

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán



**ASPECTOS INMUNOLOGICOS DE LA
ESTERILIDAD HUMANA.
ESTUDIO MONOGRAFICO**

T E S I S

**Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P r e s e n t a

**FERNANDO FCO. HERNANDEZ
CLEMENTE**

Director de la Tesis

Q. F. B. IDALIA C. AVILA MIYAZAWA

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.

1985



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 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

pag.

RESUMEN 1

I.- INTRODUCCION

- 1. Generalidades 2^a
- 2. Antecedentes históricos 5
- 3. Objetivos 9

II.- ANTIGENOS SEMINALES

- 1. Constitución y antigenicidad del semen 11
- 2. Antígenos del plasma seminal humano (PSH) 13
- 3. Antígenos del espermatozoide humano 19

III.- MECANISMOS

- 1. Origen de la autoinmunidad contra espermatozoides en el varón 33
- 2. Origen de la inmunidad contra espermatozoides en la mujer 37
- 3. HLA y anticuerpos antiespermatozoide 41
- 4. Interferencia con el proceso de fertilización 42
- 5. Tipo de anticuerpos antiespermatozoide y posible divergencia de estados inmunológicos (local vs. sistémico) 48
- 6. Anticuerpos de tipo IgE 51

IV.- METODOS PARA VALORAR LA INMUNIDAD CONTRA ES- PERMATOZOIDES.

- 1. Generalidades 54

2. Métodos para valorar inmunidad humoral ...	56
A) Métodos de aglutinación	56
a. Prueba de aglutinación en gelati <u>n</u> <u>na</u>	58
b. Prueba de aglutinación: tubo--- portaobjetos	59
c. Prueba de aglutinación en micro- concauidades	60
d. Naturaleza de las beta-esperma-- glutininas	60
B) Métodos dependientes de complemento	63
a. Prueba de inmovilización de es-- permatozoides	63
b. Prueba de espermotoxicidad	65
C) Métodos de inmunofluorescencia	67
D) Métodos que utilizan simultáneamen- te material de prueba de ambos cón- yuges	68
a. Prueba de contacto entre esperma tozoides y moco cervical	68
b. Prueba postcoital	69
c. Prueba de penetración de los es- permatozoides en el moco cervi-- cal	70
E) Otras pruebas (métodos no tradicionales)	
a. Prueba de aglutinación mixta -- (MAR)	73
b. Hemaglutinación pasiva	73
c. Radioinmunoanálisis (RIA)	74
d. Análisis inmunoensimático (ELISA)	75
e. Inmunolectroforesis	76
F) Anticuerpos en moco cervical	76

3. Métodos para valorer inmunidad mediada — por células.....	78
4. Apéndice de técnicas	
a. Prueba de contacto entre espermato- zoides y moco cervical	79
b. Prueba de inmovilización de esperma- tosoides	81
c. Técnica de preparación de moco cer- vical para la investigación de anti- cuerpos antiespermatozoide	83
V.- INMUNIDAD CONTRA ESPERMATOZOIDES Y ESTE- RILIDAD	84
VI.- TRATAMIENTO	
1. Terapia de oclusión	87
2. Inmunosupresión	89
3. Inseminación intrauterina	91
4. Supresión de la espermatogénesis	93
5. Medicación estrogénica	93
6. Inducción de inmunotolerancia	94
VII.- AUTOANTICUERPOS CONTRA LA ZONA PELUCIDA - DEL OVULO	95
VIII.- CONCLUSIONES	99
IX.- BIBLIOGRAFIA	101

R E S U M E N

De acuerdo a datos estadísticos, la esterilidad es un problema que afecta del 5 al 15% de los matrimonios. Aún cuando ya se han reconocido diversos factores etiológicos en torno a este padecimiento como son deficiencias hormonales, malformaciones del aparato reproductor, infecciones; en años recientes ha despertado gran interés la participación de procesos inmunológicos en algunos casos de esterilidad, sobre todo en aquéllos en los que no se había encontrado una causa definida para la misma mediante los procedimientos de diagnóstico tradicionales (esterilidad inexplicada o idiopática).

Dichos procesos comprenden por un lado, la respuesta inmune en contra del espermatozoide, ya sea en el varón (autoinmunidad) y/o en la mujer (isoimmunidad), y por el otro, la producción de autoanticuerpos contra la zona pelúcida del óvulo en mujeres, campo mucho más reciente y por lo mismo menos explorado. Se ha postulado que tales procesos pueden interferir con el de la fecundación condicionando una esterilidad inmunológica, concepto de gran interés actual en el campo de la inmunología de la reproducción que se ha visto reforzado en los últimos años y que constituye el punto focal del presente trabajo.

I) INTRODUCCION

1.- GENERALIDADES.

En el lenguaje común esterilidad e infertilidad son palabras sinónimas porque ambas llevan asociado el concepto de -- falta de descendencia, no obstante desde hace varios años el comité de nomenclatura de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia ha establecido en forma convencional -- las siguientes definiciones: esterilidad es la ausencia o falta de embarazo debido a mecanismos que impiden la unión de -- los gametos (falta de fecundación); infertilidad es la imposibilidad de llevar a la viabilidad el producto concebido (falta de descendencia por la muerte habitual del feto) (257,398)

La anterior definición de esterilidad lleva asociada además, un concepto de tiempo. Puesto que en una pareja puede -- tardar razonablemente en aparecer una gestación, no se considerará una pareja como estéril, sino hasta después de transcurridos de uno a dos años de vida sexual activa sin que se presente embarazo (37,398). Transcurrido este lapso de tiempo la pareja estéril será sometida a un estudio minucioso, que en -- términos generales suele dividirse en las siguientes etapas -- (344):

- a) Entrevista inicial.
- b) Historia médica y exploración física.
- c) Selección y aplicación de estudios para valorar los posibles factores etiológicos implicados.
- d) Tratamiento.

En estas etapas resulta fundamental estudiar a ambos cónyuges simultáneamente, y tener presente la multiplicidad de -- factores etiológicos relacionados con la esterilidad, mismos que pudieran presentarse en forma única o múltiple, tanto en --

el varón como en la mujer (364,376). Estos factores etiológicos se enlistan a continuación:

- Ignorancia (malos hábitos coitales) (280).
- Deficiencias hormonales (364).
- Deficiencias nutricionales (364).
- Infecciones (197).
- Agentes nocivos (drogas, sustancias químicas, radiaciones, calor excesivo) (250).
- Psicológicos (284).
- Neoplasias (398).
- Genéticos (48,115).
- INMUNOLOGICOS (37,398).

De los diversos estudios aplicables a la valoración del problema de esterilidad (punto c), una evaluación sistemática tradicional ha consistido en (264, 266,344,364,398):

a) Evaluación del varón.

Análisis seminal.

b) Evaluación de la mujer.

Proceso ovulatorio.

Arquitectura uterotubal.

Prueba postcoital (interacción entre moco cervical y espermatozoides).

Examen endoscópico de la pelvis.

Con este protocolo se puede alcanzar generalmente el diagnóstico del factor causal en un 80-85% de las parejas, perteneciendo las restantes al grupo de esterilidad inexplicada -- (266,309). Esto sin embargo, no quiere decir que la esterilidad de estas últimas parejas no tenga una etiología, sino que

ésta nos es desconocida con los procedimientos de diagnóstico empleados. A este respecto debe mencionarse que el hallazgo de resultados normales en el análisis seminal u otras pruebas rutinarias del protocolo tradicional mencionado, no excluyen la participación de procesos inmunológicos como causa de su esterilidad (134,142,263,342) puesto que dichas pruebas no fueron diseñadas para valorar la participación de tales procesos. Precisamente a partir del estudio de parejas con esterilidad inexplicada se ha generado la creación y la implementación paulatina de pruebas enfocadas a la valoración de procesos inmunológicos.

Algunos puntos que resultan fuertemente sugestivos de la participación de procesos inmunológicos en contra del espermatozoide son la observación de espermatozoides aglutinados en el examen seminal (141,142,192,343) así como el hallazgo de pruebas postcoitales persistentemente anormales en presencia de semen y moco cervical normales (342,343,364,398). En el varón resulta un factor predisponente la historia de infección o daño genitourinario (91,142); se consideran observaciones sugestivas, en menor grado, la oligospermia o la baja motilidad de espermatozoides (141,244,343).

En todo caso la evaluación final de la participación de procesos inmunológicos en las parejas estériles deberá hacerse mediante alguna de las pruebas diseñadas especialmente para ello; en el terreno de la inmunidad contra espermatozoides se está haciendo fundamentalmente mediante pruebas para detección de anticuerpos antiespermatozoide en cualquiera de los cónyuges, en tanto que las pruebas para detección de autoanticuerpos anti-zona pélucida en mujeres estériles están aún en una fase preliminar, por lo que deberán transcurrir algunos -

años para que se establezca su significado y posible aplicación clínica.

Haciendo mención a los porcentajes de incidencia, se estima que en los países de occidente del 1 al 9% de los matrimonios practican la esterilidad voluntaria (por métodos anticonceptivos) (37), mientras que con respecto a la esterilidad involuntaria la mayoría de los autores coinciden en indicar -- que se presenta en un 5 al 15% de los matrimonios (37,122,261 266,339). La incidencia aparente de esterilidad inmunológica en las parejas con esterilidad involuntaria es de un 5% (182,309).

La estimación de la verdadera frecuencia resulta en extremo difícil; las oscilaciones de uno a otro estudio pueden ser atribuibles a una falta de unificación en cuanto a patrones de referencia, protocolos de investigación, definiciones de normalidad, diferencias intrínsecas poblacionales y diferente metodología (3,362). En mujeres con esterilidad inexplicada, por citar un ejemplo, se ha reportado una incidencia de factores inmunológicos del 9-17%, del 14-40% y del 7-67% (158,163,253). En un intento de eliminar parte de esta problemática, -Noghissi y Wallach describen lo que debiera considerarse como una evaluación completa de esterilidad (266).

2.- ANTECEDENTES HISTORICOS.

La fertilidad y la esterilidad han ocupado la mente del ser humano desde épocas remotas; ya para los primeros hombres la propagación de la raza y su sobrevivencia eran una fuente de verdadera ansiedad. Se han encontrado descripciones muy antiguas de este tema, por ejemplo, en papiros egipcios que da-

tan de los años 1350 y 1550 A.C.. De hecho, la historia de -- las diferentes civilizaciones permite entrever que cada una -- de ellas ha tenido sus propias creencias y prácticas en torno a la fertilidad y esterilidad. Así se pueden citar entre mu-- chas, la costumbre de las mujeres húngaras de morder sus pro-- pias placentas para "mejorar" su probada fertilidad; el rito hindú de fertilidad consistente en el paso de las mujeres a -- través del hueco de una roca, la cual representaba simbólicamente los genitales femeninos; la prescripción por parte del médico romano Sorano, de untarse el cérvix antes del coito, -- con aceite rancio o miel para prevenir el embarazo; la pres-- cripción por Haly Abbas -personaje árabe- del uso de suposito-- rios vaginales conteniendo arsénico para el tratamiento de la esterilidad ; etc. (180).

En 1899 Landsteiner y Metchnikoff demostraron, indepen-- dientemente, que la inyección de esperma o extractos testicu-- lares de una especie animal a otra diferente desencadenaba la formación de anticuerpos antiespermatozoide en el suero (52). Un año después Metchnikoff encontró que el esperma era antigé-- nico aún cuando se inoculaba a machos o hembras de la misma -- especie (52); él observó que los cobayos inoculados producían una substancia que era capaz de inmovilizar a los espermato-- zoides, a la que llamó espermattoxina. En los años posteriores una serie de autores demostraron también la posibilidad de in-- ducir una respuesta inmunológica mediante la inyección de es-- perma en diversas especies (190).

Hacia 1923 Pommerenke sugirió la posibilidad de una inmu-- nización en las hembras mediante esperma, y una esterilidad -- consiguiente, mientras que Voisin y colaboradores hicieron -- una observación similar pero como un proceso de autoinmuniza--

ción en el macho del cobayo (37).

Una observación importante derivada de este tipo de estudios de inmunización experimental, fué la de que los anticuerpos producidos reaccionaban únicamente con espermatozoides testiculares y seminales, y no con otros tejidos, de lo que se desprendió que los espermatozoides debieran poseer antígenos organoespecíficos (338).

En 1922 Mayer llamó la atención sobre casos de esterilidad humana curados durante la primera guerra mundial por una larga abstinencia sexual; este fenómeno entonces no interpretado guardaba relación con la esterilidad inmunológica (37). En ese mismo año Neaker detectó actividad aglutinante e inmovilizante de espermatozoides (ésta última dependiente de complemento) en el suero de dos mujeres pertenecientes a parejas con esterilidad inexplicada (249). Ardelt en 1931 descubrió la presencia de anticuerpos antiespermatozoide en el suero de algunas mujeres estériles (37).

Entendiendo este tipo de observaciones y tomando como premisa los estudios de inmunización experimental en otras especies, varios investigadores realizaron en la década de los treinta, estudios de inmunización experimental en mujeres, aplicando para ello suspensiones de espermatozoides humanos por vía intramuscular o subcutánea, lo que produjo la aparición de anticuerpos antiespermatozoide y una aparente reducción de su fertilidad durante un período aproximado de un año (19,76,311).

En 1954 Wilson reportó los primeros dos casos de varones estériles en los que se observó aglutinación de los espermatozoides en su semen eyaculado, pese a que en cuanto a volumen, cuenta de espermatozoides, viscosidad y movilidad, la esperma

tobioscopía mostró resultados normales (383). Tanto en el plasma seminal como en el suero de estos hombres se encontraron autoanticuerpos antiespermatozoide, a partir de lo cual Wilson postuló que la aglutinación de los espermatozoides en el semen eyaculado fué debida a la presencia de autoanticuerpos. La consecuente observación de que esta aglutinación previene la penetración de los espermatozoides en el moco cervical, así como la comprobación de que sus esposas eran fértiles (al ser inseminadas con espermatozoides de donadores) le condujo a plantear que la aglutinación de los espermatozoides provocada por los autoanticuerpos, era la causa de su esterilidad.

Por ese mismo año Rúnke describió el caso de dos pacientes con extrema oligospermia y cuyo suero poseía espermaglutininas (315). Después en 1959, al trabajar con una población de 2015 varones estériles, observó títulos de anticuerpos aglutinantes (espermaglutininas) mayores de 1:32 en una tercera parte de ellos, cosa que no sucedía en un grupo control de varones fértiles, lo cual indicaba una interrelación entre la presencia de anticuerpos antiespermatozoide y esterilidad (274,319).

Por otro lado Schwimmer (331) y Kolodny (200) observaron una mayor frecuencia de actividad aglutinante de espermatozoides en los sueros de prostitutas en comparación con los de otras mujeres (72.7% 20%), sugiriendo que esto pudiera reflejar una exposición más extensa hacia los antígenos espermáticos; encontraron además una relación entre los títulos de anticuerpos antiespermatozoide circulantes y la menor tasa de embarazos entre tales mujeres.

Pocos años después Rúnke, Franklin y Dukes detectaron ac-

tividad aglutinante de espermatozoides en un 72-79% de mujeres con esterilidad inexplicada, usando una técnica de microaglutinación (100,101). Esta actividad desapareció del suero de 10 de 13 mujeres cuyos maridos utilizaron preservativos durante el coito por diversos intervalos de tiempo, y cuando realizaron nuevamente el coito sin el uso de preservativo, 9 de esas 10 se embarazaron (101).

No fué sino hasta con los citados estudios de Wilson, Rúnke y Franklin y Duker, cuando la actividad antiespermatozoide acaparó mayor interés, apareciendo investigaciones más extensas y numerosas acerca de la presencia de dicha actividad en mujeres y varones estériles.

Recientemente y tomando como premisa los abundantes estudios en favor de una relación entre la presencia de anticuerpos antiespermatozoide y esterilidad, Shivers y Dunbar (336) han propuesto que la presencia de autoanticuerpos anti-sonapéldida detectados en algunas mujeres pudiera ser la causa de su esterilidad, ampliando con ello el concepto de esterilidad inmunológica.

3.- OBJETIVOS.

El presente trabajo pretende hacer una revisión de los conocimientos fundamentales en relación a la esterilidad inmunológica humana, esperando que permita visualizar los logros, problemática y perspectivas concernientes al caso, por cuanto que los conocimientos derivados de las investigaciones realizadas en este campo seguramente permitirán un mejor y más completo estudio de las parejas estériles, así como por su posible aplicación a otros campos, básicamente el de la anticon-

cepción.

Otro de los objetivos implícitos del trabajo, es el de -
conjuntar la abundante información que se encuentra diseminada
respecto a este tema, de tal manera que la presente investi
gación pueda servir como obra de consulta a las personas -
interesadas en la materia.

II) ANTIGENOS SEMINALES .

1.- CONSTITUCION Y ANTIGENICIDAD DEL SEMEN.

El semen es una mezcla antigénica compleja (21). Está — constituido básicamente por :

- a) espermatozoides
- b) plasma seminal

Los espermatozoides están suspendidos en dicho plasma seminal, el cual proporciona un medio nutritivo con osmolalidad y volumen adecuados para vehiculizar los espermatozoides en el proceso de fecundación (55).

El plasma seminal está constituido por las secreciones de las glándulas accesorias del tracto reproductor del varón: — próstata, vesículas seminales, glándulas bulbouretrales o de Cowper y glándulas uretrales (18)(fig. 1). Además de la contribución antigénica aportada por los espermatozoides y las secreciones propias de las glándulas accesorias, existe en el semen cierta contribución derivada del suero (365).

La antigenicidad del semen fué demostrada inicialmente en las investigaciones de Landsteiner, Metchnikoff y Metalnikoff (52) y desde entonces se ha dirigido mucho empeño a la identificación del sitio y especificidad de los antígenos reactivos del espermatozoide o del plasma seminal (272). En uno de los primeros reportes a este respecto, Rao (306) describió 7 antígenos seminales en la especie humana; 4 de ellos exclusivos del espermatozoide y otros 4 del plasma seminal.

