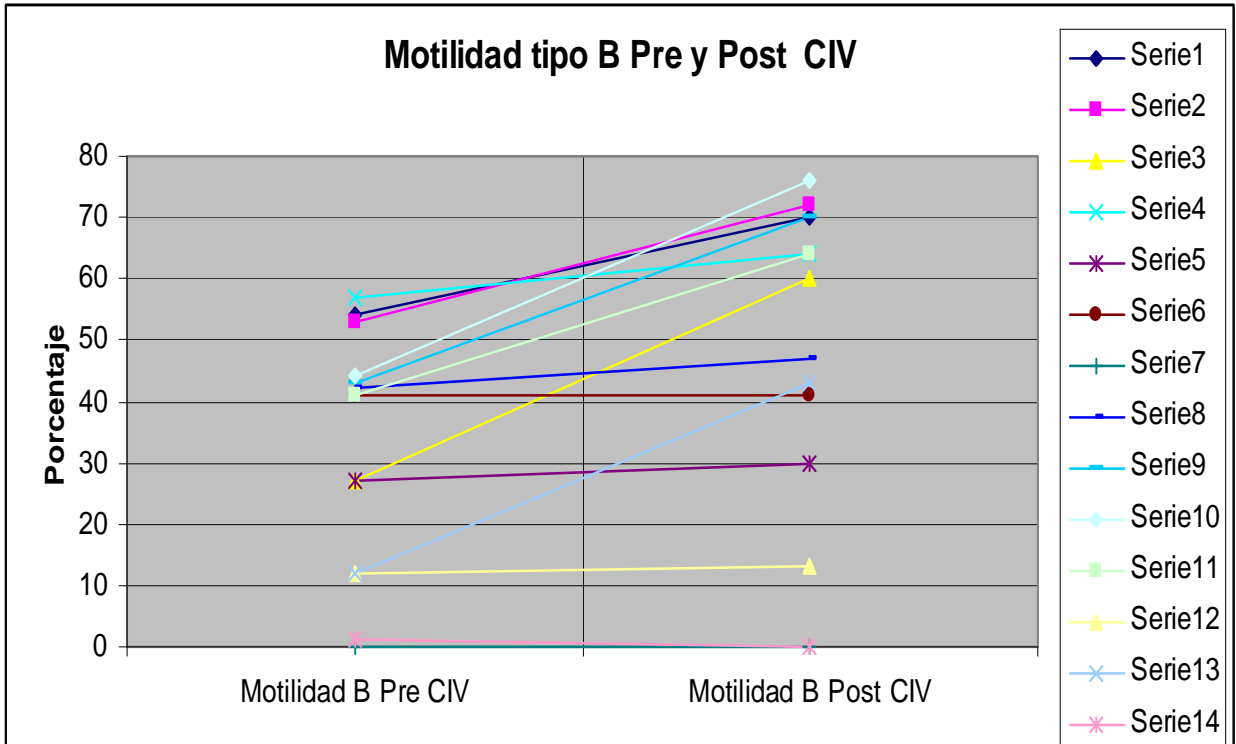


Figura 5

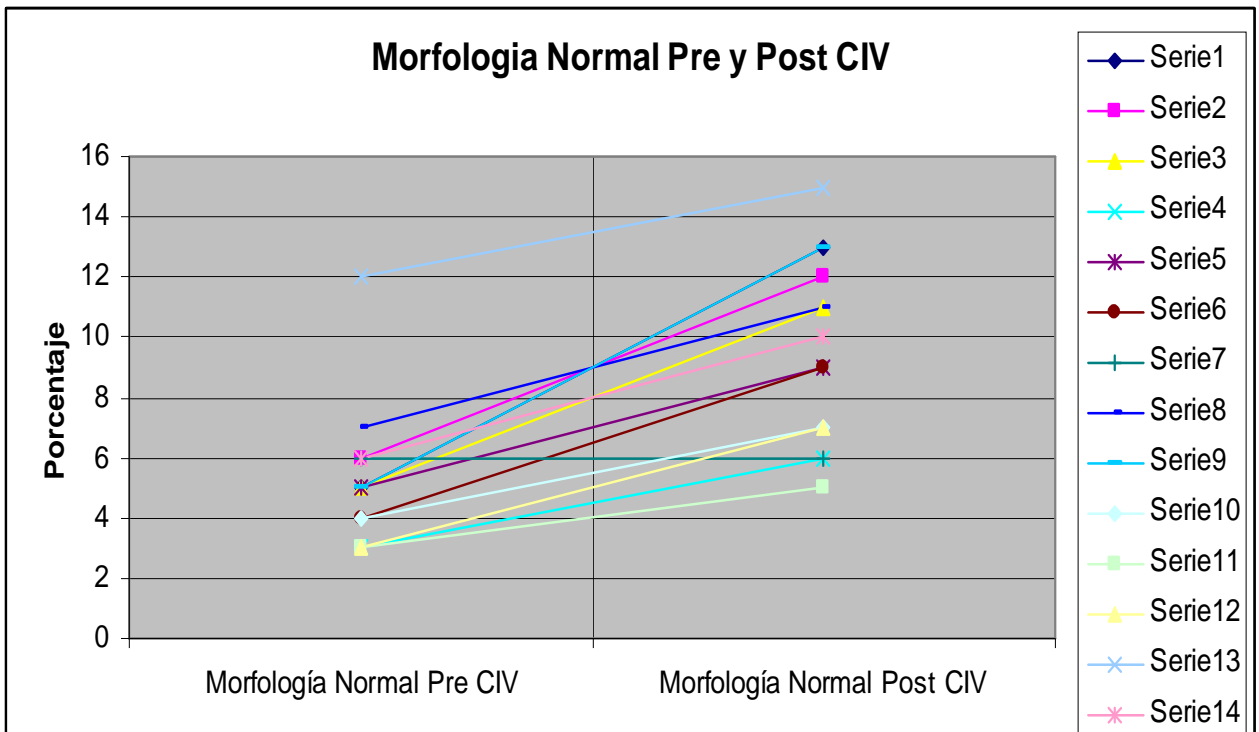


Figura 6

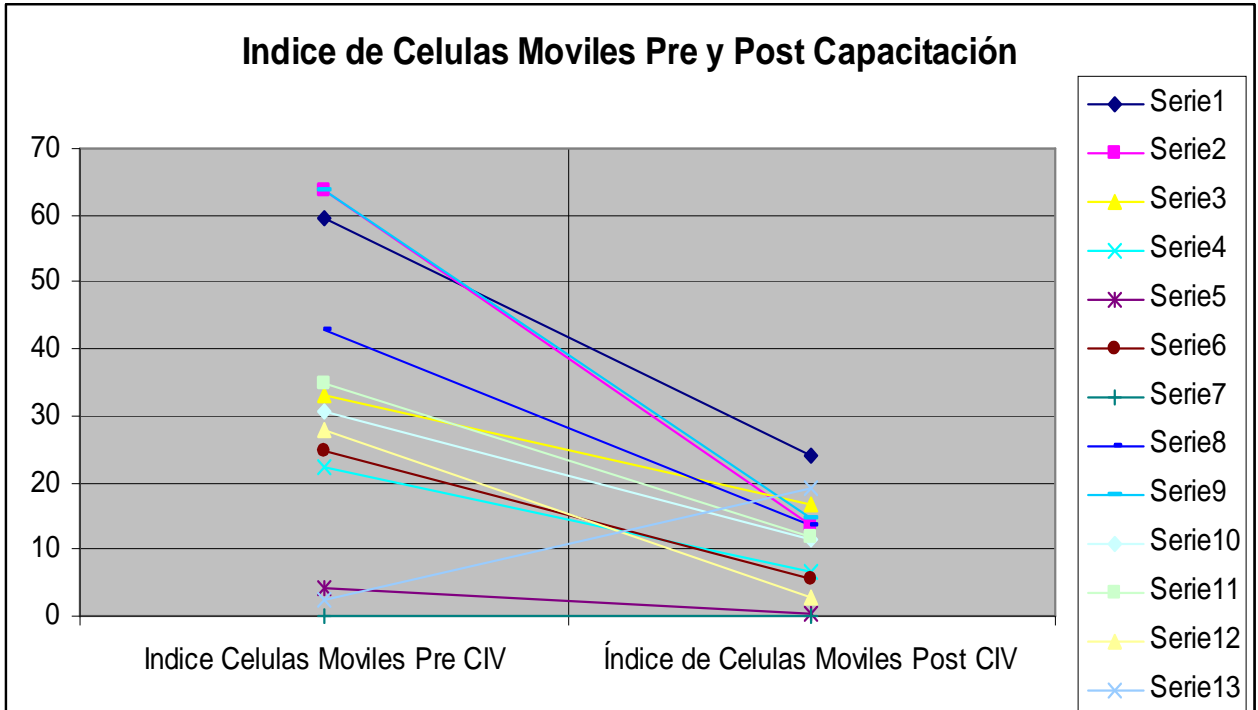


Figura 7

EFECTO DE LA CAPACITACIÓN IN VITRO SOBRE LOS AAE

Variable	Media Pre CIV	Media Post CIV	<i>p</i>
sperMAR IgG	74.4	38	0.01
Immunobeads IgA	16	15.1	0.726
Immunobeads IgG	16.6	25	0.359
Prueba de Wilcoxon			