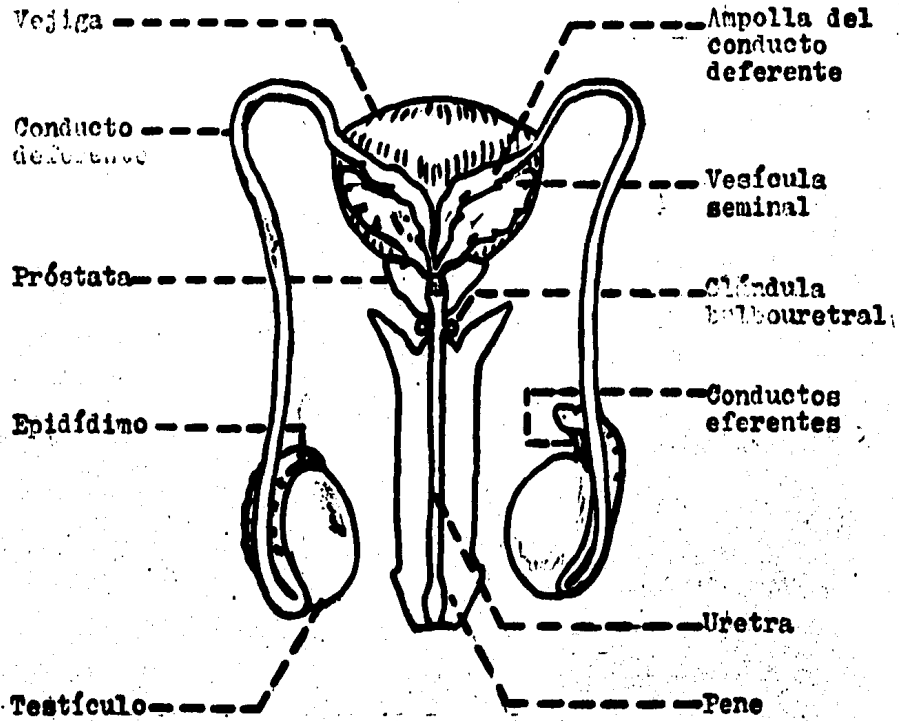


FIGURA N° 1. Vista posterior del aparato reproductor masculino mostrando las glándulas accesorias que contribuyen con sus secreciones a la formación del plasma seminal: vesículas seminales, glándulas bulbouretrales, próstata y uretra (contiene glándulas uretrales) (213).

2.- ANTIGENOS DEL PLASMA SEMINAL HUMANO (PSH).

La determinación del número total de componentes antigénicos del plasma seminal humano (PSH), así como de aquéllos exclusivos o específicos del mismo, se ha realizado fundamentalmente por medio de procedimientos de inmunodifusión e inmunoelectroforesis, enfrentando muestras de PSH a antisueros anti-PSH obtenidos por inoculación de PSH en animales de experimentación, e infiriendo el número de antígenos presentes en base al número de líneas o arcos de inmunoprecipitación observados

Como puede observarse en la tabla I, los resultados obtenidos difieren entre los diversos investigadores (46,47,59,60 138,166,203,225,226,227,229,301). Así, por ejemplo, De Fazio y Ketchel (60) detectaron 23 componentes antigénicos en el -- PSH (6 exclusivos del PSH y 17 comunes a otros tejidos o secreciones) mientras que Isojima y colaboradores reportan de 13-15 componentes (4 exclusivos del PSH)(166). Contribuyen a estas diferencias:

- La diversa calidad del antisuero anti-PSH utilizado.
- La sensibilidad intrínseca del método.
- El sistema de absorción utilizado.

Este último punto se refiere al hecho de que para la detección de antígenos exclusivos del PSH, entre el total de -- componentes antigénicos del mismo, se suele hacer una incubación del antisuero anti-PSH con diferentes extractos de tejidos o secreciones corpóreas. Si existe reactividad cruzada entre los antígenos de alguno(s) de estos tejidos y alguno(s) -- del PSH, se verá una disminución en el número de bandas de inmunoprecipitación al enfrentar nuevamente el antisuero incuba

ANTIGENOS DEL PLASMA SEMINAL HUMANO

INVESTIGADORES	No. TOTAL DE ANTICUEROS	SISTEMA DE ABSORCION	No. DE ANTIGENOS "ESPECIFICOS"	COMENTARIOS
LI Y BENJAMIN (227)	14	Suero, hígado, riñón, cerebro	3*	Detectaron 3 antígenos reaccionantes: 2 de los cuales eran antígenos específicos del HSP, y el otro reaccionaba con antisuero contra leche humana
QUINLIVAN (295)	6-7	Suero, hígado, bazo, corazón, páncreas, cerebro	4	
QUINLIVAN Y SULLIVAN (301)	9	Suero	4*	Los antígenos específicos son: una fosfatasa ácida, una beta-globulina (prostática) y una beta-globulina (de vesícula seminal). Los otros antígenos son: la lactoferrina, y otros cuatro provenientes del suero.
HERRMAN Y MUMKE (130)	9-11	Suero	6*	Tres de los antígenos específicos eran probablemente de origen prostático. Dos de los no específicos, eran también detectados en la leche y saliva.
LI Y SHULMAN (229)	12	No absorbido	-	Por su movilidad electroforética los clasificó en 5 grupos A (A ₁ , B (B ₁ , B ₂ , C (C ₁ , C ₂ , C ₃ , C ₄), E (E ₁ , E ₂ , E ₃) y F (F ₁ , F ₂). Los de los grupos A, B y C se depositan hacia el ánodo, mientras que los de los grupos E y F lo hacen hacia el cátodo.
DE FAZIO (59)	19	Suero	5	
DE FAZIO Y KETCHEL (60)	23	(ver comentario)	6	De los 23 componentes incidentalmente detectados, 7 son detectados también en el suero, y otros 10, en tejidos femeninos y secreciones como: leche, moco cervical, saliva, secreción nasal, jugo gástrico, orina, cérvix, vagina, endometrio, trompa de Falopio, ovario y riñón.
LI Y BEHLING (226)	11	Suero, riñón, hígado	5*	De los cinco antígenos específicos, el E ₁ mostró un P.M. de 30 000 d., tenía movilidad beta en la electroforesis y no era de origen prostático. Entre los no específicos, hubo uno que también se detectaba en la leche.
HERRMAN (225)	14	Suero	7*	Los 7 antígenos específicos son: 2 fosfatasas ácidas, 2 aminopetidases, una proteasa y dos proteínas con coeficiente de sedimentación 3.7S y 1.1. S respectivamente. Una de las fosfatasas y la proteína con coeficiente 11.5 son prostáticos.
CEREZO (66,47)	Estudian 4 fracciones, pero no establecen si son específicos.	No hacen estudios de absorción.	-	Los componentes B ₁ y B ₂ fueron de tipo glucoproteico y con P.M. de 10 000 d.; B ₃ era un polisacárido altamente ramificado; B ₄ era un glucopéptido con alto porcentaje de aminoácidos básicos. Ninguno contiene hierro.

Consideran como los principales componentes antigénicos a los 4 antígenos específicos, y a otros 2 glucoproteínas que también se detectan en la leche y que poseen Fe en su molécula: antígeno No. 7 (ferritina) y antígeno No. 3 (lactoferrina). El antígeno No. 7 tiene un P.M. aproximado de 15 000 d. pero parece estar presente en el plasma seminal como polímero de P.M. mayor a 100 000 d., comparte características con el antígeno No. 3; éste último fue caracterizado por Li y Col (238) y tiene un P.M. de 69 000 d., pero en la purificación se desdobló en 2 subunidades de 33 000 d.

* Estas cifras son corregidas - disminuidas en una unidad - ya que los autores en cuestión incluyeron dentro de este grupo, a un antígeno que era también detectado en la leche, muy probablemente la lactoferrina (ver texto).

TABLA I Estudios enfocados a la caracterización de los componentes antigénicos del plasma seminal humano. Como puede observarse, el número de antígenos, totales y específicos difiere en los diversos estudios debido, muy probablemente, a la diversa calidad del antisuero anti-PSM utilizado así como por el diferente sistema de absorción utilizado.

Table with multiple columns and rows, containing data from various studies. The text is extremely faint and difficult to read, but appears to be organized into columns with headers and data points.

do y el PSH, apareciendo en este caso sólo aquellas bandas — que representan antígenos "exclusivos" del PSH. Tal sistema — de absorción ha diferido en las diversas investigaciones, — arrojando un número variable de antígenos exclusivos (tabla I) En este sentido no ha habido una estandarización en técnicas y nomenclatura, además en la mayoría de los casos los componentes antigénicos han sido caracterizados sólo por su comportamiento electroforético, dificultando la comparación de los resultados experimentales (110,225). No obstante, se han podido establecer algunos puntos:

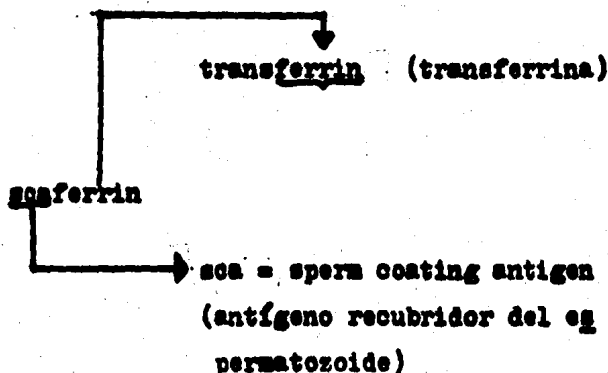
- Muchos de los componentes antigénicos del PSH son comunes a otros tejidos o secreciones.
- Además de los componentes antigénicos aportados al PSH por las secreciones propias de las glándulas accesorias existen algunos componentes provenientes del suero: albúmina, gammaglobulinas (IgG e IgA), transferrina, alfa-1 seromucóide, alfa-1 antitripsina, alfa-1 glucoproteína, beta-globulina (60,225,301).
- El PSH posee antígenos exclusivos, aunque su número no está definido ya que ha variado según el sistema de absorción utilizado (8,225).

El antígeno quizá más estudiado del PSH es una lactoferrina que se origina en las vesículas seminales (138,382) y que ha sido identificada como antígeno recubridor del espermatozoide (se adhiere a su superficie)(138,226,310). Se ha estimado que su P.M. es de unos 60 000 Da aunque en el proceso de purificación parece desdoblarse en dos subunidades de 33 000 Da; está ausente en el suero y la orina (228).

Se ha observado una amplia distribución de la lactoferrina.

na o sustancias antigénicamente de tipo lactoferrina en diversas secreciones corpóreas (secreción nasal, lágrimas, saliva, bilis)(8,138,238). Hekman (137) reportó que las lactoferrinas de los diferentes fluidos humanos eran inmunológicamente idénticas, pero diferentes en cuanto a movilidad electroforética, probablemente debido al acoplamiento de una lactoferrina nativa a diferentes macromoléculas en los diferentes fluidos del cuerpo.

En relación con esto último, Roberts y Boettcher (310) y Hekman (138) han señalado precisamente, que este antígeno recubridor del plasma seminal es inmunológicamente similar a la lactoferrina de la leche pero diferente en cuanto a movilidad electroforética. Tomando en cuenta que la movilidad electroforética de la lactoferrina del plasma seminal (antígeno recubridor) es similar a la de la transferrina, Roberts y Boettcher sugieren denominarle "escaferrina":



En este terreno y desde un punto de vista similar a lo descrito por Hekman (137), Boettcher (25) ha indicado que la "escaferrina" pudiera ser la lactoferrina unida firmemente a algunas proteínas seminales.

Recientemente Isojima y col. (165) aislaron otro antígeno del PSH, utilizando cromatografía de afinidad con anticuerpos monoclonales, denominándolo ferrisplan (o antígeno # 7 en su nomenclatura). Este antígeno comparte muchas similitudes con la lactoferrina (escaferrina): contiene hierro en su molécula, es de naturaleza glucoproteica, es secretado principalmente en vesículas seminales, está ausente en el suero y la orina, y se adhiere al espermatozoide como antígeno de recubrimiento en la pieza media y capuchón posnuclear; difiere de la escaferrina en estructura, antigenicidad y peso molecular (165,228,333, -- 334).

Se ha indicado que los antígenos del plasma seminal humano pudieran modificar o contribuir a la antigenicidad del espermatozoide, mediante la adhesión de uno o varios de ellos a la superficie del mismo como antígenos de recubrimiento (184,203,-- 253). Weil y Rodenburg (381) fueron los primeros en describir los antígenos recubridores, y hay concordancia general en que la lactoferrina (escaferrina) o un antígeno inmunológicamente similar sea el principal antígeno recubridor (138,238,272).

En relación con la esterilidad inmunológica, se les otorgó importancia a los antígenos recubridores provenientes del plasma seminal en virtud de que algunos reportes sugirieron que -- los anticuerpos inmovilizantes de espermatozoides presentes en el suero de algunas mujeres estériles estaban dirigidos contra antígenos recubridores (163,167) así como el que estos antígenos participaran también en reacciones de aglutinación de espermatozoides (226,227).

No obstante, Isojima cuestionó posteriormente la primera afirmación al mencionar que los resultados observados pudieran

deberse a otras causas y no precisamente por una reacción entre anticuerpos antiespermatozoide y antígenos del plasma seminal (166). Respecto a las reacciones de aglutinación de espermatozoides, se ha observado que los antisueros producidos contra plasma seminal humano en especies heterólogas (diferentes del humano), efectivamente pueden aglutinar e inmovilizar espermatozoides humanos a través de los antígenos de recubrimiento (165,166,203,227), sin embargo los estudios en humanos han revelado que los anticuerpos aglutinantes e inmovilizantes presentes en personas con problemas de esterilidad no están dirigidos contra dichos antígenos de recubrimiento provenientes del plasma seminal (31). Esto último ha sido corroborado en un estudio a nivel internacional auspiciado por la OMS en el cual no se observaron cambios en los títulos de sueros con anticuerpos antiespermatozoide (provenientes de parejas estériles y de hombres vasectomizados) cuando se absorbieron con plasma seminal ya sea por adición directa o por cromatografía de afinidad (sobre columnas que contenían plasma seminal) mientras que la absorción con homogenizado testicular (que contenía obviamente espermatozoides) produjo una reducción significativa de los títulos de todos los sueros probados (28).

Por lo tanto el estado actual de conocimiento hace incierta la importancia de los antígenos del plasma seminal en la esterilidad inmunológica, y favorece el suvuesto de que los anticuerpos aglutinantes e inmovilizantes de espermatozoides en los humanos no están dirigidos contra antígenos recubridores - sino contra antígenos intrínsecos del espermatozoide (28,29,32 158,318).

1.- ANTIGENOS DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO.

El espermatozoide o célula germinal masculina se origina - en los túbulos seminíferos del testículo; las porciones distales de las paredes internas de dichos túbulos contienen gran cantidad de células denominadas espermatogonias, las cuales experimentan meiosis y se transforman en espermátides (18,118). Estas espermátides se unen a células de Sertoli y experimentan cambios anatómicos (retracción y eliminación de citoplasma, modificación de la morfología del acrosoma y cola) que las transforman en células germinales plenamente formadas. Finalmente - los espermatozoides, aún inmóviles, son conducidos al epidídimo probablemente por acción ciliar y presión (116); allí desarrollan su capacidad de fertilizar al óvulo debido a cambios maduracionales como modificación de patrones metabólicos, modificación del patrón de motilidad y cambios en tipos y cantidades de componentes de superficie (84). El espermatozoide maduro mide entonces de 55 a 65 micras de longitud y consta de las siguientes partes (18,116,253)(fig. 2):

- Cabeza: de forma oval o elíptica, consiste mayormente de material nuclear con poco citoplasma.
- Acrosoma: es la pequeña cantidad de citoplasma que rodea al material nuclear de la cabeza; se cree que está involucrado en la liberación de enzimas necesarias para la fertilización.
- Cuello: estructura delicada, probablemente derivada del centríolo; conecta la cabeza con el cuerpo o pieza media del espermatozoide.

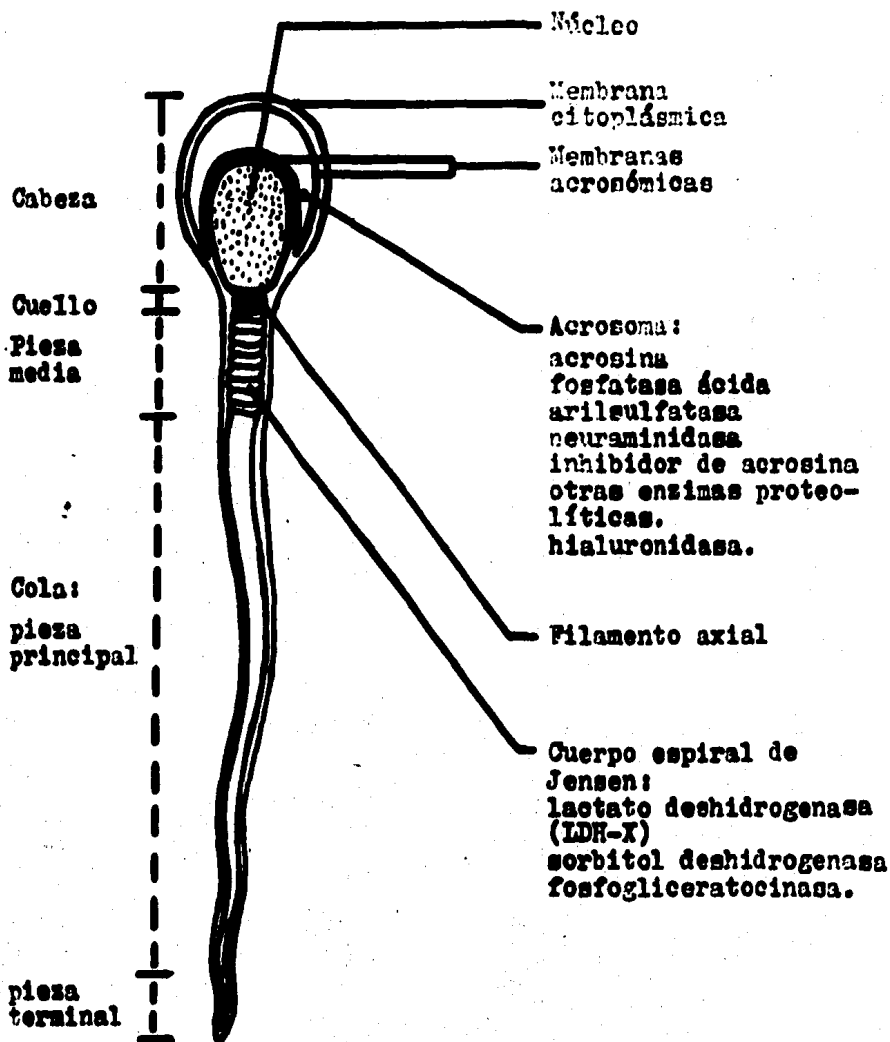


FIGURA Nº 2. Estructuras del espermatozoide humano; debido a su antigenicidad cabe resaltar entre ellas a la membrana citoplásmica (contiene antígenos intrínsecos de superficie); también son antígenos importantes, las protaminas del núcleo y las enzimas hialuronidasa, acrosina y lactato deshidrogenasa (253).

- **Pieza media o cuerpo:** tiene forma cilíndrica o de huso, y contiene muchas fibrillas finas agrupadas en un fascículo denominado filamento axial. Este filamento axial está rodeado por una estructura en espiral llamada cuerpo de Jensen, área de actividad metabólica productora de -- energía. Circundando enteramente esta pieza media hay -- una porción de citoplasma en la que están suspendidas -- partículas minúsculas llamadas microsomas.
- **Cola:** es la estructura más larga del espermatozoide maduro y está dotada de movimiento ondulante que permite la progresión del espermatozoide.

Una vez mencionadas las diversas estructuras del espermatozoide se hará referencia a sus antígenos, los cuales se agrupan en:

- A) Recubridores.
- B) Antígenos de grupo sanguíneo.
- C) Antígenos HLA.
- D) Intrínsecos u organoespecíficos.
 - a) De superficie o relacionados.
 - b) Enzimas.
 - c) Nucleares.

A) Antígenos recubridores.