Tabla 3

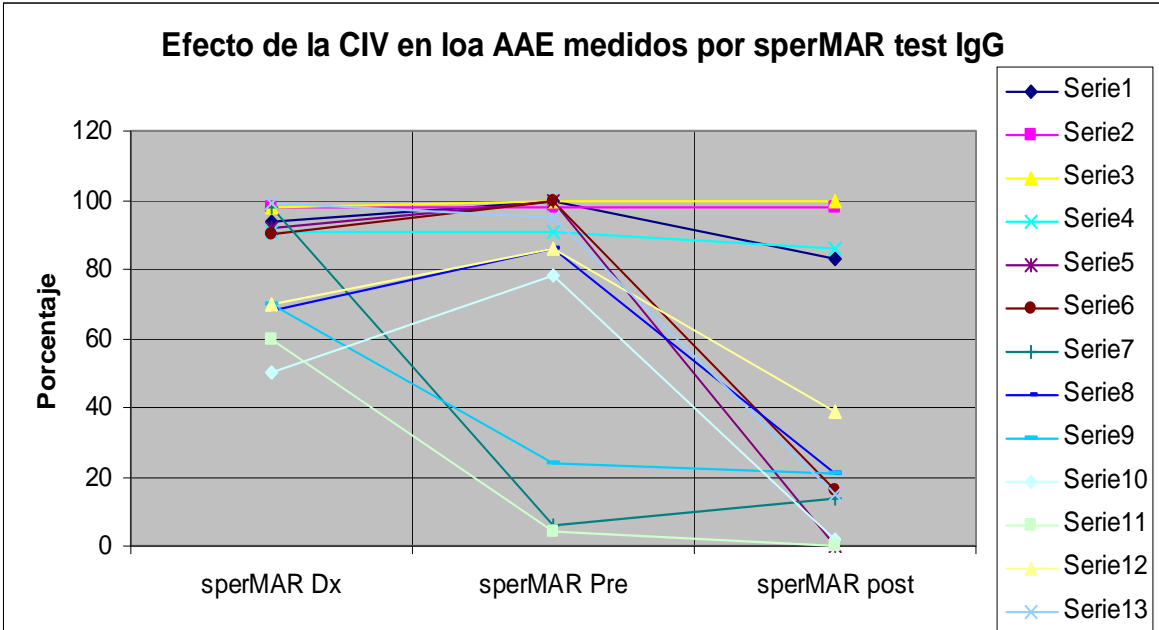


Figura 8

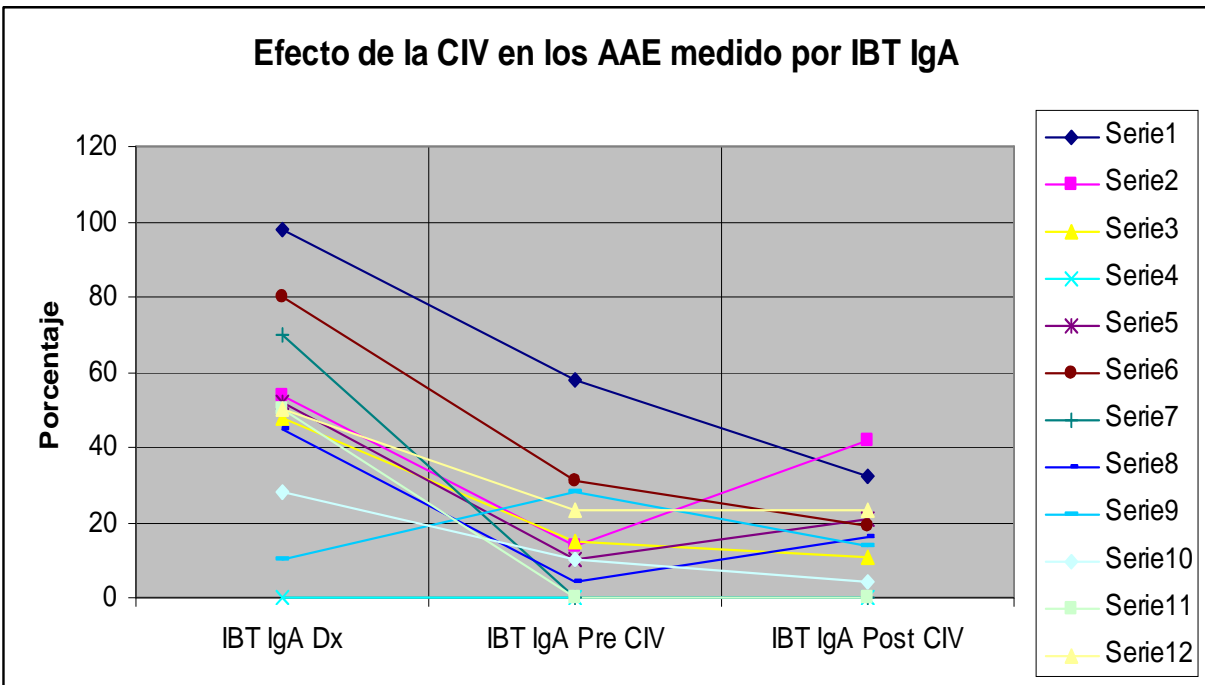


Figura 9

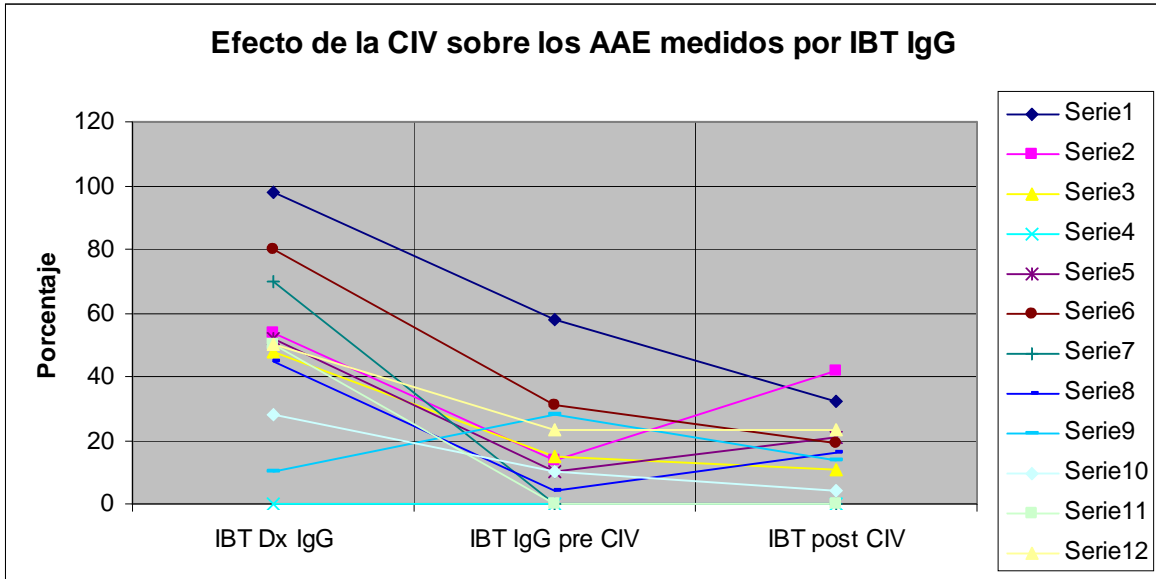


Figura 10

VARIACIONES ENTRE LOS VALORES DE DIAGNÓSTICO Y LOS PRE CIV

Variable	Media Dx	Media Pre CIV	<i>p</i>
sperMAR IgG	83	74.4	0.929
Immunobeads IgA	56	16	0.005
Immunobeads IgG	58.9	16.6	0.003
Prueba de Wilcoxon			

Tabla 4

DIFERENCIAS ENTRE LOS AAE MEDIDOS CON sperMAR IgG e IBT IgG AL MOMENTO DEL DIAGNÓSTICO Y ANTES DE LA CIV

Variable	sperMAR IgG (Media)	Immunobeads IgG (Media)	<i>p</i>
sperMAR vs. Immunobeads IgG (Diagnóstico)	83	58.9	0.000
sperMAR IgG vs. Immunobeads IgG (Pre-CIV)	74.4	16.6	0.003
Prueba de Wilcoxon			

Tabla 5

CONCLUSIONES

- **EXISTEN VARIACIONES CON LA MISMA PRUEBA DE IBT DIRECTA IgG E IgA EN NUESTRA POBLACIÓN EN CUANTO A LAS MEDICIONES DE AAE REALIZADAS EN UN INTERVALO DE TIEMPO.**
- **NO HAY CORRELACION EN LAS MEDICIONES DE AAE IgG MEDIDAS POR IBT Y sperMAR DIRECTOS AL MOMENTO DEL DIAGNÓSTICO NI ANTES DE LA CAPACITACIÓN IN-VITRO Y SE CONTRAPONA A OTROS REPORTES DE LA LITERATURA .**
- **LA FALTA DE CORRELACIÓN DE AMBAS PRUEBAS EN NUESTRA POBLACIÓN PUEDE ESTAR DADA POR LA PRESENCIA Ó AUSENCIA DE ANTIGENOS DISTINTOS EN NUESTRA POBLACIÓN.**
- **SE ENCONTRÓ DISMINUCIÓN SIGNIFICATIVA DE LOS AAE IgG MEDIDOS CON sperMAR DIRECTO DESPUES DE CAPACITACIÓN IN VITRO.**
- **NO SE ENCONTRÓ DISMINUCIÓN SIGNIFICATIVA DE LOS AAE IgA E IgG MEDIDOS CON IBT DIRECTOS DESPUÉS DE CAPACITACIÓN IN VITRO.**
- **ES NECESARIA UNA NUEVA MEDICIÓN CONFIRMATORIA EN CASO DE ENCONTRAR AAE POSITIVOS MEDIDOS POR IBT Ó sperMAR DIRECTOS.**
- **LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS MEJORARON SIGNIFICATIVAMENTE EN CUANTO A MOTILIDAD Y MMORFOLOGIA Y NO SE OBSERVARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS EN LA CONCENTRACIÓN.**
- **LOS NIVELES DE AAE IgG MEDIDOS POR IBT DIRECTO AUMENTARON LEVEMENTE SIN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS DESPUES DE LA CAPACITACIÓN IN-VITRO.**

CAPÍTULO CUARTO (DISCUSIÓN)

En la literatura existe gran cantidad de información acerca de la epidemiología de la interferencia de los AAE en los tratamientos de reproducción asistida y en los ciclos naturales²⁸.