Son antígenos provenientes del plasma seminal que son absorbidos sobre la superficie del espermatozoide. El principal antígeno recubridor es la lactoferrina (138,238,272).

B) Antígenos de grupo sanguíneo.

Los antígenos de grupo sanguíneo fueron primeramente demostrados por Landsteiner y Levine en 1926 (158). Investigaciones más recientes aplicando procedimientos de absorción, aglutinación mixta e inmunofluorescencia han confirmado que los espermatozoides de individuos con carácter secretor portan antígenos ABO absorbidos sobre su superficie (24,72,195,272,286). La presencia de estos antígenos sobre la superficie de espermatozoides de individuos no secretores (como antígenos intrínsecos) es un punto de debate (2,318,332).

Algunos autores les confieren importancia en cuanto a la posible inducción de respuestas inmunológicas en parejas estériles (por incompatibilidad de grupo entre los cónyuges)(184, 373), sin embargo se ha observado en algunos estudios que los anticuerpos contra antígenos ABO no producen aglutinación de los espermatozoides (81) ni los inmovilizan (168,333), lo cual sugiere que estos antígenos no tengan participación en tales reacciones y por lo tanto en la inducción de esterilidad inmunológica (253,272,318).

Otros antígenos de grupo sanguíneo que han sido detectados sobre el espermatozoide son los antígenos MN y el antígeno Tja (72); el antígeno D no pudo ser detectado por Levine ni por Quinlivan (219,360).

C) Antígenos HLA.

La presencia de antígenos HLA sobre el espermatozoide humano ha sido sugerida por los resultados de diversos estudios (12,79,82,83,124,126) aunque también ha habido reportes en contra de tal afirmación (9,174). Los que están a favor de su pre-

sencia sugieren una expresión haploide de dichos antígenos (39 125,188,214). En todo caso, se ha reportado que los anticuerpos anti-HLA tampoco producen aglutinación ni inmovilización de espermatozoides (138) lo que deriva que los antígenos HLA no sean relevantes en la inducción de esterilidad inmunológica (174,178,273). En apoyo de lo anterior está el hecho de que en un panel de sueros que contenían anticuerpos antiespermatozoide no se detectaron anticuerpos anti-HLA (28).

D) Antígenos intrínsecos u organoespecíficos.

a) De superficie o relacionados.

En virtud de que el espermatozoide es una célula altamente especializada, expresa por codificación genética, varios productos no encontrados en otras células del organismo (220). Muchos de sus antígenos son adquiridos durante el proceso de espermatogénesis en los túbulos seminíferos del testículo, mientras que otros aparecen durante su permanencia en el epidídimo (84,282). Las moléculas específicas a estos procesos poseen organoespecificidad (110,253,318,329,338) por lo que pueden ser potentes autoantígenos en el varón e isoantígenos potenciales en relación a la mujer (292).

La presencia de autoantígenos espermáticos organoespecíficos se ha corroborado a partir de estudios clínicos en varones y mujeres estériles en los que se han detectado anticuerpos -- que reaccionan de manera específica con los espermatozoides -- (318). La mayoría de estos autoantígenos están localizados sobre la superficie del espermatozoide (169) y son los de mayor importancia en el contexto de la esterilidad inmunológica ya que los anticuerpos antiespermatozoide detectados en parejas -

estériles están dirigidos contra tales antígenos intrínsecos - (28,29,32,158,183,318).

Se ha sugerido la existencia de distintos autoantígenos de superficie en base a los distintos tipos de aglutinación detectados al incubar espermatozoides y sueros con anticuerpos anti espermatozoide (cabeza-cabeza, cola-cola, etc.)(313), así como por los diferentes patrones de tinción obtenidos sobre la superficie del espermatozoide mediante técnicas de inmunofluorescencia (131). A este respecto, se han hecho estudios de aislamiento y caracterización de los antígenos de superficie del espermatozoide que inducen la producción de anticuerpos específicos en el humano (215); estos estudios (tabla II) han utilizado diferentes procedimientos y han permitido obtener diversas fracciones antigénicas, que en general han sido de tipo peptídico, proteico o glucoproteico (53,57,199,215,256,258,292,293,392,396). En este terreno una aproximación importante ha sido el trabajo de Czuppon y Mettler (54), quienes purificaron por cromatografía de inmunoafinidad, polipéptidos antigénicos del espermatozoide, llegando a determinar primeramente la secuencia de aminoácidos de uno de ellos y logrando su síntesis posterior; el péptido sintetizado reaccionó con anticuerpos anti espermatozoide presentes en el suero de pacientes estériles. Recientemente se ha reportado una aparente reactividad antigénica cruzada entre los espermatozoides y los linfocitos T (239 242,389), lo cual representa una excepción importante de la citada organoespecificidad de los antígenos intrínsecos del espermatozoide (246); no obstante, puede decirse de manera global que el trabajo realizado en este terreno es aún incompleto y se ha visto entorpecido por circunstancias tales como:

ANTÍGENOS INTRÍNSECOS DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO
EXPERIMENTOS DE SOLUBILIZACIÓN Y CARACTERIZACIÓN

INVESTIGADORES	PROCEDIMIENTO	FRACCIONES O COMPONENTES OBTENIDOS	NATURALEZA	COMENTARIOS
NETLÉN Y SARABEI (256)	Espermatozoides tratados con detergentes (Tritón X-100) (Nesline). Purificación - de sobrenadantes por cromatografía en gel.	I P.M. 2 4000 Da. V P.M. 1000 Da II P.M. 1600 Da. VI P.M. 700 Da III P.M. 1400 Da. VII P.M. 500 Da IV P.M. 1000 Da.	Peptídica *	Sólo las fracciones I-IV mostraron actividad antigénica, habiendo pruebas de inmovilización de espermatozoides. Tienen reacción selectiva con anticuerpos inmovilizantes.
YOUNG Y GOODMAN (396)	Marcado de espermatozoides con ¹²⁵ I. Tratamiento con detergente. (Tritón X-100). Electroforesis en gel de poliacrilamida.	HS-1 P.M. 92 200 ± 5800 Da HS-3 P.M. 46 000 ± 1900 Da	Proteínas *	Identifican otros tres componentes sobre la superficie del espermatozoide, que comparten características con componentes del plasma - seminal humano (como contaminantes): HS-2: 72 300 ^{Da} , HS-4: 30 200 ^{Da} , HS-5: 20 300 ^{Da} .
NETLÉN Y SARABEI (258)	Análisis de espermatozoides. Purificación de sobrenadantes por cromatografía en gel y en - caca fina e inmunoelectroforesis.	17 fracciones de P.M. entre 1000 y 1800 Da. La fracción 3 tuvo un P.M. de 1800 Da - y su hidrólisis ácida reveló 17 residuos de aminoácidos.	Peptídica *	Sólo la fracción (3) (conjugada con citocromo) reaccionó al hacerse reaccionar con sueros - que contienen anticuerpos inmovilizantes de - espermatozoides. Ninguna fracción reaccionó al hacerse reaccionar con sueros que contienen anticuerpos aglutinantes de espermatozoides.
DE ALMEIDA Y COL. (57)	Ultracentrifugación de espermatozoides. Purificación de sobrenadantes por cromatografía en gel. Electroforesis en gel de poliacrilamida.	F ₁ P.M.: 80 000 Da, involucrada en aglutinación cabeza - cabeza y spermocitotoxicidad. F ₂ P.M.: no se determinó, se sospecha que - está involucrada en aglutinación cabeza - cabeza. F ₃ P.M.: 12 000 Da, involucrada en aglutinación cabeza - cabeza.	Proteínas *	Obtuvieron otros dos componentes que no mostraron antigenicidad.
POULSEN (292)	Espermatozoides marcados radioactivamente. Tratamiento con desnaturalizante. Cromatografía de afinidad con lactinas. Electroforesis en gel de poliacrilamida.	4 Cadenas: 2 con P.M. de 41 000 Da 1 con P.M. de 77 000 Da 1 con P.M. de 120 000 Da	Cadenas polipeptídicas glucosiladas.	Sugiere la existencia de un auto isotipo - no compuesto por, lo menos por 4 cadenas, polipeptídicas glucosiladas.
ROK Y SAMUEL (199)	Solubilización con urea - guanidina y dityrosilato. Diálisis. Cromatografía de intercambio iónico. Filtración en gel (Sephadex)	Fracción III: proteína: P.M. = 6 300 Da contiene 47 residuos de aminoácidos. Fracción IV: proteína: P.M. = 7 700 Da contiene 51 residuos de aminoácidos.	Proteínas fuertes básicas.	La proteína I fue más efectiva en las pruebas de inhibición de fluorescencia. Ambas proteínas son autoantígenos del espermatozoide. La fracción I era un componente ácido; la fracción II era predominantemente básica (proteínas de tipo histónica)
MALICA Y COL. (371)	Solubilización diferencial con detergentes (SDS, DTT y CTAB). Electroforesis en gel de acrilamida.	56 bandas de proteínas "citasales" (P.M.: 12 000 ^{Da} - más de 160 000 Da) 37 bandas de proteínas filigranas (P.M.: 25 000 - más de 148 000 Da) 19 bandas de proteínas nucleares (16 con P.M. de 40 000 - más de 160 000 Da y 3 con P.M. de 12 000 - 17 000 Da; histonas y proteínas respectivamente)	Proteína	Ninguna de estas bandas representa, productos de degradación o contaminantes del plasma seminal.
WOLF Y COL. (392)	Solubilización con detergentes (NP - 40), purificación con acetona, electroforesis en gel de poliacrilamida. Inmunoensayo con anticuerpos monoclonales (HS-4).	Antígeno HS-4 P.M.: 130 000 Da	Proteína o Glicoproteína *	El antígeno reaccionó en especie - específico y órgano específico; está localizado en la región postacrosomal y gliala media del espermatozoide.
CLIFFON Y NETLÉN (54)	Análisis de espermatozoides, radiomarcado. - cromatografía de inmunofinidad. Análisis secuencial de aminoácidos y síntesis del desoxipeptido	Obtuvieron dos fracciones, una de alto P.M. (50000 ^{Da}) y otra de bajo P.M. (1000 - 2500 ^{Da})	Peptídica *	Una de las fracciones correspondió a un desoxipeptido de composición: 1-Asp-2-Pro-3-Trp-4-Lys-5-Phe-6-Arg-7-Lys-8-Phe-9-Glu Este desoxipeptido fue sintetizado y reaccionó con anticuerpos anti-espermatozoides.

* De superficie

** Nucleares

TABLE II - Estudio de solubilización y caracterización de antígenos intrínsecos del espermatozoide humano. Los procedimientos de aislamiento han permitido la obtención de fracciones de diversos P.M. que han sido de tipo peptídico, proteico o glicoproteico. En dos de estos estudios se ha determinado la composición (199) o el análisis secuencial de aminoácidos (54) de los antígenos obtenidos. (Da = daltons).

- La capacidad absorbente del espermatozoide, que lo hace susceptible de contaminarse con componentes del plasma seminal (272). Esto se está evitando actualmente mediante lavados con solución salina (29,57,216,256,258), lo cual de acuerdo a Menge (253) elimina eficazmente los antígenos de recubrimiento

- La dificultad de aislar los componentes espermáticos de tal manera que conserven su actividad inmunológica (199).

- Los diferentes procedimientos de extracción o aislamiento resultan en diversas preparaciones, y aún en diferentes autoantígenos independientes (379).

- La utilización de antisueros convencionales si bien proporciona información valiosa del mosaico antigénico general -- del espermatozoide, obstaculiza la caracterización de los antígenos individuales por cuanto que dichos antisueros reconocen varios determinantes antigénicos diferentes (184). Ante esto se han empezado a utilizar ventajosamente, anticuerpos monoclonales en estudios tanto con el espermatozoide humano como con el de otras especies (84,109,162,165,203,204,215,217,285,333,-334). Estos anticuerpos antiespermatozoide han mostrado organo especificidad (162,204,216) y algunos han exhibido acciones y especificidades similares a la de los detectados en los seres humanos (162,216).

Por otro lado, las técnicas de inmunofluorescencia han permitido visualizar y localizar por microscopía las reacciones - antígeno-anticuerpo entre sueros u otros materiales que contienen anticuerpos antiespermatozoide, y los espermatozoides mismos, relacionando su localización respecto a la anatomía del -

espermatozoide (131,145,150,179,183,370). Esto ha brindado un cuadro discreto de los principales sitios antigénicos anatómicos del espermatozoide. Se ha referido que son ocho los sitios antigénicos (372)(fig. 3):

A.- Acrosomal (difuso) (Ac₁).

B.- Ecuatorial.

C.- Postacrosomal.

D.- Acrosomal (notado) (Ac₂).

E.- Cola (pieza principal).

F.- Nuclear (protamina).

G.- Pieza media.

H.- Cola (pieza final).

Consideraciones importantes respecto a estos sitios antigénicos son las siguientes (al nuclear se hará referencia posteriormente ya que no es de superficie):

- Estos antígenos no son recubridores sino organoespecíficos, excepto el acrosomal difuso (Ac₁) ya que éste mostró reacción cruzada con extracto adrenal (131,372).

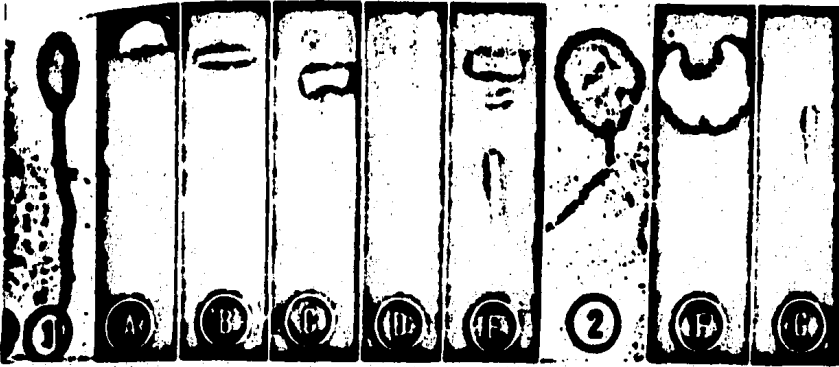
- Por medio de procedimientos de absorción, el antígeno ecuatorial mostró reacción cruzada con *Pseudomonas aeruginosa*; el acrosomal difuso (Ac₁) mostró reacción cruzada con éste y otros microorganismos (372).

- El antígeno de la pieza media fué accesible a los anticuerpos sólo después de un tratamiento con detergente y tripsina, a diferencia de los restantes que no necesitaron dicho tratamiento (370).

- Se ha mencionado que de estos antígenos detectados por -

FIGURA N° 3

SITIOS ANTIGENICOS DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO
DETECTADOS POR INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA
(370).



- A ANTIGENO ACROSOMAL DIFUSO(Ac1).
- B ANTIGENO ECUATORIAL.
- C ANTIGENO POSTACROSOMAL.
- D ANTIGENO ACROSOMAL MOTEADO(Ac2).
- E ANTIGENO DE LA COLA (PIEZA PRINCIPAL).
- F ANTIGENO NUCLEAR.
- G ANTIGENO DE LA PIEZA MEDIA.

A-E: Espermatozoides fijados en metanol e incubados, primero, con sueros humanos que contenían anticuerpos anti espermatozoides, y luego con anticuerpos fluorescentes

1: Espermatozoides no tratados (testigo de la serie A-E).

F-G: Espermatozoides incubados con ditiotretol y tripsina y tratados posteriormente en forma similar a los de la serie A-E.

2: Espermatozoides tratados con ditiotretol y tripsina -- únicamente (testigo de la serie F-G).

inmunofluorescencia, el acrosomal moteado (Ac2) y el de la cola (pieza principal) son los que parecen tener una relación más estrecha con la inducción de inmunidad contra espermatozoides (370,372).

- Respecto al antígeno de la pieza media, no se tiene la certeza de que corresponda al descrito por Feltkamp y colaboradores ya que éstos lo detectaron sobre espermatozoides no tratados (80,370).

Se ha indicado que los antígenos del espermatozoide detectados por inmunofluorescencia probablemente sean diferentes de los involucrados en reacciones de aglutinación e inmovilización de espermatozoides debido, por un lado, a que los resultados obtenidos en la detección de anticuerpos antispermatozoide por técnicas de inmunofluorescencia muestran una baja correlación con los obtenidos por técnicas de aglutinación e inmovilización, así como con el estado clínico del paciente (fértil o estéril)(182). Asimismo, los diferentes niveles de fluorescencia observados cuando se emplean espermatozoides fijados o no con metanol (mayor si son fijados), se ha explicado considerando que el procedimiento de fijación con metanol hace accesibles los antígenos situados por debajo de la membrana del espermatozoide ("subcelulares o de submembrana"); estos antígenos de submembrana serían entonces los detectados por inmunofluorescencia, en tanto que los de superficie serían los involucrados en reacciones de aglutinación e inmovilización (131). Sin embargo, las afirmaciones anteriores resultan un tanto controversiales ya que en el primer caso se ha indicado que la unión no específica de inmunoglobulinas a la superficie del espermatozoide en las técnicas de inmunofluorescencia pudiera --

condicionar la pobre correlación observada (28,384); en el segundo caso resulta interesante que el mismo Hansen (131) pudo remover enteramente los patrones de fluorescencia observados sobre espermatozoides fijados con metanol, si el suero que contenía los anticuerpos antiespermatozoide era absorbido con espermatozoides lavados únicamente, es decir, sin la supuesta alteración superficial producida por el metanol. En todo caso queda por ser establecida la relación entre los antígenos espermáticos involucrados en reacciones de aglutinación e inmovilización y los detectados por inmunofluorescencia. Kolk e Ingerslev han indicado que dicha relación permanece desconocida debido en gran parte a que los antígenos no han sido obtenidos en forma soluble y caracterizados adecuadamente (158,198).

b) Enzimas.

Las enzimas del espermatozoide del espermatozoide contribuyen también a su antigenicidad; un gran número de ellas se encuentran en el acrosoma (370). Del total de enzimas espermáticas, las estudiadas en relación con la esterilidad inmunológica han sido tres enzimas específicas del espermatozoide: hialuronidasa, acrosina y una isoenzima de la lactato deshidrogenasa denominada LDH-X (253).

Aunque se mencionó la capacidad auto y/o isocantigénica de la hialuronidasa y la acrosina (28,318), esta antigenicidad parece ser más bien baja, por lo que tienen una importancia secundaria en la esterilidad inmunológica (184,357). En los estudios clínicos, la LDH-X es la que ha mostrado una evidencia más estrecha con la esterilidad inmunológica ya que, efectivamente, se han detectado anticuerpos anti LDH-X en el suero de

algunas personas estériles (28,183). Esta isoenzima está formada por cuatro monómeros, que son diferentes de los que componen las otras isoenzimas LDH conocidas (monómeros C en vez de monómeros A o B)(357,379); su organoespecificidad parte del hecho de que su producción está controlada por un locus genético que es activo sólo a partir de la fase de espermatocito primario, siendo inactivo en las otras células del organismo (112,-379).

c) Nucleares.