La técnica de immunobeads (IBT) se ha usado para identificar IgA, IgG e IgM en el suero, semen y liquido folicular de 40 parejas que han ido a FIV y no hubo correlación entre los AAE ligados a la cola del espermatozoides y los índices de fertilización de oocitos maduros utilizando medios al 10% del suero de las mujeres en el medio de inseminación.²⁹

En México a la fecha no se ha identificado un estudio que trate de comparar los niveles de anticuerpos comparando sperMAR vs. Immunobeads, en la literatura hay diversos trabajos que han tratado de correlacionar y responder a esta pregunta con diversos resultados, MacMillan y Baker³⁰ reportan en Australia en una serie de 55 pacientes en los que midieron IgA, IgG teniendo positivos en 15 de 31 pacientes positivos a IBT con niveles positivos mas bajos, también compararon 106 muestras, ambas pruebas fueron positivas en 34 de esas muestras con proporciones virtualmente idénticas con patrones de unión similares, además reportan mayor facilidad de lectura por el tamaño uniforme de las esferas con sperMAR. En el presente estudio encontramos diferencias significativas en las muestras pre-CIV leídas prospectivamente con diferencias significativas y también en las mediciones de diagnóstico retrospectivas (tabla). En la prueba indirecta de IBT vs. sperMAR Meinertz y Bronson³¹ en Dinamarca reportan correlación de resultados para IgG con ($P = 0.0043$), mas no con IgA ($P = 0.2951$) con una correlación pobre y con niveles bajos detectados por sperMAR. En nuestro estudio no se realizaron mediciones indirectas, pero puede ser debido a que sperMAR sea más sensible para detectar anticuerpos en muestras frescas que IBT IgG por lo que de confirmarse con una serie mas larga y con resultados de pronóstico de fertilidad darían preferencia en nuestra población al tamizaje con sperMAR directo IgG.

Se han validado las pruebas de IBT para IgG con una buena correlación cuando se compararon en suero del varón y su pareja, con plasma seminal y con moco cervical teniendo positivos 81, 74, 75 y 82% respectivamente, esto se hizo por Daru y Mathur³² en E.E.U.U. en 173 parejas infértiles, asumiendo que el proceso de autoinmunidad se da tanto como en la mujer como en el hombre, es valido realizar mediciones directas dada su sencillez y costo.

Dondero y col.³³ compararon en Italia la prueba directa de Immunobeads y otras técnicas y otros métodos como el test de aglutinación en gelatina que

detecta anticuerpos en suero y plasma seminal y la prueba directa de sperMAR IgG con buena concordancia entre los métodos medidos por phi y prueba de K.

Se describe la significancia clínica de la prueba directa de IBT IgG e IgA en un estudio de Japón por Takahashi K y col.³⁴ en 290 varones infértiles para detectar AAE encontrando positivos al 7.2% con >50%, 3.4% de IgG >50%, los índices de IgG fue <60% y para IgA <40%. En todos los casos que se reportó fertilidad, los IBT fueron <60% y no consideraron como factor de infertilidad a varones con <40% de IB adheridos a espermatozoides móviles.

El anterior estudio denota la baja prevalencia de varones infértiles con AAE positivos fuertes y la dificultad para desarrollar estudios con ese universo de trabajo.

Las modificaciones en los niveles de AAE adheridos a los espermatozoides hechas con métodos bioquímicos se han descrito ampliamente con diversos resultados sin nuevas aportaciones desde mediados de la década de 1990.

El estudio observacional por Margalioth y col. en Israel³⁵ con el suero de 66 mujeres que pasaron a FIV se probaron para AAE después de 1 y 18 horas de incubación con suero materno, subsecuentemente 5 sueros fueron probados con células capacitadas y no capacitadas. Los resultados revelaron que de las 37 muestras negativas a AAE en la primera hora, 7 dieron fuertemente positivas a las 18 horas de incubación. En 21 de las 23 muestras con niveles bajos o intermedios a la hora, tuvieron niveles significativamente más altos a las 18 horas, esto sugiere que pueden existir diferencias antigénicas significativas en las muestras capacitadas y no capacitadas.

Existen pocos estudios que evalúen las modificaciones en los AAE medidos con sperMAR ó IBT, uno de ellos es el de James y col.³⁶ en E.E.U.U. con 26 parejas infértiles en las que se analizaron AAE en suero, plasma seminal, anticuerpos citotóxicos endógenos, suero de la pareja y moco cervical, en lo que respecta al suero seminal; 25 pacientes tuvieron anticuerpos citotóxicos para espermatozoides autólogos y de donador, la mayoría tuvieron disminución en IBT para IgG, IgA e IgM comparado contra espermatozoides autólogos capacitados. Para IBT IgA se observó una disminución para espermatozoides autólogos pero no para los de donador (P = 0.03 para prueba de T pareada; n = 17 de 25). Para IBT IgM vs. espermatozoides capacitados de donador también hubo disminución (P = 0.002 para prueba de T pareada; 17 de 25) e interesantemente para hombres sin AAE citotóxicos para espermatozoides sin capacitar, los niveles de AAE citotóxicos y de IBT IgG aumentaron.