Kolk y Samuel (198) detectaron, aislaron y caracterizaron químicamente dos autoantígenos del núcleo del espermatozoide. Esto se derivó a partir de estudios de inmunofluorescencia en espermatozoides tratados con tripsina y ditiotreitol (agente -reductor), lo que ocasionó un hinchamiento de la cabeza del espermatozoide, poniendo al descubierto los antígenos nucleares. La incubación posterior con sueros que contenían anticuerpos -antispermatozoide y con un conjugado de fluoresceína reveló tinción fluorescente de los núcleos.

El aislamiento del material antigénico fué posible por la utilización de DNasa o urea-guanidina sobre las cabezas hinchadas (turgentes). La purificación final del material solubilizado permitió la obtención de dos proteínas nucleares básicas -- (protamina 1 y protamina 2), las cuales tienen un alto contenido en arginina y cisteína, aunque la protamina 2 tiene mayor contenido de aminoácidos básicos (198,199)(tabla II).

Al igual que otros dos antígenos detectados por inmunofluorescencia (el acrosomal moteado y el de la cola) las protaminas guardan una relación estrecha con la inducción de anti-

cuerpos antiespermatozoide aunque en este caso su antigenicidad se reduce únicamente respecto a los varones ya que los sueros de mujeres estériles que poseían anticuerpos antiespermatozoide no reaccionaron con dichos antígenos nucleares (198,199,370,372).

III. MECANISMOS.

1.- ORIGEN DE LA AUTOINMUNIDAD CONTRA ESPERMATOZOIDES EN EL VARÓN.

La hipótesis más aceptada en relación con la inducción de una respuesta autoinmune en el varón en contra de sus espermatozoides, está vinculada al concepto de "antígeno secuestrado", por lo que se explica a continuación.

Durante la vida embrionaria, los componentes del cuerpo que se ponen en contacto con el sistema inmunológico en desarrollo, "imprimen" sobre él un sistema de identificación que impedirá (mediante la eliminación de clones específicas o por la generación de células T supresoras) una respuesta inmunológica posterior contra los mismos (inmunotolerancia)(312). Sin embargo, existe la posibilidad de que por disposiciones anatómicas o funcionales, ciertos componentes del cuerpo no tengan contacto con el sistema inmunológico durante la vida embrionaria, por lo que en el futuro no serán identificados como "propios", y existirá la posibilidad de que se desarrolle en determinadas circunstancias una respuesta autoinmune contra ellos (225,272).

Tomando en cuenta que los espermatozoides no hacen su aparición sino hasta la pubertad (cuando ya está plenamente desarrollado el sistema inmunológico) no existe información de reconocimiento previo hacia ellos, por lo que se deriva la posibilidad de que se produzca una autoinmunización (225). Esta posibilidad de autoinmunización sin embargo, está normalmente descartada gracias a la existencia de un mecanismo de aislamiento inmunológico que mantiene "secuestrados" los antígenos espermáticos, y que es brindado por la llamada barrera hematotesticular

(78,177); la base de esta barrera está constituida por las células de Sertoli, con sus uniones en los testículos, y las uniones intercelulares epiteliales del sistema de conductos eferentes (184). Esta membrana sella el epitelio y recubre túbulos y ductos reproductivos del varón (149,176,318); aunque parece permitir la difusión de pequeñas moléculas y electrólitos, brinda la función dual de prevenir el escape de antígenos desde el tracto reproductor hacia el medio ambiente circundante, y de células inmunocompetentes desde éste hacia el tracto genital (21,244). Sin embargo, se acepta que una alteración de dicha barrera permitiría la extravasación de espermatozoides o de sus productos, lo cual conduciría a la inducción de una respuesta autoinmune al facilitarse el contacto entre células inmunocompetentes y antígenos espermáticos (21,134,184). Se ha considerado la posibilidad de que participen los siguientes factores en la alteración de la barrera hematotesticular (fig 4):

- a) Destrucción de tejido testicular por traumatismo accidental o quirúrgico.
- b) Oclusión de las vías de la reproducción.
- c) Infección del testículo o glándulas accesorias.

En referencia al primer punto, en los humanos se ha demostrado que este tipo de lesiones producen orquitis autoinmune (21,134,253,154,148); la oclusión de las vías reproductoras se asocia con una resorción de antígenos espermáticos provocada por la presión interna de los conductos (21,37,184,253,318); respecto a las infecciones se ha reportado una mayor incidencia de anticuerpos antispermatozoide en varones que sufren de infecciones del tracto genital o con antecedentes de las mis-

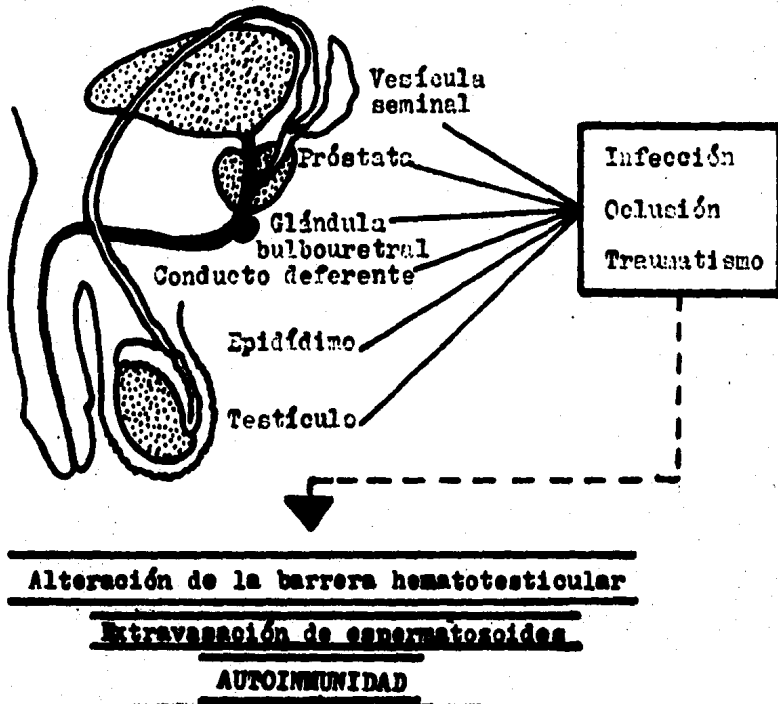


FIGURA Nº 4. Factores involucrados en la alteración de la barrera hematotesticular del varón y la consecuente inducción de autoinmunidad contra espermatozoides (134).

mas (21,163,253); estas infecciones incluyen prostatitis, epididimitis, uretritis y prostatovesiculitis (85,90,91,92,298,318 - 390); no obstante, algunos investigadores no han podido observar una correlación entre el aislamiento del agente patógeno y la presencia de anticuerpos antiespermatozoide (133) o una diferencia significativa entre los porcentajes de aislamiento entre sujetos fértiles o estériles (61). Se asume que dichas infecciones pudieran proporcionar un efecto adyuvante (242), ocasionar resorción de espermatozoides al producir inflamación y obstrucción (133), inducir la migración de células inmunocompetentes hacia el tracto genital (390), conducir a la formación de anticuerpos que debido a una similitud antigénica entre los microorganismos inductores y los espermatozoides, reaccionen en forma cruzada con éstos últimos (242,327), o interferir con el cierre completo de los ductos prostáticos durante la eyaculación, resultando en un desbordamiento de espermatozoides hacia la próstata y la consecuente inducción de una respuesta autoinmune (390).

Tung y Fritz (369) han discutido la posibilidad de que la modulación de las interacciones entre linfocitos T inmaduros y las células de Sertoli (a través de un factor sérico), estén implicados en la prevención de reacciones autoinmunes contra antígenos testiculares y que ello funcione como un mecanismo coordinado o complementario a la protección atribuida a la barrera hematotesticular. En este mismo terreno, Jones (184) ha planteado la posibilidad de que ocurran fugas "fisiológicas" de antígenos espermatógenos pero sugiere que la autoinmunización contra espermatozoides esté prevenida probablemente por la inducción de tolerancia inmunológica derivada de la fuga de can-

tidades escasas de antígenos espermáticos, por activación de células supresoras inespecíficas T por los espermatozoides, o por un polimorfismo genético de la reacción inmunitaria.

Finalmente cabe mencionar que los estudios recientes realizados en varones homosexuales (239,388,389), parecen apoyar el concepto de protección brindada por la barrera hematotesticular (siendo además el más aceptado) ya que se ha observado que las prácticas coitales (por vía rectal y/u oral) de estos individuos (es decir, al margen de dicha protección) provocan la formación de anticuerpos antiespermatozoide, concomitantemente con una disfunción general de su sistema inmune.

2.- ORIGEN DE LA INMUNIDAD CONTRA ESPERMATOZOIDES EN LA MUJER.

Se sabe que el semen ejerce una acción quimiotáctica sobre macrófagos y neutrófilos (295), y que los espermatozoides sufren fagocitosis por las células antes mencionadas a nivel del útero (13). Asimismo se ha mencionado que la infiltración endometrial de leucocitos y células plasmáticas es aparentemente un fenómeno fisiológico premenstrual (158). En un sentido más amplio, se ha observado que el tracto genital de la mujer está dotado de elementos inmunológicos (tales como linfocitos, macrófagos y vasos linfáticos) potencialmente aptos de desencadenar una respuesta inmunológica local y/o sistémica (13,14,21,49, 246); por lo general un estímulo antigénico en la mucosa genital provocará la formación de anticuerpos tanto locales como circulantes, pero en algunas circunstancias quizá el antígeno no llegue en cantidades inmunógenas, por lo que no ocurrirá una reacción general (184,246).

Los datos disponibles respecto a las diferentes regiones -- anatómicas del tracto genital femenino, permiten considerar que el mayor potencial inmunológico se encuentra en el cérvix mientras que el útero y oviductos manifiestan un bajo potencial inmunológico, y la vagina contribuye al mínimo (158,184,297,375). Tales consideraciones señalan al cérvix como el sitio más probable de confrontación entre los antígenos espermáticos y el sistema inmunológico de la mujer. En base a lo anterior y tomando en cuenta que la introducción de semen de un varón inmunogénicamente disímil en el tracto genital de la mujer representa una exposición a una carga relativamente extensa de antígenos espermáticos (21,158), surge la interrogante de por que son pocas -- las mujeres que desarrollan inmunidad contra dichos antígenos. Se han presentado varias explicaciones al respecto:

- Una fagocitosis extensa de espermatozoides en el tracto genital femenino pudiera degradarlos reduciendo su inmunogenicidad; cantidades insuficientes de antígenos resultarían en intolerancia en vez de inducir la producción de anticuerpos -- (17,158,253,270).

- La naturaleza no replicante de los espermatozoides (en -- contraste con la de los microorganismos)(58).

- Una "limpieza" del tracto genital por las secreciones del mismo reduciría el número de espermatozoides que gana acceso al sistema inmunológico.

- Una degradación de los antígenos espermáticos por enzimas extracelulares, sobre todo en el útero (184,191); esta hipótesis ha sido excluida a partir de resultados de inmunización experimental por vía intravaginal e intrauterina (20,295,395).

- Una fijación inespecífica de inmunoglobulinas (184) o con

ponentes del plasma seminal (183) enmascararía la inmunogenicidad de los antígenos intrínsecos del espermatozoide.

- La presencia de factores que modifiquen la reacción inmunitaria contra los espermatozoides (158,184,253).

En relación a este último punto, en años recientes ha adquirido importancia la actividad inmunosupresora de ciertas fracciones del plasma seminal de los varones, revelada en estudios de inmunidad celular "in vitro" (96,97,231,234,235,236,294,360) Dichas fracciones no han sido claramente definidas (294); se llegó a considerar como candidatos posibles a las prostaglandinas del grupo E y a ciertas poliaminas pero existe evidencia -- (P.M., estabilidad al calor, dependencia de suero bovino para desarrollar actividad inmunosupresora) de que no son responsables de la actividad descrita (295). De acuerdo a Prakash (295), la actividad inhibitoria del plasma seminal reside en una proteína fuertemente ácida (molécula o agregado) con P.M. por arriba de 100 000, en tanto que Lord (231) le adjudica un P.M. de 200 000. Esta proteína parece ser secretada por alguna de las glándulas accesorias y se absorbe sobre la superficie del espermatozoide junto con otros componentes seminales, interfiriendo en el reconocimiento antigénico y/o la capacidad de respuesta de las células inmunocompetentes. Se ha propuesto que un defecto cualitativo o cuantitativo de este inhibidor en el cónyuge masculino, inuido por herencia, resultaría en diversos grados de sensibilización en el cónyuge femenino; en aquellos casos en que la fase efectora de la respuesta inmune excediera cierto umbral cuantitativo se provocaría una esterilidad inmunológica en la mujer - (295)(fig. 5). A favor de esta hipótesis se ha descrito la inducción de respuesta que son capaces de producir los espermato-

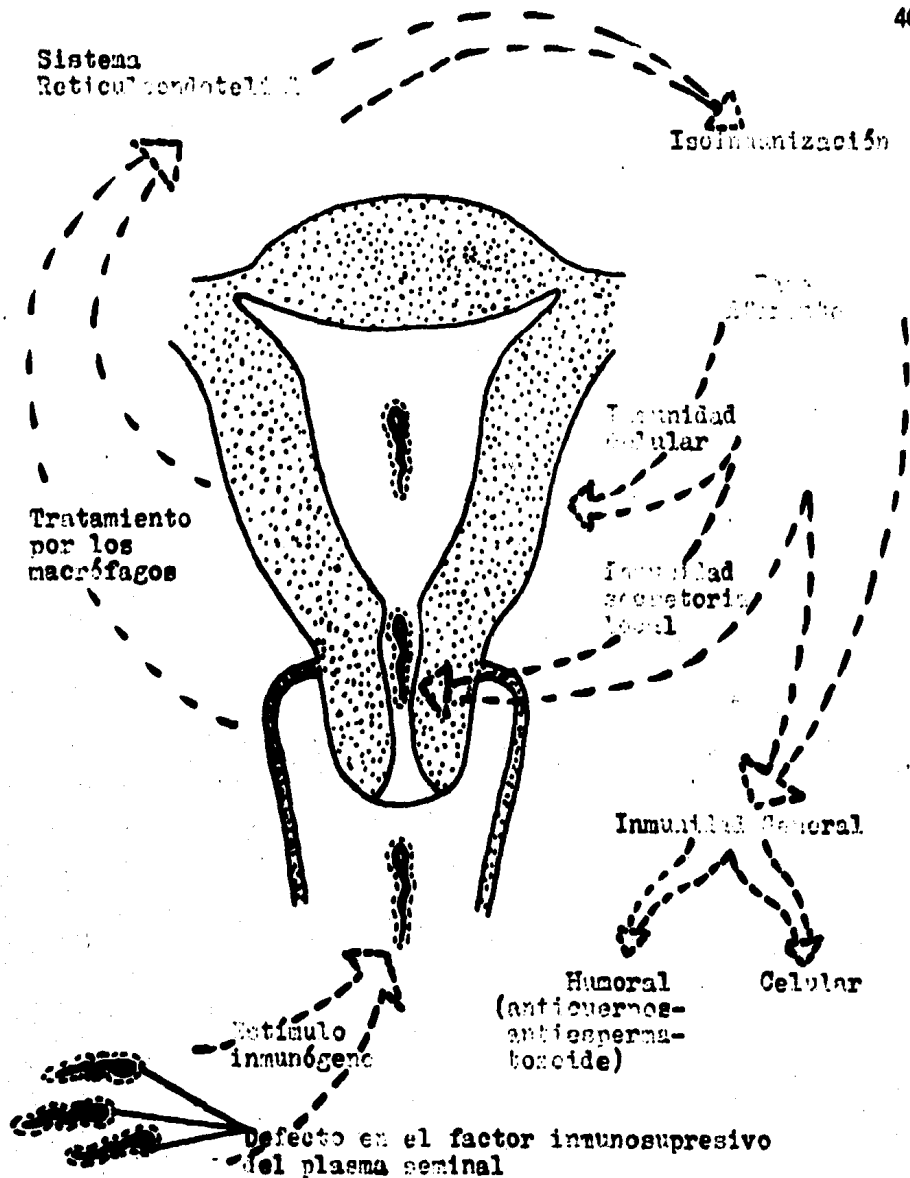


FIGURA NO 5. Mecanismo de autoimmunización en la mujer - propuesto por Prakash (205); involucra la alteración de un factor inmunosupresor del plasma seminal que en condiciones normales impediría una respuesta inmunológica contra los antígenos del espermatozoide.

zoides obtenidos de epidídimo (carecen de proteínas del plasma-seminal) cuando éstos son depositados en el tracto genital femenino (20).

Por otro lado, se ha sugerido que las infecciones o las lesiones epiteliales pudieran actuar como factores desencadenantes de reacciones locales, y subsecuentemente sistémicas contra los espermatozoides, actuando como coadyuvantes, modificadores de membrana o induciendo cambios de permeabilidad de la mucosa (74,158,184,186,253). De acuerdo a Ingerslev (157), se necesitan mayores investigaciones para definir la extensión de esta asociación.

3.- HLA Y ANTICUERPOS ANTIESPERMATOZOIDE.

Tomando en cuenta la sugerida asociación entre los antígenos HLA y los genes de respuesta inmune en varios padecimientos de autoinmunidad (considerados generalmente de tener una predisposición hereditaria), se ha empezado a indagar este aspecto en los individuos con esterilidad inmunológica (189,279,359).

Algunos reportes han encontrado una frecuencia significativamente mayor de antígenos HLA-BW35 en pacientes azoospermicos o parejas con esterilidad inexplicada (189); Mathur hace mención asimismo, de otras asociaciones, por ejemplo entre antígenos HLA-E735 y abortos habituales o esterilidad, entre antígenos HLA-B7 y HLA-B8 con desórdenes autoinmunes, o entre HLA-A28 y HLA-B40 con desórdenes idiopáticos de la espermatogénesis -- (201,247). Desafortunadamente en estos casos no ha sido valorada, o lo ha sido inadecuadamente, la presencia concomitante de

anticuerpos antiespermatozoide. El mismo Mathur y col, encontraron una asociación significativa entre la presencia de antígenos HLA-BW7 y HLA-BW35 y la de anticuerpos antiespermatozoide en parejas estériles, a partir de lo cual sugieren una desventaja selectiva de estos antígenos en relación a la reproducción humana (247,248).

4.- INTERFERENCIA CON EL PROCESO DE FERTILIZACION.

Las pruebas de que la inmunidad contra espermatozoides puede causar esterilidad requieren, obviamente, la demostración de que los anticuerpos antiespermatozoide están presentes no sólo en el suero sino también en las secreciones del tracto reproductivo (por trasudación y/o producción local) del hombre y/o la mujer. Se han descrito diversas formas en que los anticuerpos antiespermatozoide actuarían a este nivel, interfiriendo con el proceso reproductivo:

- A) Por interferencia autoinmune sobre la espermatogénesis normal.
- B) Por reducción del potencial migratorio de los espermatozoides en el tracto genital de la mujer.
- C) Por alteración de las interacciones entre el espermatozoide y el óvulo.

A) Interferencia autoinmune sobre la espermatogénesis normal.