En nuestro estudio encontramos una disminución significativa de AAE IgG medidos por MAR después de la CIV (tabla) ($P = 0.01$), los cambios para IBT directo IgG no fueron significativos ($P = 0.359$); tampoco para IBT IgA ($P = 0.726$). Lo anterior pudiera explicarse por las diferencias en la antigenicidad mencionadas en estudios previos³⁵ y a que sperMAR e IBT pueden detectar antígenos diferentes u omitir otros tantos presentes en nuestra población estudiada.

Es importante también comentar que encontramos una variación entre los IBT de diagnóstico ($P = 0.005$) y los pre-CIV (0.003) (tabla) con diferencias significativas lo que nos puede hablar de cambios debidos al lote del reactivo o variaciones entre los mismos pacientes, es interesante como sperMAR para IgG no tuvo diferencias significativas entre el diagnóstico y la segunda medición (tabla).

Las variaciones para las mediciones IgG por sperMAR e IBT también tuvieron diferencias significativas (tabla); para IgG al momento del diagnóstico ($P = 0.000$) y pre-CIV ($P = 0.003$) y encontrando discrepancia con otros estudios publicados que reportan una buena correlación³³.

Con el resultado anterior de variaciones significativas inclusive midiendo AAE con el mismo método directo es razonable pedir un estudio confirmatorio con la misma prueba y realizar las complementarias directas. A este respecto el manual de la OMS¹⁹ no emite una recomendación a este respecto y en nuestro caso dificulta la recomendación de que tipo de procedimiento de reproducción asistida de alta complejidad recomendar (FIV/ICSI), pues los estudios que lo sustentan a la fecha están hechos con IBT^{22,23} como ya se comentó en el marco teórico y en nuestro estudio los IBT muestran variaciones muy importantes.

Con nuestros resultados en nuestra población podemos recomendar FIV/ICSI basados en evaluaciones con sperMAR; se recomienda inseminación intrauterina con niveles de 20-50%, FIV para varones con 50-80% e ICSI para varones con $\geq 80\%$ ^{22,23} basados en los estudios realizados con sperMAR/IBT.

Los primeros estudios respecto a AAE y pronóstico de éxito en procedimientos de reproducción asistida de alta complejidad por De Almeida y col.³⁶ en 20 parejas con niveles altos de AAE ($>70\%$) evaluados por IBT, de las 15 parejas de los que se capturaron oocitos, se obtuvieron 95 maduros e inseminados con muestras de esperma sometidas a swim-up después de una rápida dilución y lavado del eyaculado. La fertilización en general fue de 38.9%. Cuando $>70\%$ de los espermatozoides inseminados estaban cubiertos por IgA e IgG (5 pacientes), 6 de los 43 oocitos inseminados fueron

fertilizados (14%). Cuando >70% de los espermatozoides fueron cubiertos por solo una clase de AAE IgA ó IgG, 15 de los 26 oocitos inseminados fueron fertilizados (58%). En los 5 pacientes cuyos espermatozoides estaban cubiertos por <70% de AAE IgA ó IgG, 16 de los 26 oocitos fueron fertilizados. Las tasas de FIV disminuyeron significativamente cuando >70% de los espermatozoides fueron cubiertos por IgA (P 0.05) e IgG (P< 0.001).

Otro estudio retrospectivo por Lähteenmäki³⁷ con 33 parejas diagnosticadas como infertilidad autoinmune fueron sometidas a 47 ciclos de FIV, el suero de 33 varones tuvieron títulos elevados por TAT ($\geq 1:16$) y sperMAR IgG positivos seminales. Hubo una correlación discreta entre estas pruebas en suero vs. semen. Los índices de fertilización se analizaron en 3 subcategorías sperMAR; solo el subgrupo con sperMAR fuerte IgG ($\geq 90\%$) reveló una significativa reducción en los índices de fertilización comparado con los otros subgrupos. Este efecto no se observó en las mediciones con TAT. Los varones astenozoospermicos tuvieron disminución en los índices de fertilización vs. los normozoospermicos (20.1 vs. 34%), lo que es verdad también para los varones sin factor autoinmune, pero cuando los AAE están presentes, los niveles de fertilización empeoran independientemente de la motilidad normal o disminuida. Una vez lograda la fertilización el índice de embarazo no se vio afectado por la severidad de los factores inmunológicos.

Respecto a la localización de los AAE, Yeh y col.³⁸ condujeron un estudio retrospectivo con 48 parejas que llevaron ciclos de FIV encontrando disminución en los índices de fertilización cuando los AAE estaban unidos a la cabeza en $\geq 68\%$ IgA IBT y $>40\%$ IgM IBT, observaron una correlación fuerte también cuando los AAE IgM estaban unidos a la cabeza ó pieza intermedia.

Los estudios anteriores muestran como cuando las parejas tienen un factor inmune fuerte presentan bajos índices de fertilización.

El advenimiento del ICSI como tratamiento para estas parejas contribuyó de manera importante para disminuir otros tratamientos alternativos como medios para capacitar o métodos de lavado espermático desde su aparición.

Nagy y col.²² reportaron sus primeros resultados en 1995 en varones con AAE en semen altos medidos por IBT y sperMAR, se incluyeron 37 pacientes con niveles $\geq 80\%$. Los índices de fertilización fueron significativamente mayores que los controles AAE negativos. Esto se puede explicar por el efecto facilitador de los AAE en la reacción acrosomal con el consecuente aumento del potencial de fertilización del espermatozoide microinyectado.³⁹

Los autores concluyen que la fertilización, desarrollo embrionario y el índice de embarazo después de ICSI no se ven afectados por el grado de AAE ni su localización.

En un esfuerzo por valorar a la ICSI como tratamiento en varones con niveles altos de AAE ($\geq 80\%$ IgG ó IgA) medidos por IBT, Clarke y col.²³ estudiaron a un grupo de 39 pacientes que se pasaron a ICSI, los resultados confirmaron que la fertilización y los índices de embarazo son comparables con los varones libres de AAE, no hubo mas perdidas del primer trimestre y solo encontraron pequeñas diferencias en la calidad embrionaria.

Finalmente, sería interesante evaluar de manera prospectiva si los pacientes que disminuyeron los niveles de AAE medidos por sperMAR ó IBT mejoraron en sus pronósticos de pasar a inseminaciones intrauterinas.

CAPÍTULO SEXTO (BIBLIOGRAFÍA)

BIBLIOGRAFÍA

1. Metalnikof S. Etudes sur la spermotoxine. *Ann Inst past* 1900;14:577-89
2. Metchnikoff M. Recherches sur l'influence de l'organisme sur le toxinas; sur la spermotoxine et l'antispermotoxine. *Ann Inst Past* 1900;14:1-12.
3. Rumke Ph, Hellinga G. Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am J Clin Pathol* 1959;32:357-63.
4. Shushan A, Schenker JG. Immunological factors in infertility. *Am J Reprod Immunol* 1992;28:285-87.
5. Vazquez-Levine MH, Notrica JA, Polak de Fried E. Male immunologic infertility: sperm performance aon in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1997;68:675-681.
6. Koide SS, Wang L, Kumada M. Antisperm antibodies associated with infertility: properties and encoding genes of target antigens. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;224:123-132.
7. Jager S, Kremer J, Van Slochteren-Draaisma T. A simple method of screening for antisperm antibodies in the human male: detection of spermatozoa surface IgG with the mixed agglutination reaction carried out on untreated fresh human semen. *Int J Fertil* 1978;23:12-21.
8. Vermeulen A, Comhaire F. Le test "MAR" aux particules de latex et le test spermatoxique selon suominen: simplification et nouveauré dans l'arsenal du diagnostic immunologique. *ContraceptmFertil Sex* 1983;11:381-384.
9. Bronson RA, Cooper GW, Rosenfeld DL. Membrane-bound sperm-specific antibodies: their role in infertility. In Jagiello G and Vogel H Ed. *Bioregulators of reproduction*. Academic Press New York, USA, p 521-27.
10. Munoz MG, Jeremias J, Witkin SS. The 60kDa heat shock protein in human semen: relationship with antibodies to spermatozoa and Chlamydia trachomatis. *Hum Reprod* 1996;11:2600-2603.
11. Poulton TA, Everard D, Baxby K, Parslow JM. Characterization of a sperm coating auto-antigen reacting with antisperm antibodies of infertile males using monoclonal antibodies. *Br J Obstet Gynecol* 1996;103:463-467.

12. Liu HW, Lin YC, Chao CF, Chang SY, Sun GH. GP-83 and GP-39, two glycoproteins secreted by human epididymis are conjugated to spermatozoa during maturation. *Mol Hum Reprod*;2000;6:422-428.
13. Comhaire FH, Hinting A, Vermeulen L y col. Evaluation of direct and indirect mixed antiglobulin reaction with latex particles for the diagnosis of immunological infertility. *Int J Androl* 1988;11:37-44.
14. Mahmoud AM, Tuytens CL, Comhaire FH. Clinical and biological aspects of male immune infertility: a case-controlled study of 86 cases. *Andrologia* 1996;28:191-96
15. Bohring C, Krause W. Immune infertility: towards a better understanding of sperm (auto)-immunity. *Hum Reprod* 2003;5:915-924.
16. Mathur S, Williamson HO, Baker ME et al. Sperm motility on postcoital testing correlates with male autoimmunity to sperm. *Fertil Steril* 1984;41:81-87
17. Munuce MJ, Berta CL, Pauluzzi F, Caille AM. Relationship between antisperm antibodies, sperm movement, and semen quality. *Urol Int* 2000;65:200-203.
18. Bohring C, Krause E, Habermann B, Krause W. Isolation and identification of sperm membraneantigens recognized by antisperm antibodies, and their possible role in immunological infertility disease. *Mol Hum Reprod* 2001;7:113-118.
19. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm cervical mucus interaction 4Ed 1999. Cambridge University Press.
20. European Society of Urology. Dohle GR, Jungwirth, Colpi A, Giwercman T, Diemer TB, Hagraeve. Guidelines on Male Infertility 2007.
21. Ombelet W, Vandeput H, Janssen M, et al. Treatment of male infertility due to sperm surface antibodies: IUI or IVF? *Hum Reprod* 1997;12:1165-70.
22. Nagy ZP, Verheyen G, Liu J et al. Results of 55 intracytoplasmic sperm injection cycles in the treatment of male-immunological infertility. *Hum Reprod* 1995;10:1775-80.
23. Clarke GN, Bourne M, Baker HWG. Intracytoplasmic sperm injection for treating infertility associated with sperm autoimmunity. *Fertil Steril* 1997;68:112-17.
24. Hinrichsen-Kohane AC, Hinrichsen MJ y Schil WB. Molecular events leading to fertilization – a review. *Andrologia* 1984;16:321-41.
25. Fusi F y Bronson RA. Effects of incubation time in serum and capacitation on spermatozoal reactivity with antisperm antibodies. *Fertil steril* 1990;54:887-93.