Pese a que la respuesta autoinmune, en el varón, se manifiesta por lo regular, por la formación de anticuerpos antiespermatozoide, sin lesión testicular (133,253), los estudios con animales de experimentación, inmunizados con preparaciones espermáticas o testiculares, han demostrado este tipo de interferencia (378), por lo cual se ha sugerido que opere un mecanismo similar en algunos pacientes estériles oligospermicos y azoospermicos que presentan resultados positivos de inmunidad contra espermatozoides (21,73). Alexander y Fulgham (5) consideran que los anticuerpos antiespermatozoide pudieran franquear la barrera hematotesticular y afectar directamente la producción de espermatozoides, con la participación conjunta del sistema inmune celular; constituyen ejemplos clínicos en apoyo de esta hipótesis: la presencia de complejos inmunes en la lámina basal que rodea los túbulos seminíferos de algunos varones estériles: (64,184), la detección de autoanticuerpos en cortes testiculares de varones estériles y la infiltración celular en los túbulos seminíferos (141,267). También se considera que los anticuerpos antiespermatozoide pudieran entrar al tracto reproductor masculino a través del epidídimo o red testicular, ya que estos sitios se consideran puntos débiles de la barrera hematotesticular (5,184,318). En favor de esta observación esta el frecuente hallazgo de espermatozoides rotos y aglutinados en el lumen del epidídimo, en monos vasectomizados que presentan anticuerpos antiespermatozoides circulantes (4).

B) Reducción del potencial migratorio de los espermatozoides en el tracto genital de la mujer.

Esta categoría comprende la mayoría de las investigaciones clínicas existentes de inmunidad contra espermatozoides, y está relacionada con la pérdida de la movilidad progresiva de éstos, por las siguientes causas:

Acción nociva directa sobre los espermatozoides.

Este efecto está mediado por anticuerpos antiespermatozoide fijadores de complemento, que al ser activado ocasiona daños o citotóxicos a los espermatozoides. Se piensa que la fuente de complemento "in vivo" sea el moco cervical de la mujer; aparentemente comprende toda la cascada del complemento y se estima que corresponde a un 11.5% del nivel sérico (296). Algunos autores han objetado que se verifiquen efectos citotóxicos sobre los espermatozoides "in vivo", tomando en cuenta que se han descrito factores anticomplementarios en el plasma seminal del varón -- (151,202). No obstante, a favor del citado efecto citotóxico se encuentran las observaciones clínicas que han revelado que la presencia de anticuerpos inmovilizantes en el moco cervical, -- afecta la penetración y sobrevivencia de los espermatozoides -- (363,393), así como la correlación entre dicha presencia y pruebas poscoitales anormales (42,240,265,345). Cabe mencionar además que también se han descrito componentes del complemento en el plasma seminal (15,302,302,350,352) y que dicho plasma seminal no penetra el moco cervical sino sólo los espermatozoides -- (265).

Interacción anormal entre espermatozoides y moco cervical.

Se piensa que una interacción anormal que redunde en una -- inadecuada penetración en el moco cervical, sea particularmente

importante en relación a la migración de los espermatozoides -- (88,121,139,265). Al respecto se han propuesto varias hipótesis

- Reacción cruzada entre espermatozoides y moco cervical -- (158). Debido a que los anticuerpos son bi o multivalentes, una reacción cruzada pudiera conducir a una unión entre los espermatozoides y el moco. Esta hipótesis, sin embargo, no es muy probable ya que la incorporación de clara de huevo (en vez de moco cervical) en pruebas de penetración en que se utilizaron espermatozoides recubiertos de anticuerpos antiespermatozoide, reveló una reducción -- similar de la capacidad de penetración de los espermatozoides (147); de acuerdo a la hipótesis planteada la observación anterior derivaría que la clara de huevo debería contener las mismas especificidades antigénicas que -- los espermatozoides y el moco cervical, lo cual es difícil de aceptar.

- Alteración de la carga eléctrica de los espermatozoides. - (161). En condiciones fisiológicas tanto los espermatozoides como las micelas glucoproteicas del moco parecen tener una nube superficial de carga eléctrica negativa (113 377), sin embargo la unión de los anticuerpos a la superficie de los espermatozoides pudiera neutralizar la carga negativa o incluso inducir una carga positiva, causando -- una unión electrostática de los espermatozoides con la -- carga negativa del moco cervical.

- Efecto mecánico (158). Al unirse los anticuerpos al espermatozoide pudieran hacer más áspera su superficie, incrementando la resistencia mecánica hacia el paso del esper-

matozoide en el moco cervical. Esta hipótesis sin embargo no es muy probable ya que el diámetro de las redes glucoproteicas del moco cervical es, de acuerdo a las evaluaciones de microscopía electrónica, de unas 20-25 micras (356), mientras que el diámetro de los espermatozoides es de sólo 2-3 micras.

- Bloqueo de enzimas de penetración (23). Esta hipótesis se relaciona con el bloqueo de la liberación de enzimas del acrosoma (porción citoplásmica de la cabeza del espermatozoide) que son importantes para la penetración del moco cervical. Aunque pudiera esperarse este efecto de aquellos anticuerpos que reaccionan con la cabeza del espermatozoide, no explicaría por que aquéllos que reaccionan con la cola del mismo, también inducen la unión de los espermatozoides al moco cervical.
- Unión de la porción Fc de los anticuerpos antiespermatozoide (adheridos a la superficie del mismo) con la red glucoproteica del moco cervical (207,209). Kremer y Jager han propuesto que los espermatozoides recubiertos con anticuerpos, pierden su capacidad de desplazamiento debido a la unión de la porción Fc de dichos anticuerpos a los cordones del moco cervical; su movimiento progresivo se transforma entonces en un movimiento vibratorio local (shakin') (207,209). El estudio posterior de Jager y colaboradores ha brindado apoyo experimental a esta hipótesis ya que al utilizar espermatozoides recubiertos de anticuerpos antiespermatozoide que carecían de la porción Fc, en pruebas de contacto entre espermatozoides y moco cervi

cal, se observó un número significativamente menor de espermatozoides que presentaban el fenómeno de vibración -- en comparación a cuando se utilizaban anticuerpos intactos (171).

C) Alteración de las interacciones entre el espermatozoide y el óvulo.

Esta posibilidad ha surgido al considerar que en algunos casos las reacciones entre los espermatozoides y los anticuerpos pudieran no manifestarse como defectos funcionales sino hasta la fase final del proceso de fertilización (184). Al respecto, Yanagimachi y colaboradores (394) han señalado que los anticuerpos antiespermatozoide pueden reaccionar con moléculas receptoras o sitios aledaños de regiones especializadas de la membrana del espermatozoide, y alterar reacciones que desempeñan papeles cruciales en la fertilización tales como: penetración del cumulus oophorus (células de granulosa que rodean al óvulo), unión y penetración de la zona pelúcida del óvulo (40), o fusión de membranas (139). Mediante estudios de fertilización "in vitro" se ha observado que, efectivamente, los anticuerpos antiespermatozoide pueden alterar la unión del espermatozoide a la zona pelúcida (41,66,251,276,394) y la penetración del óvulo (7,40,--308) y consecuentemente el proceso de fecundación.

5.- TIPO DE ANTICUERPOS ANTIESPERMATOZOIDE Y POSIBLE DIVERGEN-- CIA DE ESTADOS INMUNOLOGICOS (LOCAL VS. SISTEMICO).

a) En el varón.

Se ha aceptado que los anticuerpos antiespermatozoide presentes en el semen, se derivan de los anticuerpos antiespermatozoide circulantes (séricos), y que su aparición en el semen eyaculado se explique mediante un proceso de trasudación a través de la próstata (317,351,374), siendo fundamentalmente de tipo -IgG y en menor grado IgA, pero no IgM ya que esta última no trasudaría a pesar de encontrarse en el suero (317). No obstante, dicha postura inicial se ha visto ampliada en cuanto a la posibilidad de una producción de anticuerpos antiespermatozoide a nivel local, y en cuanto al posible hallazgo de anticuerpos de tipo IgM en el semen.

En relación al primer punto, se han encontrado pacientes en los que no se detectan anticuerpos antiespermatozoide en el suero pero sí en el semen, en particular de tipo IgA que en algunos casos ha sido caracterizada como de tipo secretor (IgA dimerica 11S, a diferencia de la monomérica 7S del suero) (303,374) Witkin y Beer (385) mencionan además que en algunos casos los títulos de anticuerpos antiespermatozoide son mayores en el semen que en el suero, o que los anticuerpos del plasma seminal son del tipo IgA mientras que los del suero son del tipo IgG e IgM (21).

Aunque algunos investigadores han apreciado una correlación positiva entre los títulos séricos y la presencia de espermatozoides aglutinados o perezosos en el semen (87,102,183,184,253) las observaciones anteriores han revelado que los títulos de an

ticuerpos antiespermatozoide del suero no siempre están correlacionados con los títulos en el semen (5,104,120) y han sugerido una posible producción local de anticuerpos antiespermatozoide, independientemente de su posible trasudación. Esta sugerencia - ha encontrado apoyo en varios reportes de producción local de - anticuerpos antiespermatozoide de tipo IgA (347,374,390) o IgG (en menor grado) (120,172,173) así como por el reporte de la - presencia de células plasmáticas en la próstata (385). También - ha encontrado apoyo en un estudio en el cual la mayor parte de los anticuerpos del fluido seminal se perdieron después de añadirle anticuerpos contra componente secretor, el cual como sabemos se une a las IgA dimericas presentes en las secreciones seromucosas (105,312).

En relación al segundo punto, la mayoría de los reportes -- apoyan la postura inicial de que los anticuerpos antiespermatozoide de tipo IgM no se encuentran en el semen (172,241,303); - no obstante su posible presencia, aunque rara, no debe descartarse totalmente, ya que en algunos casos sí se han detectado en - el semen (15,211,397). Zanchetta (397) considera que posibles - alteraciones en las estructuras próstato-vesiculares de algunos pacientes pudieran permitir su trasudación al plasma seminal y explicar así su presencia.

b) En la mujer.

Las clases de anticuerpos antiespermatozoide presentes en - el suero de mujeres estériles pertenecen principalmente al tipo IgG e IgM (36,106) y muy raramente al tipo IgA (154,159). En el tracto genital las IgA de tipo secretor son un tipo común de anticuerpos antiespermatozoide junto con las de tipo IgG (253); -

los de tipo IgM muy raramente están presentes (21).

La comparable inaccesibilidad de las secreciones de la parte superior del tracto reproductor femenino explican en buena medida, la gran escasez de investigaciones sobre la presencia de anticuerpos antiespermatozoide en dichos lugares, a diferencia del moco cervical que ha recibido máxima atención. Entre aquéllas se ha reportado la detección de anticuerpos antiespermatozoide en líquido de oviductos (290) y en el líquido folicular (158), aunque tomando en cuenta el bajo potencial inmunológico de las diversas regiones anatómicas del tracto reproductor femenino (excepto el cérvix) es muy probable que dichos anticuerpos tengan una contribución sistémica, más que local, mediante trasudación.

A partir de estudios comparativos de la frecuencia de anticuerpos antiespermatozoide en el suero y moco cervical de mujeres estériles, Menge (253) ha derivado la observación de que los títulos del suero no reflejan obligadamente los títulos del moco cervical, así como el que los anticuerpos pueden surgir localmente (77,265,349), lo que pone de relieve la posibilidad de una divergencia entre los estados inmunológicos sistémico y local.

A este último respecto debe tomarse en cuenta que la entrada variable de anticuerpos antiespermatozoide circulantes a las secreciones del tracto reproductor femenino o masculino mediante trasudación, unido a la posibilidad de una producción y secreción local significativa, conduce a posibles divergencias entre los estados inmunológicos local y sistémico (43). De este modo, la interpretación clínica de las pruebas para detección de anticuerpos antiespermatozoide, utilizando muestras de suero

únicamente, queda comprometida por el hecho de que títulos positivos en el suero no aseguran necesariamente su presencia a nivel del tracto reproductor (87), ni tampoco la esterilidad del paciente (289). Esto no significa, sin embargo, que la inmunidad contra espermatozoides no tenga relevancia respecto a la -- condición de esterilidad del paciente sino que recalca la necesidad de que las pruebas para la detección de anticuerpos anti-espermatozoide sean enfocadas a muestras representativas del estado inmunológico a nivel del tracto reproductor (por ejemplo - plasma seminal y moco cervical) donde la participación de dicha inmunidad se hace relevante (43,237); dicho enfoque permitirá -- seguramente, tener un cuadro general más claro sobre el papel -- del factor inmune en la esterilidad.

6.- ANTICUERPOS DE TIPO IgE.

A la fecha no se ha llevado a cabo ningún estudio sistemático del papel de los anticuerpos reagínicos en la esterilidad -- causada por inmunidad contra espermatozoides (244). Se han descrito varios estudios de hipersensibilidad en mujeres en contra del fluido seminal desde el reporte inicial de Halpern (22,99,-127,218,262,328). Excepto por dos reportes de reacción localizada bien documentados (22,50), la mayoría han estado concernidos a síntomas sistémicos mediados por anticuerpos IgE; estos síntomas se presentaron poco después del acto sexual. El hecho de -- que algunas pacientes experimentaron los síntomas en su primer coito deriva la posibilidad de una sensibilización causada por exposición previa a otros antígenos que reaccionan en forma cruzada con el (los) antígeno (s) del plasma seminal (22). La inci

dencia exacta de estas reacciones es desconocida, pudieran ser más comunes de lo formalmente apreciado, especialmente las reacciones localizadas, las cuales pudieran ser subestimadas por su similitud con otras condiciones inflamatorias pélvicas en la mujer. Sin embargo, en estas reacciones de hipersensibilidad el antígeno participante parece diferir de los que tienen importancia en la esterilidad inmunológica (184), ya que se piensa que en aquéllas el agente causal sea una proteína del plasma seminal y de origen prostático (218), mientras que en esta última lo son los antígenos intrínsecos del espermatozoide. Lo anterior, unido a la observación de que la casi totalidad de las pacientes estudiadas han pertenecido a familias con predisposición genética a las alergias (22), indicaría que estas reacciones de hipersensibilidad pertenecen más bien a otro tipo de eventos inmunológicos.

Tomando la premisa de que la IgE se considera mediadora de las reacciones anafilácticas mencionadas, se ha buscado información sobre la posible relación entre la presencia de inmunidad contra espermatozoides y los niveles de IgE en pacientes estériles, pese a la divergencia arriba enunciada. Friberg (107) no encontró correlación entre los títulos de anticuerpos antiespermatozoide y los niveles de IgE en el suero y plasma seminal de varones estériles, mientras que Mathur y colaboradores reportan niveles superiores de IgE en el suero y secreciones (plasma seminal o moco cervical) de varones o mujeres estériles que presentan inmunidad contra espermatozoides, en comparación con los de individuos estériles (por causas no inmunológicas) o fértiles (244). De este modo resulta evidente que se necesita mayor investigación para desechar o apoyar la asociación entre inmu-

dad contra espermatozoides y niveles de IgE, así como su posible significado.

IV. METODOS .

1.- GENERALIDADES.

Se ha empleado una variedad muy extensa de pruebas para valorar la inmunidad contra espermatozoides, lo cual pone de manifiesto la preocupación general sobre la validez e interpretación de muchas de las pruebas (130,272).

El pesimismo relacionado en torno a la reproducibilidad, comparabilidad e importancia clínica de las técnicas utilizadas condicionada en buena parte por las frecuentes modificaciones metodológicas introducidas por diversos investigadores (259), ha originado una insistencia evolutiva mayor sobre el desarrollo y aplicación de las mismas, y ha abierto la necesidad de su estandarización. A este respecto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) patrocinó un programa en el que colaboraron diversos laboratorios especialistas en la materia, con el objeto de mejorar y estandarizar algunas de las técnicas disponibles (técnicas de aglutinación, técnicas dependientes de complemento, técnicas de inmunofluorescencia, prueba de penetración de los espermatozoides en el moco cervical, y pruebas para la detección de inmunidad mediada por células)(313). El análisis comparativo de los resultados obtenidos por los diferentes laboratorios ha mostrado que algunas de ellas son confiables y reproducibles, y que los factores más significativos que determinan el grado de correlación entre los ensayos son la utilización de buenos controles y una atención meticulosa a la técnica por el laboratorio que la realiza (28,32).

Algunos puntos claves derivados del citado análisis comparativo son los siguientes:

a) Se notó relativamente poca diferencia en los resultados de las pruebas cuando se utilizó esperma de buena calidad, aún de diferentes donadores.

b) Las pruebas de aglutinación en gelatina, aglutinación en microconcauidades, inmovilización y citotoxicidad fueron todas altamente reproducibles y confiables si se llevaban a cabo apropiadamente.

c) Todos los sueros con actividad inmovilizante y citotóxica contenían también actividad aglutinante.

d) Mientras que todos los sueros con actividad citotóxica eran también inmovilizantes, lo inverse no siempre era cierto.

e) Los resultados sugieren que las pruebas de aglutinación en gelatina y en microconcauidades fueron más sensibles que la prueba de inmovilización, la cual fué ligeramente más sensible que la de citotoxicidad.

f) La técnica de aglutinación en microconcauidades detectó todos los sueros positivos que eran detectados por alguna de las otras técnicas.

g) Los anticuerpos en el suero de varones eran fundamentalmente aglutininas cola-cola, mientras que los de las mujeres eran aglutininas cabeza-cabeza (los espermatozoides eran aglutinados por el suero de la manera mencionada).

h) En las pruebas de inmunofluorescencia indirecta, se encontraron amplias diferencias en los resultados obtenidos con muchos de los sueros entre los diferentes laboratorios.

i) La absorción apropiada de los sueros confirmó que la especificidad de los anticuerpos detectados es en contra de compo

nentes intrínsecos del espermatozoide y no contra antígenos de recubrimiento derivados del plasma seminal.

Más recientemente se han sumado a los procedimientos clásicos, otros como los de radioinmunoanálisis, ELISA, inhibición de adherencia de leucocitos, aglutinación mixta, etc. (métodos no tradicionales). Algunos de ellos, por ejemplo radioinmunoanálisis y ELISA, intentan solventar el problema inherente de la interpretación visual, un tanto subjetiva, de los puntos finales de titulación en muchos de los métodos (144); la valoración y aplicabilidad de estos métodos queda aún por ser determinada.

A continuación se hace una descripción somera de los diversos métodos utilizados en la detección de inmunidad contra espermatozoides. Al final del capítulo se incluye un apéndice conteniendo la descripción metodológica de las pruebas de: inmovilización de espermatozoides, contacto entre espermatozoides y moco cervical, así como una técnica de procesamiento previo del moco cervical para la detección de anticuerpos antiespermatozoide.

2.- METODOS PARA VALORAR INMUNIDAD HUMORAL.

A) Métodos de aglutinación.

Muchos estudios de esterilidad inmunológica han estado basados en métodos de aglutinación, ya que ésta constituye una demostración sensible y tradicional de la interacción entre antígenos particulados y anticuerpos, en este caso, espermatozoides y anticuerpos antiespermatozoide (fig. 6). Sin embargo, se ha cuestionado la especificidad de estos métodos, ya que se ha observado que la aglutinación de los espermatozoides es producida en algunos casos, por factores no específicos tales como: ageni-



FIGURA N° 6. Unión de anticuerpos antiespermatozoide con sitios antigénicos de espermatozoides individuales, ocasionando su aglutinación. Este tipo de reacción es detectada en las pruebas de aglutinación en gelatina, tubo-por-taobjetos y en microconcauidades (21).

tes bacterianos (361) y virales (241,313), o de tipo esteroide (33).

Como no se cuenta con evidencias serológicas de que participen los sistemas antigénicos HLA o ABO en la esterilidad inmunitaria, se puede emplear esperma de donador de buena calidad, - como fuente de antígenos en las pruebas de anticuerpos anti-spermatosoides.

a) Prueba de aglutinación en gelatina.

La técnica original fué descrita por Kibrick (196). Esta prueba ha sido una de las más utilizadas (93); su inconveniente como el de las demás pruebas de aglutinación es la aglutinación no específica de espermatozoides (241,365,397), aunque tomando en cuenta que las beta-espermaglutininas que interfieren en las pruebas de microaglutinación no interfieren en esta prueba, sería de mayor importancia la participación de otro tipo de factores (28,89). Por lo tanto, la prueba requiere control e interpretación cuidadosas bajo condiciones uniformes de laboratorio (184).

En esta prueba se usan volúmenes moderadamente grandes de reactivos. Para efectuarla se suspenden espermatozoides móviles en un medio de gelatina y se añade el suero o el líquido bajo estudio (plasma seminal o moco cervical) en diluciones seriadas (1:2, 1:4, etc.) a tubos de ensayo pequeños que contienen las suspensiones de espermatozoides. Se incuba y se evalúa a simple vista si hay aglutinación o no; en caso de que la haya se considera positiva la muestra; correspondiendo el título de la misma a la dilución más alta en que se observe aglutinación de espermatozoides.

Este método se ha empleado con amplitud para investigar varones estériles, pero ha sido limitado su uso en mujeres debido a que la aglutinación de espermatozoides cabeza-cabeza, que parece ser mediada más a menudo por anticuerpos desarrollados en la mujer, no se descubren fácilmente por esta prueba.

b) Prueba de aglutinación tubo-portaobjetos.

Originalmente descrita por Franklin y Dukes (100). Esta -- prueba consiste en la incubación de una mezcla de espermatozoides y material de prueba en diluciones seriadas en un tubo, -- del que se extrae una alícuota y se coloca en un portaobjetos -- para observación al microscopio. Descubre principalmente la -- aglutinación cabeza-cabeza, y en menor grado la aglutinación cola-cola, ya que al parecer este tipo de aglutinados son destruidos durante la transferencia de las alícuotas al portaobjetos -- mediante pipeteo (32,313).

Ha sido cuestionada su especificidad debido a la interferencia de factores de aglutinación no inmunitarios (11,341) que repercuten en resultados falsos positivos (241) y consecuentemente en una pobre correlación con el estado clínico del paciente (155,163,165,181,257). En este caso la interferencia ha sido atribuida a la presencia de beta-espermaaglutininas en el suero -- (106), que ocasionen pequeños aglutinados inespecíficos cabeza-cabeza (32). A diferencia de la aceptable reproducibilidad de -- las otras pruebas de aglutinación, se ha mencionado también la poca reproducibilidad de esta prueba (28,32,254,288), lo que le confiere una posición desventajosa respecto de aquéllas.

c) Prueba de aglutinación en microconcauidades.

Originalmente fué descrita por Friberg (102). En este método, que viene a ser una modificación de la prueba tubo-portaobjetos, se colocan microlitros de reactivos (suspensión de espermatozoides, material de prueba en diluciones seriadas) en las concavidades llenas de aceite, de placas de tipificación celular; se incuba y se efectua observación con un microscopio invertido, respecto al grado y tipo de aglutinación (fig. 7).

Este método se ha utilizado cada vez más porque necesita cantidades ínfimas de reactivos, es adecuado para el examen de muchos especímenes y permite observar el tipo de aglutinación (313); además detecta todos los anticuerpos susceptibles de ser detectados por las pruebas de aglutinación en gelatina, tubo-portaobjetos e inmovilización (253). Una desventaja de esta prueba, es la posible interferencia por factores no inmunoglobulínicos que han sido denominados beta-espermaglutininas (33), a las cuales nos referiremos a continuación.

d) Naturaleza de las beta-espermaglutininas.

El sometimiento a electroforesis de algunos sueros de mujeres, reveló que la aglutinación de espermatozoides cabeza-cabeza no siempre se debía a anticuerpos antiespermatozoide sino que en ciertos casos se debía a un factor con movilidad beta y de alto peso molecular (33). Los resultados de estudios de adición de antisueros contra inmunoglobulinas o de inmunoespecificidad permitieron considerar que este factor no era una inmunoglobulina (31).

Por estudios de diálisis y ultrafiltración se sugirió la participación de un compuesto de bajo peso molecular en la aglu

Grado de aglutinación

1	2	3	4
Aislada	Moderada	Extensa	Gruesa
10 spz/ aglut.	10-50spz/ aglut.	50spz/ aglut.	Todos los spz

Partes involucradas

A. Cabeza-cabeza

B. Cola-cola

C. Punta de cola-
punta de colaD. Mixta (cabeza-
cabeza y cola-
cola)

E. En red



spz/aglut. = espermatozoides por aglutinado.

FIGURA Nº 7. En las pruebas de aglutinación tubo-portaobjetos y en microconcavidades se hace una evaluación, mediante observación al microscopio, del grado y tipo de aglutinación producido por los anticuerpos antispermatozoide; los anticuerpos desarrollados en la mujer producen más a menudo aglutinación cabeza-cabeza y los del varón, aglutinación cola-cola (313).

tinación inespecífica de espermatozoides (34) ya que dichos procesos ocasionaban una disminución en los títulos aglutinantes - de los sueros. Esta observación y hallazgos anteriores respecto a una incrementada frecuencia de sueros aglutinantes entre mujeres preñadas y mujeres que tomaban anticonceptivos orales (30) derivaron el concepto de que un componente de bajo peso molecular (una hormona esteroide) formara parte de dicho factor aglutinante (31). Estudios de adición de esteroides apoyaron este concepto al inducir o aumentar la actividad aglutinante de los sueros probados (26,35).

Por otro lado, Boettcher y colaboradores observaron que la adición de antisuero contra beta-lipoproteína, a sueros que contenían beta-espermaglutininas reducía su actividad aglutinante, y que las fracciones que contenían dicho factor (obtenidas por cromatografía e intercambio iónico) contenían proteínas tales - como albúmina y lipoproteína (36).

Conjuntando ambas fuentes de información se ha indicado que la beta-espermaglutinina pudiera ser un complejo esteroide beta lipoproteína (27), concepto bastante extendido. Existen algunos reportes, sin embargo, que no corroboran esta idea; por ejemplo Ingerslev no observó disminución en la actividad beta-espermaglutinante después de realizar diálisis y ultrafiltración (106) ni tampoco pudo inducir actividad aglutinante mediante la adición de progesterona a los sueros, usando concentraciones similares -no fisiológicas- a las utilizadas por Boettcher (26). -- Asimismo algunos estudios de ultracentrifugación han revelado - que la beta-espermaglutinina no flota a la misma densidad que - las beta-lipoproteínas, y que la separación de beta-lipoproteína de los sueros, por diversos métodos no eliminó la actividad

espermoaglutinante (34,106,193).

De acuerdo a Ingerslev, la naturaleza exacta de las beta-espermoaglutininas es debatible, y se necesita mayor investigación que permita establecerla (158).

Ingerslev y Hjort han descrito un procedimiento para remover estas beta-espermoaglutininas, mediante la utilización de sobrenadantes obtenidos tras la centrifugación de espermatozoides, el cual no afecta las reacciones de aglutinación mediadas por anticuerpos antiespermatozoide (155).

B) Métodos dependientes de complemento.

La interacción de moléculas de anticuerpo con antígenos de superficie del espermatozoide, activa el sistema de complemento resultando en un efecto nocivo sobre la permeabilidad e integridad de la membrana celular; el efecto último sobre el espermatozoide puede ser visualizado al microscopio como una pérdida de la movilidad (inmovilización) o por tinción con ciertos colorantes o marcadores (citotoxicidad). Estas características han sido utilizadas en pruebas clínicas para estudiar la presencia de anticuerpos antiespermatozoide en el suero y plasma seminal de varones estériles, y en el suero y secreción cervicovaginal de mujeres estériles (313). Las pruebas realizadas en sueros de hombres fértiles, de mujeres preñadas y mujeres nunca expuestas a antígenos seminales han dado resultados negativos (fig. 8) -- (313).

a) Prueba de inmovilización de espermatozoides.

Se ha demostrado que la actividad inmovilizante se encuen--

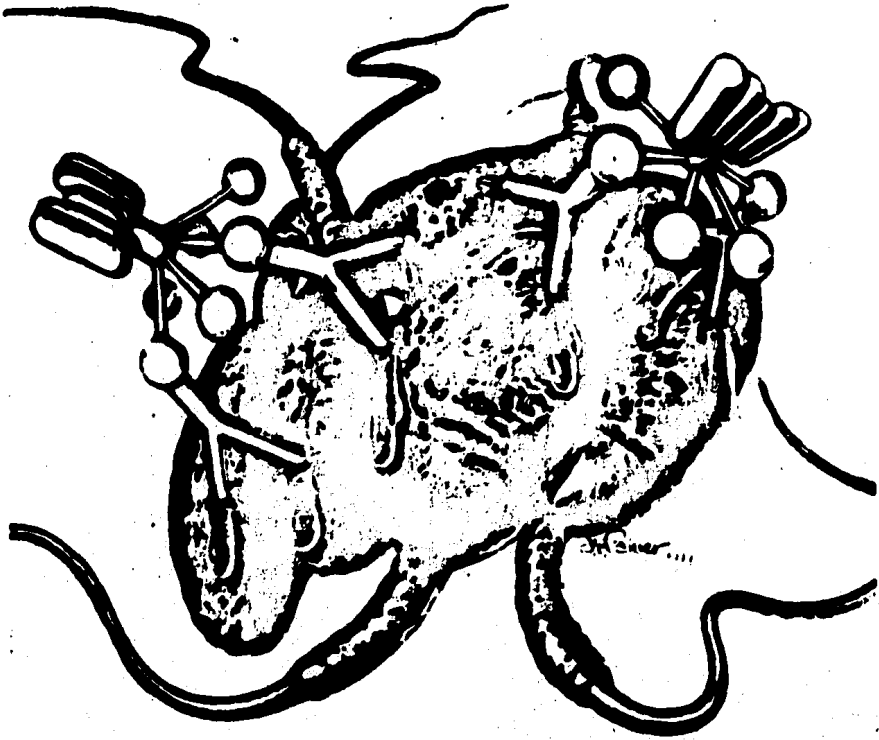


FIGURA Nº 8. Cuando los espermatozoides reaccionen con anticuerpos antiespermatozoide capaces de fijar complemento, ocurre eventual inmovilización o lisis de espermatozoides si se dispone de niveles adecuados del sistema de complemento. Este tipo de reacción es detectada en las pruebas de inmovilización y espermototoxicidad (21).

tra en las fracciones IgG e IgM. Los sueros con actividad inmovilizante suelen manifestar actividad aglutinante sobre los espermatozoides pero no se aplica siempre lo contrario (184).

Los espermatozoides que se emplean en las pruebas de inmovilización tienen que obtenerse recientemente de un líquido eyaculado de alta calidad; se incuban con el material de prueba (en diluciones seriadas), añadiéndole complemento exógeno. Después de transcurrido cierto tiempo, se transfiere una alícuota de la muestra a un portaobjetos para observación al microscopio, registrándose el porcentaje de espermatozoides móviles, y se compara con el porcentaje obtenido con un suero normal (sin anticuerpos antispermatozoide). Se considera positiva la muestra si el porcentaje obtenido de la muestra problema corresponde a menos del 50% del obtenido con el control (313); fuentes igualmente adecuadas de complemento parecen ser los sueros de seres humanos, cobayos y conejos pero debe verificarse de manera periódica su actividad así como el que carezcan de toxicidad no específica (272).

El método de inmovilización de espermatozoides, originalmente descrito por Isojima (167), parece proporcionar el medio más confiable y adecuado para la detección de anticuerpos antispermatozoide (132,184,254,257), ya que los resultados obtenidos -- han mostrado una buena correlación con el estado clínico del paciente (158,288); también existe una variante micro propuesta por Husted y Hjort (151).

b) Prueba de espermotoxicidad.

Como se mencionó anteriormente, esta prueba es también dependiente de complemento y constituye una extensión del punto -

final de la prueba de inmovilización de espermatozoides; esta extensión se da a través de la adición de alguna sustancia que se incorpora en el interior de los espermatozoides dañados por el sistema de complemento (activado por los anticuerpos antiespermatozoide). Generalmente las sustancias añadidas han sido colorantes como azul de tripano, eosina-nigrosina y diacetil -- fluoresceína (129,151,233). La actividad citotóxica del material de prueba se obtiene a partir del porcentaje de espermatozoides teñidos (muertos) y no teñidos (vivos) mediante observación al microscopio en comparación al porcentaje obtenido con un control normal; al igual que la de inmovilización esta prueba tiene una buena reproducibilidad (28).

Los títulos en pruebas de inmovilización son generalmente superiores, con un suero dado, que en las de citotoxicidad, indicando que las primeras son más sensibles (32), aunque parecen manifestar una menor sensibilidad que las pruebas de aglutinación (313).

Sung y colaboradores (353) informaron de un método de citotoxicidad basado en la incorporación de actinomicina D radioactiva, en el que la actividad citotóxica se da a través de un índice de incorporación del material radioactivo; el método sin embargo muestra una alta incorporación no específica (144). -- Otros autores que han empleado técnicas isotópicas son Brannen (38) y Noyes (281), pero sus ensayos se enfrentan también a problemas técnicos por lo que no han sido utilizados.

Otra variante de este método es el que correlaciona la disminución en los niveles de ATP en los espermatozoides con el grado de citotoxicidad producido por los anticuerpos antiespermatozoide, ya que las reacciones productoras de energía en los

espermatozoides cesan después de que han sido dañados por el -- sistema del complemento (223,368). La estimación de los niveles de ATP se hace a través de una reacción acoplada productora de energía luminosa que se cuantifica en un espectrofotómetro de centelleo. De acuerdo a Suominen (254), el método es más sensible que las variantes que utilizan colorantes y evita la subjetividad de los mismos, en tanto que Linnet (223) considera que pudiera ser adecuado en el trabajo clínico si se mejorara su -- sensibilidad, la que estima de ser menor a la de los métodos de inmovilización y aglutinación.

O) Métodos de inmunofluorescencia.

Se ha aplicado la técnica sensible de inmunofluorescencia -- indirecta para el estudio de anticuerpos antiespermatozoide -- (131,175,194,370). El método está constituido por tres etapas -- básicas: el substrato antigénico lo constituye una preparación de espermatozoides secada al aire y fijada en metanol, a continuación se expone la preparación sucesivamente al material de -- prueba y a un anticuerpo antiglobulina humana marcado de manera fluorescente; finalmente se observa en un microscopio de fluc-- rescencia para localizar la posible reacción entre el material de prueba y los espermatozoides. La ventaja de esta técnica es que revela el sitio antigénico del espermatozoide involucrado -- en la reacción aunque plantea una serie de dificultades; la -- principal parece ser la unión no específica de los conjugados -- fluorescentes a la membrana del espermatozoide, posiblemente a través de la porción Fc (28) hacia la cual el espermatozoide pa -- rece tener receptores (384), lo que ha ocasionado coloración de

fondo no específica y, consecuentemente amplias diferencias en los resultados, así como una muy pobre correlación con el estado clínico del paciente (32,120).

Se puede optimizar la especificidad de una manera razonable empleando preparados de anticuerpos $F(ab')_2$ (146) pero la complejidad de este criterio no es compatible con el empleo del método como prueba de investigación sistemática (184).

Una variante de esta técnica es la desarrollada por Kolk y Samuel (198,199), la cual implica el tratamiento de los espermatozoides con tripsina y ditiotretitol, lo que produce hinchamiento de la cabeza del espermatozoide, exponiendo el DNA y las proteínas nucleares. Esta variante ha permitido la detección de anticuerpos contra la protamina del núcleo del espermatozoide en varones estériles.

D) Métodos que utilizan simultáneamente material de prueba de ambos cónyuges.

Estos métodos constituyen pruebas cualitativas y como tales pudieran utilizarse, con las reservas del caso, en la detección de pacientes que presenten inmunidad contra espermatozoides; en todo caso debiera corroborarse el resultado mediante alguna de las pruebas cuantitativas mencionadas.

a) Prueba de contacto entre espermatozoides y moco cervical (SCMC).

Esta prueba fue ideada por Kremer y Jager (209) para demostrar la presencia de anticuerpos antiespermatozoide locales en cualquiera de los cónyuges. En esta prueba se mezclan gotas de semen del varón y moco cervical de su cónyuge sobre un portacub-

jetos, se cubren y se observan después de un tiempo al microscopio. La prueba positiva, que indica la presencia de anticuerpos en el semen y/o el moco cervical, se acompaña de la pérdida de desplazamiento de los espermatozoides que muestran en cambio un movimiento vibratorio local (shakin'). Este movimiento vibratorio está condicionado por la unión de los espermatozoides a las microfibras del moco cervical. Para dilucidar cual de los cónyuges posee los anticuerpos locales, se utiliza una variante cruzada en la que se emplea semen o moco cervical de donadores normales (98,208).

b) Prueba poscoital (Sims-Mühner) (PCT).

Constituye una espermatobioscopia funcional que permite evaluar la interacción entre los espermatozoides y el moco cervical "in vivo", especialmente en relación a la capacidad de penetración del espermatozoide y la receptividad del moco cervical hacia éste último (153). En su concepción clásica (265), los resultados anormales se han relacionado con hostilidad cervical sobre bases endocrinas o inflamatorias que afecten su pH, viscosidad, etc., o a deficiencias seminales (304,366). Más recientemente ha surgido una base inmunológica (la presencia de anticuerpos antiespermatozoide) para dicha hostilidad cervical; por lo que a un resultado anormal se le puede dar un enfoque inmunológico si el examen por separado del moco cervical y del semen revelan una buena calidad en sus parámetros clásicos (moco cervical: pH, cristalización, viscosidad, etc.; semen: cuenta de espermatozoides, motilidad, etc.) (98,208,398).

En esta prueba se obtienen muestras de moco cervical de la mujer, transcurrido cierto tiempo después de realizar el acto -

sexual con su cónyuge; las muestras son observadas al microscopio en cuanto al número y motilidad de espermatozoides por campo. Moghissi describe un cuadro de clasificación de los resultados de esta prueba (tabla III)(143).

En relación al tiempo transcurrido entre la realización del acto sexual y de la prueba, Tredway (366) observó al estudiar muestras a diferentes intervalos de tiempo, que una información óptima se obtenía dentro de las dos primeras horas y media posteriores al acto, a diferencia de las cuatro (153) o más (364) sugeridas por otros autores.

c) Prueba de penetración de los espermatozoides en el moco cervical (SCMP).