26. Monroe JR, Altenbern DC, Mathur S. Changes in sperm antibody test results when spermatozoa are subjected to capacitating conditions. *Fertil Steril* 1990;54:1114-20
27. Lenzi A, Gandini L, Lombardo F, Micara G, Culasso F, Dondero F. In vitro sperm capacitation to treat antisperm antibodies bound to the sperm surface. *J Reprod Immunol* 1992;28:51-55
28. Lombardo F, Gandini L, Dondero F, Lenzi A. Immunology and immunopathology of the male genital tract. Antisperm immunity in natural and assisted reproduction. *Hum Reprod* 2001;7:450-56
29. Mandelbaum SL, Diamond SP, DeCherney AH. Relationships of antisperm antibodies to oocyte fertilisation in in-vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1987;47:664-51.
- 30.- MacMillan RA, Baker HW. Comparison of latex and polyacrylamide beads for detecting sperm antibodies. *Clin Reprod Fertil* 1987;54:203-9.
31. Meinertz H, Bronson R. Detection of antisperm antibodies on the surface of motile spermatozoa. Comparison of the immunobead binding technique (IBT) and the mixed antiglobulin reaction (MAR). *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1988;18:120-3.
32. Daru J, Mathur S. A comparison of sperm antibody assays. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:1622-9.
33. Dondero F, Lenzi A, Gandini L, Lombardo F, Culasso F. A comparison of the direct immunobead test for sperm antibodies detection. *J Endocrinol Invest* 1991;14:443-9.
34. Takahashi K, Ogawa K, Tobai H, Kojima T, Shioda K, Izuta M, Sato K. Clinical significance of direct immunobead test to detect anti-sperm antibody. (Abstract) *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1992;44:779-86.
35. Mangalioth EJ, Cooper GW, Taney FH, Scholl GM, Rosenfeld DL. Capacitated sperm cells react with different types of antisperm antibodies than fresh ejaculated sperm. *Fertil Steril* 1992;57:393-8.
36. De Almeida M, Gazagne I, Jeulin C y col. In.vitro processing of sperm with autoantibodies and in-vitro fertilisation results. *Hum Reprod* 1989;4:49-53.
37. Lähteenmäki A, Reima I, Hovatta O. In-vitro fertilisation in the presence of antisperm antibodies detected by the mixed antiglobulin reaction (MAR) and the tray agglutination test (TAT). *Hum Reprod* 1993;8:84-88.
38. Yeh WR, Acosta AA, Seltman HJ et al. Impact of immunoglobulin isotype and sperm surface location of sperm antibodies on fertilisation in vitro in the human. *Fertil Steril* 1995;63:1287-1292

39. Saragüeta P, Lanuza G, Miranda PV et al. Immunoglobulins from human follicular fluid induce the acrosome reaction in human sperm. *Mol Reprod Dev* 1994;39:280-288.

CAPÍTULO SÉPTIMO (RESUMEN DEL CURRÍCULUM DEL TESISISTA)

I. DATOS PERSONALES

Nombre: José Luis Elizarrarás Cendejas
Lugar de nacimiento: Pénjamo, Guanajuato, Méx.
Fecha de nacimiento: 15/01/1978
Nacionalidad: Mexicana
Estado civil: Soltero
Dirección permanente: Ocampo #64, col. Centro, CP 36900,
Pénjamo Guanajuato
Ced. Prof. Lic. 3864239. Ced. Prof. Esp. 8088110, Registro S.S.G. 3088
Certificado por el Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia
Tel. (469)6921219 y (55)209900
RFC: EICL780115NNA
CURP: EICL780115HGTLNS05

II. FORMACION

Primaria:	Colegio Patria Juárez # 25 Pénjamo Gto. 1984-1990
Secundaria:	Escuela Secundaria Oficial. Pénjamo Gto. 1990-1993
Preparatoria:	Preparatoria Oficial Universidad de Guanajuato Carretera Panorámica SN Guanajuato Gto. 1993-1996
Profesional: Licenciatura:	Universidad Autónoma de Guadalajara Medico Cirujano Guadalajara Jalisco Av. Patria 1201, Lomas del Valle, 3ª sección, CP44100 Guadalajara Jal. 1997-2003
Prof. Postgrado:	Especialidad en Ginecología y Obstetricia en el Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes" S.S.A. México D.F. / U.N.A.M *Actualmente cursando el 2º año de la sub-especialidad en Biología de la Reproducción Humana en el Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"