En un intento de obtener una correlación "in vitro" de la prueba poscoital, se diseñó un método que mide el grado de penetración de los espermatozoides en el moco cervical (contenido en un tubo capilar). Dicho grado de penetración se ve afectado por la presencia de anticuerpos antiespermatozoide en el semen y/o en el moco cervical; la medición del grado de penetración de los espermatozoides requiere de la utilización de un medidor especial (fig 9)(205). Una premisa indispensable del enfoque inmunológico de esta prueba, al igual que las dos anteriores, lo constituye la adecuada calidad tanto del moco cervical como del semen respecto a sus parámetros clásicos, permitiendo descartar la participación conjunta de otro tipo de factores (205).

Registro cervical	
Evaluación clínica	Puntuación
Cantidad:	
Ninguna	0
0.1 ml	1
0.2 ml	2
0,3 ml o más	3
Filantez:	
Ninguna	0
1-4 cm	1
5-8 cm	2
9 cm o más	3
Celularidad (objetivo seco - fuerte):	
11 o más	0
6-10	1
1-5	2
ocasional	3
Cristalización:	
Ninguna	0
Atípica (1+)	1
2+	2
3+ o 4+	3
Viscosidad:	
4+	0
3+	1
2+	2
1+	3
Registro postcoital	
# spz/campo	Puntuación
0	0 (negativo)
1-5	1 (pobre)
6-10	2 (regular)
11-15	3 (bueno)
16 o más	4 (excelente)
spz/campo = espermatozoides por campo (objetivo seco fuerte)	

TABLA III. EVALUACION DEL MOCO CERVICAL Y DE LA PRUEBA POSTCOITAL (265).

Para realizar la prueba postcoital debe evaluar se previamente la calidad del moco cervical; si la suma de las puntuaciones obtenidas para los diferentes parámetros (cantidad, filantez, etc) es ≥ 10 , el moco cervical es favorable para realizar la prueba postcoital. Si el examen seminal del varón fué también favorable, un registro de 0 (neg) o 1 (pobre) en la prueba postcoital sugiere la participación de factores inmunológicos en la esterilidad de esas parejas.

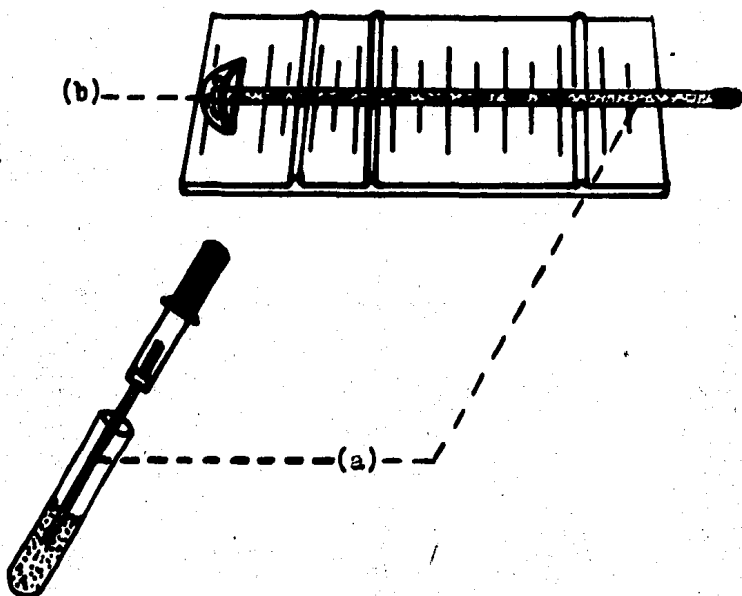


FIGURA No 9. Prueba de penetración de espermatozoides en el moco cervical. Se debe disponer de semen y moco cervical adecuados de la pareja en estudio; se rellena un capilar (a) con el moco cervical de la mujer, y la cámara (b) con el semen. Después de algún tiempo se mide el grado de penetración de los espermatozoides, el cual se ve afectado por la presencia de anticuerpos antiespermatozoide en el semen y/o el moco cervical (257).

E) Otras pruebas (métodos no tradicionales).

a) Prueba de aglutinación mixta (MAR).

Originalmente fué descrita por Jager (173); constituye una variante de la prueba directa de antiglobulinas, está enfocada a la detección de autoanticuerpos (provenientes del plasma seminal) adheridos sobre la superficie del espermatozoide. Utiliza eritrocitos sensibilizados con IgG o IgA, y los espermatozoides del varón en estudio; si éstos se encuentran recubiertos por anticuerpos antiespermatozoide, la posterior adición de suero antiglobulina humana provocará una reacción de aglutinación mixta (MAR)(207,140,143). Una limitante de la prueba, es la incapacidad de aplicarse a hombres con bajos conteos de espermatozoides; no obstante se ha observado una buena correlación de esta prueba y otras tales como las de inmovilización o aglutinación en gelatina (28,120,140).

b) Hemaglutinación pasiva.

Esta técnica ha tenido un uso limitado en el estudio de anticuerpos antiespermatozoide; se ha empleado plasma seminal humano (330) o extractos espermáticos (307) o ambos (241), como material recubridor de los eritrocitos. Si bien se han obtenido resultados satisfactorios con sueros heterólogos dirigidos contra antígenos espermáticos o seminales, los intentos para detectar anticuerpos antiespermatozoide en el hombre, han obtenido diversos grados de exactitud y éxito (241).

Mathur (140) utilizó un procedimiento combinado de hemaglutinación pasiva y la prueba de antiglobulinas, que mostró una buena correlación con los resultados de pruebas poscoitales y el análisis seminal de los pacientes, aludiendo que los títu--

los obtenidos no son influenciados por factores microbiológicos o detritus (140).

Las dificultades en la solubilización y aislamiento de antígenos espermáticos intrínsecos han retardado la aplicación significativa de esta técnica a estudios de auto e isoimmunización en el humano (313).

c) Radioinmunoanálisis (RIA).

Se ha utilizado también el radioinmunoanálisis en la investigación de anticuerpos antiespermatozoide predominantemente en su forma indirecta (en varones, aunque pudiera utilizarse también en mujeres) ya sea en fase sólida (123,243,384) o en fase líquida (28,117,120,140,144); y en menor grado en su forma directa (aplicable en varones únicamente)(120).

En su forma indirecta los espermatozoides son sometidos a un primer tratamiento con el material de prueba sin diluir y luego a un suero antiglobulina humana marcado radioactivamente (anti-IgG o anti-IgA); la positividad de la muestra se establece comparando la radioactividad incorporada a los espermatozoides con la muestra problema, con la de espermatozoides tratados con un suero control que no posee anticuerpos antiespermatozoide. Tanto en la fase sólida como en la fase líquida el tratamiento es similar, excepto que en la primera, los espermatozoides son fijados al fondo de placas de microtitulación, mientras que en la modificación de fase líquida los espermatozoides permanecen en suspensión.

La forma o prueba directa de radioinmunoanálisis ha venido a constituir una variante adicional, y se ha propuesto como alternativa para detectar los anticuerpos adheridos sobre la superficie de los espermatozoides del semen eyaculado (provenien-

tes del plasma seminal)(120). En ella los espermatozoides del paciente, después de ser lavados, son tratados directamente con el suero antiglobulina humana radiactivo (nótese que en la forma indirecta se utilizan espermatozoides de donador, los cuales se incuban con el material de prueba sospechoso, antes de la adición del suero antiglobulina), y se hacen las mediciones de radioactividad incorporada respecto a controles normales.

De acuerdo a como menciona Haas (120) pudiera ser una prueba complementaria a la determinación de anticuerpos antiespermatozoide en el plasma seminal, ya que ésta última se enfrenta a la problemática del bajo nivel de inmunoglobulinas presentes en el plasma seminal (en comparación con los niveles del suero) y la probable absorción de una buena parte de los anticuerpos sobre la superficie de los espermatozoides, lo cual pudiera condicionar un cierto nivel de resultados falsos negativos.

Los métodos de radioinmunoanálisis permiten hacer una evaluación más objetiva en la determinación de anticuerpos antiespermatozoide, que los sistemas tradicionalmente empleados, a la vez que la utilización de pequeños volúmenes de reactivos (184)

Aplicando la prueba indirecta en fase líquida, Hill (144) observó una mayor sensibilidad de la prueba, en comparación con las técnicas de aglutinación en gelatina y tubo-portsobjetos, y una buena reproducibilidad, aunque considera como una posible limitante, el costo de la preparación de la antiglobulina radiactiva (243).

d) Análisis inmunoensimático (ELISA).

La aplicabilidad de esta técnica ha empezado a extenderse hacia la detección de anticuerpos antiespermatozoide; para ello se han recubierto posos de microtitulación con espermatozoides

o extractos espermáticos, a los que se añade el material de prueba y, posteriormente un conjugado antiglobulina humana-enzima (peroxidasa o fosfatasa alcalina); finalmente se añade el sustrato adecuado que permite cuantificar los resultados mediante valoración colorimétrica (287,305,384,385,386,391,397).

Wolf (391) encontró que era comparable al RIA en sensibilidad y especificidad lo que, sumado a su objetividad y facilidad de operación, parece redituarle un futuro promisorio (385,397). Por su parte, Witkin y colaboradores (387) han aplicado el método para la detección de complejos inmunes circulantes en el suero de mujeres estériles, ya que consideran que su formación pudiera conducir a una subestimación de los niveles de anticuerpos antiespermatozoide.

e) Inmunolectroforesis.

Aunque este tipo de técnicas han sido utilizadas con bastante frecuencia en las investigaciones sobre antígenos seminales, su empleo en la práctica clínica ha sido muy escaso (114,259, - 313). Por ahora se ha descrito la posible interferencia por otras proteínas e inmunoglobulinas, y la falta de correlación con los resultados de otras pruebas (28,259), por lo que necesitan ser evaluados sistemáticamente para que su utilidad pueda ser determinada (256).

f) Anticuerpos en moco cervical.

El moco cervical se ha conservado un tanto ignorado para la investigación de la esterilidad inmunológica, sobre todo por dificultades para su obtención y por problemas de ejecución de --

las técnicas por su viscosidad característica (11).

En términos generales, el moco cervical puede obtenerse con mayor facilidad y más adecuadamente a la mitad del ciclo menstrual; con la finelidad específica de detectar los anticuerpos antiespermatozoide tiene menor importancia el tiempo de obtención ya que tiende a ocurrir una relación inversa entre la cantidad de moco cervical que se produce y su concentración de inmunoglobulinas.

Se han adoptado varias técnicas de preparación del moco cervical para la investigación de anticuerpos antiespermatozoide: la primera de ellas consiste en realizar una ultracentrifugación del moco para producir un sobrenadante, sin embargo esto tiende a excluir una gran proporción de anticuerpos, por lo que resulta inadecuado (206); otra técnica involucra la licuefacción del moco con bromelina (enzima proteolítica) y aunque en teoría sería totalmente aconsejable evitar el empleo de un agente de este tipo, este tratamiento no parece alterar los resultados de la medición de inmunoglobulinas o anticuerpos específicos (170,184,206,210,260); un tercer tratamiento consiste en realizar una extracción con un amortiguador fisiológico, seguida de centrifugación para producir un sobrenadante que contenga anticuerpos (45,183,349), este procedimiento, al igual que el anterior, también parece ser adecuado para la investigación de anticuerpos antiespermatozoide en el moco cervical; la demostración de dichos anticuerpos puede realizarse entonces por alguna de las técnicas utilizadas en el análisis de muestras de suero.

3.- METODOS PARA VALORAR LA INMUNIDAD MEDIADA POR CELULAS.

Aunque durante la última década se ha incrementado rápidamente el número de investigaciones diseñadas para revelar la posible relación entre la sensibilización contra constituyentes seminales y una condición de esterilidad, los aspectos celulares de estos fenómenos inmunológicos han sido mucho menos explorados y los resultados obtenidos son contradictorios.

Las pruebas "in vitro" utilizadas para la detección de inmunidad celular han sido fundamentalmente dos: la prueba de inhibición de la migración de leucocitos (67,255,263,346) y la transformación blástica de linfocitos (67,222,223,380); la primera está mediada por la liberación de una linfocina (NIF) cuando los linfocitos sensibilizados del paciente son expuestos nuevamente al antígeno que los sensibilizó (espermatozoides); en la segunda ocurre una proliferación de linfocitos después de su incubación con el antígeno, y se toma como parámetro indicativo de dicha proliferación, la magnitud de timidina radiactiva incorporada a los linfocitos.

Otras pruebas menos utilizadas han sido la prueba de inhibición de adherencia de leucocitos (mediada también por una linfocina) (68), y el cultivo mixto de linfocitos (260,283). Algunos autores sostienen la observación de un alto porcentaje de reacciones positivas en varones (380) o mujeres estériles (67), mientras que otros no encuentran clara evidencia de la relación entre respuestas leucocitarias "in vitro" y el estado clínico del paciente (152,223,260,263); la mayoría de los autores señala la necesidad de una mayor investigación en este campo; la respuesta final espera mejoras en las técnicas y particularmen-

te en la preparación de antígenos espermáticos solubles purificados (255,257).

4.- APENDICE DE TECNICAS.

A) Prueba de contacto entre espermatozoides y moco cervical. (209).

a) El semen es pretratado para obtener espermatozoides móviles; para ello se coloca una muestra de semen del varón en un tubo pequeño (7 cm de largo, 8 mm de diámetro interno) y se deja reposar 30 min. a temperatura ambiente, para permitir la sedimentación de espermatozoides móviles o aglutinados. Se retira aproximadamente 0.1 ml de muestra con ayuda de una jeringa de tuberculina (tomándola aproximadamente a medio centímetro por debajo de la superficie del fluido).

b) Se coloca una gota grande de moco cervical precovulatorio sobre uno de los extremos de un portaobjetos (el moco cervical debe tener un pH mayor de 7 y signos de buena estimulación estrogénica: adecuada filantes, viscosidad, etc.) y se expande para que alcance un diámetro aproximado de 1 cm.

c) Se añade una gota de semen pretratado, sobre el centro de la muestra de moco cervical y se cubre la mezcla con un cubreobjetos, presionando ligeramente para lograr la diseminación del semen.

d) En el otro extremo del portaobjetos se coloca una gota de semen pretratado y se cubre con un cubreobjetos (testigo).

e) Inmediatamente se observa al microscopio la motilidad de los espermatozoides, tanto en la mezcla como en el semen coloca

do en el otro extremo del portaobjetos.

f) Se coloca el portaobjetos en una cámara húmeda durante - media hora, a temperatura ambiente y se examina nuevamente al microscopio.

g) Se considera positiva la muestra si más de un 25% de los espermatozoides presentan el fenómeno de vibración (208); ya -- que en presencia de anticuerpos antiespermatozoide, los esperma tozoides pierden su motilidad progresiva y adquieren movimien-- tos vibratorios locales (207).

h) Cada pareja debe someterse a un sistema de prueba cruzada de acuerdo a las siguientes combinaciones:

Combinación 1: semen del marido + moco cervical de la esposa

Combinación 2: semen del marido + moco cervical de donadora normal

Combinación 3: semen de donador + moco cervical de la esposa normal

Combinación 4: semen de donador + moco cervical de donadora normal

Este sistema cruzado ofrece la posibilidad de checar la reproducibilidad de la prueba y detectar el factor causal del resultado positivo, específicamente el semen del marido o el moco cervical de la esposa; la combinación 4 permite asegurarse que el semen del donador o el moco cervical de la donadora no son el - factor responsable del fenómeno de vibración.

B) Prueba de inmovilización de espermatozoides (adaptado del método de Isojima y colaboradores)(167,313).

Materiales.

a) Semen humano (motilidad mayor de 70%, buena progresión hacia adelante) diluido en solución salina fisiológica a una concentración de 60×10^6 cels/ml (también se ha utilizado satisfactoriamente una concentración de 40×10^6).

b) Fuente de complemento: se usa una mezcla de sueros frescos de cobayo almacenados en pequeñas alícuotas, ya sea congelado (-20 a -60 °C) o liofilizado. Antes de mezclar, el suero de cada animal debe ser probado de que carezca de toxicidad no específica. También se ha utilizado suero humano y suero de conejo.

c) Suero inmune (con anticuerpos antiespermatozoide) humano o de conejo, en dilución apropiada que inmovilice un 90-95% de los espermatozoides en una hora, en presencia de complemento (SIH).

d) Suero humano normal (control negativo), sin actividad inmovilizante e inactivado (56°C 30 min.)(SHN).

e) Muestra problema inactivada.

Procedimiento.

a) Colocar en pequeños tubos serológicos:

<u>Muestra</u>	<u>Volumen</u>	<u># de tubos</u>	<u>C'</u>	<u>Factor determinado</u>
Salina	0.25 ml	1	.05 ml	Actividad inmovilizante del complemento (C').
SHN	"	1	"	Valor de motilidad basal (control negativo).
SIV	"	1	"	Efectividad del complemento.
Problema	"	n: diluciones seriadas 1:4, - 1:8, etc.	"	Actividad de anticuerpos inmovilizantes, dependiente de complemento.

b) Añadir 0.025 ml del semen diluido a cada tubo. Incubar a 32°C durante una hora.

c) Se evalúa al microscopio el porcentaje de espermatozoides móviles, examinando una gota de la mezcla sobre un portaobjetos.

d) Se deben examinar varios campos para tener una estimación confiable del porcentaje de espermatozoides que son móviles.

e) Se considera positiva una muestra si el porcentaje de espermatozoides móviles observados con la muestra problema corresponde a la mitad o menos del observado con el control negativo (SHN). Equivalentemente se puede considerar una muestra como positiva si tiene un SIV (valor de inmovilización de espermatozoides).

des igual o mayor de 2, definiéndose el SIV de la siguiente manera:

$$\text{SIV} = \frac{\% \text{ de espermatozoides móviles en el control negativo}}{\% \text{ de espermatozoides móviles en el problema}}$$

En las pruebas de rutina cada muestra problema puede chequearse primeramente sin diluir, y aquellas que resulten positivas, serán entonces tituladas haciendo diluciones dobles. El complemento de cobayo puede obtenerse en preparaciones comerciales; puede añadirse un control adicional siguiendo los mismos pasos que con la muestra problema pero sin añadirle el complemento; este control permitirá verificar si efectivamente la actividad inmovilizante es dependiente de complemento.

C) Técnica de preparación de moco cervical para la investigación de anticuerpos antiespermatozoide (184).

a) Se aspira el moco con una jeringa que contenga 0.5 ml de solución salina amortiguada con fosfatos (pH 7.6).

b) Se almacena a 4°C durante 24 horas.

c) Se licúa mediante paso repetido a través de una aguja -- 25 G.

d) Se centrifuga durante 5 min. a 12 000 r.p.m. (se puede almacenar a -20 °C antes de su centrifugación).

El líquido sobrenadante obtenido contiene la fracción inmunoglobulínica y es adecuado para su empleo en el método de inmovilización.

V. INMUNIDAD CONTRA

ESPERMATOZOIDES Y

ESTERILIDAD.

El papel que desempeña la inmunidad contra espermatozoides como factor etiológico en la esterilidad humana, ha sido una -- pregunta contemporánea en inmunología reproductiva, en torno a la cual ha habido confusión y controversia; gran parte de ello pudiera haberse evitado sin duda, si en los primeros reportes -- clínicos, los efectos sobre la fertilidad se hubieran relaciona-- do con la presencia o ausencia de anticuerpos antiespermatozoi-- de en el plasma seminal o al moco cervical, según el caso, en -- vez del suero, ya que pueden no coexistir (11). Por otro lado -- han contribuido a dicha controversia factores tales como: la di-- ferente metodología usada por los diversos investigadores, mis-- ma que ha incluido la utilización de técnicas de relativa espe-- cificidad (155); los diferentes criterios de selección de los -- pacientes por estudiar (266); los diferentes criterios para con-- siderar positiva una muestra (318); la variabilidad en la cali-- dad del esperma utilizado como fuente de antígeno en las diver-- sas pruebas (229). Pese a que estos factores conjuntamente han repercutido en la observación de diversos porcentajes de inci-- dencia de anticuerpos antiespermatozoide en individuos estéri-- les y fértiles, y la subsecuente esterilidad o fertilidad de la pareja (252), se ha ido acumulando evidencia de una manera glo-- bal en favor de una relación causa-efecto, entre la presencia -- de anticuerpos antiespermatozoide y una condición de esterili-- dad, ya sea en varones (autoinmunidad) y/o en mujeres (iso inmu-- nidad) (1,43,51,252,308); estos mecanismos pueden operar en una pequeña pero significativa proporción de parejas estériles (86)

Evidencia de lo anterior lo constituyen las siguientes ob-- servaciones:

a) La mayor incidencia, y los títulos elevados, de anticuer

pos antiespermatozoide en la población estéril, en comparación con la población fértil (86,87,132,155,351,394); cabe mencionar que la frecuencia de sueros positivos en una recopilación de 18 estudios fué mayor en mujeres estériles pertenecientes a parejas con esterilidad inexplicada, en comparación a la de mujeres pertenecientes a parejas cuya esterilidad era atribuible a causas orgánicas (158).

Varios autores han enfatizado la importancia de los títulos de anticuerpos antiespermatozoide, entre mayor sea el título -- las posibilidades de embarazo son más remotas (108,136,253,308). Se ha informado de que títulos bajos en el suero son compatibles con la fertilidad (141,257), lo cual resulta explicable en términos de una divergencia inmunológica a nivel local y sistémico; en los pocos varones que se conservan fecundos a pesar de tener títulos relativamente elevados de anticuerpos séricos, es probable que éstos no logren penetrar en el líquido seminal en concentraciones suficientes para alterar la eficiencia de los espermatozoides (184).

b) Aún cuando el porcentaje de embarazos entre parejas estériles con o sin anticuerpos antiespermatozoide ha arrojado resultados conflictivos entre ambos grupos, por el hallazgo o no de diferencias significativas (108,157), debe mencionarse que el análisis estadístico de las series de probabilidad de embarazo de mujeres estériles, ha revelado que aquéllas que presentan anticuerpos antiespermatozoide en el suero tienen una fecundabilidad acumulativa por año, menor que la de mujeres estériles -- sin anticuerpos antiespermatozoide (157). Asimismo, el rastreo a largo plazo de las parejas con anticuerpos antiespermatozoide -- ha mostrado una probabilidad de fecundidad muy baja (320).

c) Se ha observado que los anticuerpos antiespermatozoide - ejercen un efecto adverso sobre la recuperación de la fertilidad de varones a los que se les practica reversión de la vesectomía; este efecto se manifiesta como una supresión significativa de su fertilidad pese al éxito quirúrgico del procedimiento (108,224).

d) Se ha reportado la inducción de esterilidad en animales hembras después de inmunizarlas con preparaciones espermáticas o testiculares (348,371).

e) La significativa correlación positiva encontrada entre - la frecuencia de anticuerpos aglutinantes de espermatozoides en el suero de mujeres estériles y la duración de su esterilidad - (157), indica que los anticuerpos antiespermatozoide están asociados con una duración prolongada de su esterilidad (158). Aunque finalmente los anticuerpos antiespermatozoide pudieran no - excluir el embarazo -por cuanto que la reacción antígeno-anticuerpo no es un proceso de "todo o nada"- debe considerarse la posibilidad de un efecto reductor discreto sobre la fertilidad, por ejemplo, la citada prolongación de la duración de su esterilidad (157,265).

De este modo y pese a la controversia condicionada por los factores ya mencionados, la literatura da más bien evidencia de una asociación estadística significativa entre la presencia de anticuerpos antiespermatozoide y esterilidad (157,158,185).

VI. TRATAMIENTO.

Una vez determinado el problema, el paso próximo obviamente es intentar alguna forma de terapia. Las posibilidades teóricas para el tratamiento de la esterilidad inmunológica son:

- a) Terapia de oclusión.
- b) Tratamiento con corticosteroides (inmunosupresión).
- c) Inseminación intrauterina.
- d) Supresión de la espermatogénesis.
- e) Medicación estrogénica.
- f) Inducción de inmutolerancia.

a) Terapia de oclusión.

Este tipo de terapia se ha utilizado comúnmente y ha venido a reemplazar al método de abstinencia sexual sugerido por algunos autores (37,365). Se ha razonado que una reducción en la exposición de la mujer hacia los antígenos espermáticos, debe conducir a una disminución en el nivel de inmunidad existente contra ellos y, consecuentemente a una mejora eventual de su fertilidad. Para ello, el varón emplea preservativo durante el coito por un período de 6 a 12 meses, recomendándose la determinación del título de anticuerpos antiespermatozoide cada tres meses -- (309); si ocurre una disminución o desaparición de dicho título se le permite a la pareja realizar el coito sin el uso de preservativo solamente cerca de la fecha esperada de ovulación -- (95). La efectividad o no del tratamiento (tabla IV) no resulta tan evidente ya que los estudios reportados han carecido de un grupo o serie control que permita la comparación del porcentaje de embarazos obtenidos. A este respecto, Ingerslev (157) ha mencionado el logro de embarazos "espontáneos" que pudieran ser -- atribuibles a disminuciones ocasionales de los títulos de anti-

TERAPIA DE OCLUSIÓN

AUTOR	Nº. DE PACIENTES SOMETIDOS A LA TERAPIA	Nº. DE PACIENTES QUE MOSTRÓ DISMINUCIÓN O AUSENCIA DE - ANTICUERPO ANTIESPERMÁTICOS	Nº. DE EMBARAZOS	% DE EMBARAZOS
Ferhlin y Duboo	(101)	13	9	69.3(9/13)
Schwimer y Col	(21)	23	4	17.3
Schuman	(21)	41	13	31.7
Glass y Vaidya	(21)	no se determinó	9	37.5
Kolodny y Col	(200)	3	2	26.6
Nissen y Col	(21)	62	12	19.3
Anbacher y Col	(21)	26	10	38.4
Isajima	(21)	3	1	33.3
Jones	(21)	6	3	50
Seelner	(21)	30	6	18.7
Kramer	(205)	3	0	0

• Citados por Beer A. and Neves G. (21)

TABLA IV Resultados obtenidos en pacientes con inmunidad contra espermatozoides, sometidos a terapia de oclusión. Como puede notarse, si se observaron disminuciones en los títulos de anticuerpos y se lograron embarazos en los parejas tratadas, pero ninguno de los autores incluyó un grupo control que permitiera corroborar la efectividad del tratamiento.

cuerpos.

b) Inmunosupresión.

Se han administrado diversos esteroides en pacientes con esterilidad inmunológica con objeto de suprimir la respuesta inmune, entre ellos figuran: hormona adenocorticotrópica (ACTH), -asatioprina, dexametasona, betametasona, levamisol, prednisona y metilprednisolona; prácticamente se les ha utilizado en el tratamiento de varones aunque también pueden aplicarse en mujeres (342) (tabla V).

Los primeros intentos con este tipo de terapia (con ACTH o prednisona) en varones estériles, fueron desalentadores (314,--316); el método que parece tener un éxito más sostenido es un régimen de administración cíclica de metilprednisolona en dosis elevadas, implementado por Shulman y colaboradores (342).

La mejora observada en los varones con anticuerpos circulantes mediante terapia de inmunosupresión pudiera ser adscrita en parte, a la supresión de la respuesta inmune humoral, aunque el incremento en el número de espermatozoides en pacientes oligospermicos tratados pudiera reflejar un efecto supresivo sobre la respuesta inmune celular (56,141,337).

La eficacia relativa de los esteroides como agentes inmunosupresores en la especie humana condiciona la necesidad de utilizar altas dosis, mismas que pudieran aún así no ser efectivas (343); en todo caso resulta importante realizar estudios de laboratorio para determinar las fluctuaciones en los títulos de anticuerpos y hacer en base a ello un juicio adecuado sobre la posibilidad de repetir la medicación.

Como se mencionó anteriormente, el método de Shulman y cola

TERAPIA INMUNOSUPRESIVA

<u>AUTOR</u>	<u>TERAPIA</u>	<u>% DE EMBAZOS LOGRADOS</u>	<u>COMENTARIOS</u>
D ^a ALMEIDA (56)	Acetato de dexametasona 2 mg/día - durante 3 meses y dosis reducidas durante otros 3 meses.	Se embarazó la mujer del paciente tratado.	Hubo disminución del título de anticuerpos aglutinantes en el suero; los títulos del plasma seminal casi desaparecieron.
LUISI (232)	Levamisol 150 mg/día durante 3 días, alterna- dos con 7 días de descanso hasta por 5 meses.	20% (7/35)	Hubo disminución o supresión de los títulos de anticuerpos aglutinantes del suero, en - 60% de los pacientes tratados.
ALEXANDER (6)	Prednisona 60 mg/día durante 1 a 3 semanas	grupo control 12% (3/26) grupo tratado 45% (11/24)	No mejoró la calidad del semen, pero sí disminu- yeron los títulos de anticuerpos inmovili- zantes.
KRAUSE (65)	Aspirina 160 mg/día durante 3 meses; luego 50 mg/día durante 8 meses.	0%	El tratamiento condujo a la desaparición de los títulos aglutinantes pero no al embarazo de la mujer.
HENDRY (141)	Prednisona 5 mg/día durante 3-12 - meses. Metilprednisolona *	14% (2/14) 33% (6/18)	Con ambos tratamientos se observó disminu- ción de los títulos de anticuerpos, pero fue me- jor con el de metilprednisolona.
SHULMAN (342)	Metil prednisolona 96 mg/día durante 7 días.	22% (4/18) (varones) 14% (1/7) (mujeres)	
KATE (192)	Metil prednisolona *	42% (3/7)	
HAAS Y COL (122)	Metil prednisolona 96 mg/día durante 10 días.	33% (1/3)	Se observó mejoría en la calidad del semen.
SHULMAN (337)	Metilprednisolona *	44% (31/71)	El porcentaje mencionado lo deriva de un estu- dio acumulativo de 5 años.
HENDRY (139)	Metilprednisolona *	31% (14/45)	Se observó marcada disminución del título de - anticuerpos inmovilizantes.
DOMINGO (65)	Testosterona 250 mg/semana hasta org. durante azoospermia. Después administro metilprednisolona 16 mg/día durante - 30 días, y luego 8 mg/día durante 30 días.	10% (9/88)	En algunos pacientes no hubo modificación en el título de anticuerpos; en otros hubo disminu- ción o ausencia durante el tratamiento, y - en un tercer grupo dicha disminución persistió hasta por un año después de suspendido el tra- tamiento.

HARGREAVH
(135)

Metilprednisolona *
y/o
Betasetasona
2 mg/día durante 3 días, luego
1 mg/día durante 2 días y
0.5mg/día durante 2 días.

7% (1/15) (Metilprednisolona)
46% (5/11) (Betametazona)
48% (6/33) (Ambos)
40% (3/30) (Control)

El grupo control lo constituye el registro -
computerizado de 313 varones seleccionados por
el orden de su fecha de ingreso, no tratados,
y con una duración de su esterilidad similar a
la de los pacientes tratados.
Los títulos de anticuerpos disminuyeron duran-
te el tratamiento.

KEDHER
(206)

Metilprednisolona 96 mg/día durante
7 días.

0% (0/2)

Sólo hubo ligera disminución en el título de -
anticuerpos (1 a 2 diluciones).

* 96 mg/día durante 7 días (sincronizados con los días 21-28 ó 1-7 del ciclo menstrual de su mujer).
Esta dosificación se aplicó hasta en 3 ocasiones, pero alternándola cada vez con un mes de descanso.

TABLA V Resultados obtenidos mediante terapia inmunosupresiva en pacientes que presentan inmunidad - - -
contra espermatozoides. De los diferentes regímenes en este tipo de terapia, el de metilprednisolona
es el que aparentemente ha tenido un éxito más sostenido.

boradores consiste en la administración de metilprednisolona -- (96 mg/ día durante 7 días) en meses alternados. Con este tratamiento los títulos de anticuerpos pueden declinar desde los 14 días después de iniciada la terapia, y permanecer suprimidos -- por varios meses (340). Este efecto pudiera atribuirse a un catabolismo aumentado y síntesis disminuida de inmunoglobulinas -- (44); asimismo este régimen intermitente de altas dosis parece ser más efectivo que una variante de bajas dosis durante períodos más prolongados (139). Aunque en general es bien tolerado -- (337), se han presentado reacciones adversas como: dolor en caderas y extremidades, dispepsia, hematemesis, dolor de cabeza, agresividad, acné y edema (135,139,337).

Finalmente cabe mencionar que los estudios de inmunosupresión se enfrentan también con la carencia de los respectivos -- grupos control, excepto el de Alexander (6) y el de Hargreave -- (135), por lo que se necesitan más estudios con los respectivos controles para hacer una evaluación crítica de esta forma de terapia (343,253).

c) Inseminación intrauterina.

Un efecto verificado de los anticuerpos antiespermatozoide, es el de producir una interacción anormal entre el moco cervical y los espermatozoides; en tales condiciones el movimiento -- progresivo de los espermatozoides se transforma en movimiento -- de vibración (shakin^m), lo que se traduce en una pobre o nula -- penetración en el moco cervical, y consecuentemente en la pérdi -- da de su capacidad fertilizante (206). Al respecto, las técni -- cas de inseminación intrauterina parecen ser un procedimiento -- racional que evita esa interacción anómala a nivel cervical --

(62,297). Un requisito teórico para el éxito de este procedimiento, cuando la mujer es la que posee los anticuerpos antiespermatozoide, es el supuesto de que el recubrimiento del espermatozoide por anticuerpos ocurre principalmente en el cérvix y no a un nivel superior del tracto genital (158),

Kremer y colaboradores (206) informaron de un embarazo en cinco pacientes, aplicando el procedimiento por lo menos durante seis períodos menstruales; las cinco pacientes tenían títulos altos de anticuerpos en el moco cervical (cuatro tenían también anticuerpos circulantes), pruebas poscoitales pobres, penetración pobre de espermatozoides "in vitro" y una prueba de contacto entre espermatozoides y moco cervical fuertemente positiva.

Jones (184) por su parte, logró cuatro embarazos en 16 pacientes, tras la inseminación intrauterina con semen del marido.

La inseminación intrauterina también se ha empleado en parejas en las que los anticuerpos antiespermatozoide provienen del plasma seminal del hombre, en tal caso, se recomienda usar la primera porción del semen eyaculado (329), ya que ésta contiene la mayoría de los espermatozoides y relativamente pocas cantidades de inmunoglobulinas (358). Kremer reportó tres concepciones en 15 parejas (206); Hansen observó dos embarazos en 10 parejas tratadas con este método (158).

Una variante de este método es la inseminación con espermatozoides lavados (SWIM)(342); se basa en el razonamiento de que los autoanticuerpos antiespermatozoide presentes en el plasma seminal pueden ser eliminados por un procedimiento de lavado. Este se realiza en tres ocasiones con un buffer con 4% de albúmina sérica humana, seguido de centrifugación; la cápsula final

se resuspende en el mismo medio y, se deposita en la cavidad -- uterina de la mujer. Shulman informó de un 14% de embarazos con este método (342).

d) Supresión de la espermatogénesis.

La supresión farmacológica de la espermatogénesis en el hombre presupone la eliminación temporal del estímulo autoantigénico representado por los espermatozoides (309). Schoysman (184) indujo azoospermia mediante la utilización de testosterona y, - obtuvo un 13% de embarazos en parejas cuyo varón recibió este - tratamiento. Basándose en este reporte, Dondero (65) instauró - un tratamiento combinado, suprimió primero la espermatogénesis administrando testosterona (200 mg/semana hasta obtener azoospermia) y, luego administró metilprednisolona por treinta días, obteniendo un 18.75% de embarazos. Jones (183) menciona que tales resultados no son convincentes y, que hay poca justificación para hacer pruebas ulteriores con éste método.

e) Medicación estrogénica.

El tratamiento con estrógenos con objeto de reducir el título de anticuerpos en el moco cervical de la mujer, representa una aproximación de interés teórico, pero con pobre futuro clínico, debido a que la administración de estrógenos interferiría con el ciclo ovulatorio normal (156); su efecto sobre las concentraciones de anticuerpos se debería más probablemente a un efecto de dilución por las cantidades crecientes de moco secretado, en vez de una influencia hormonal sobre la tasa de síntesis de inmunoglobulinas (158).

f) Inducción de inmunotolerancia.

Una posibilidad sugerida pero todavía no explorada, es la de utilizar fracciones antigénicas del espermatozoide, obtenidas en forma soluble, para disminuir o abolir los títulos de anticuerpos de pacientes estériles (inmunotolerancia)(256,258).

VII. AUTOANTICUERPOS CONTRA

LA ZONA PELUCIDA

DEL OVULO.

Aunque las etapas iniciales de la ovogénesis ocurre durante la vida fetal de la mujer, los ovocitos generados (óvulos inmaduros) continúan su proceso de maduración poco antes de la ovulación (fig. 10)(75,213). Esta maduración está asociada con la producción de sustancias especializadas y antigénicas (10), entre las que sobresale la zona pelúcida (capsa no celular de tipo gelatinoso) ya que por un lado, se le han adscrito importantes funciones en el proceso de fertilización tales como reconocimiento y unión con el espermatozoide, bloqueo de la polispermia, regulación osmótica y, por el otro, se ha propuesto tentativamente una posible asociación entre la presencia de autoanticuerpos contra dicha estructura en algunas mujeres y su esterilidad (94,277,366).

Respecto al origen de estos autoanticuerpos anti-zona pelúcida, se ha sugerido que el continuo rompimiento y absorción de óvulos recubiertos de zona pelúcida en el ovario y tracto reproductivo (213), unido a su alta antigenicidad (335,336) y al hecho de que la formación de la zona pelúcida ocurre en una etapa tardía de la ontogénesis (después de que se hubiera desarrollado tolerancia) pudiera resultar en una autosensibilización en mujeres con mayor predisposición (268,336).

Los autoanticuerpos anti-zona pelúcida pudieran producir esterilidad al prevenir las interacciones entre aquélla y el espermatozoide, o impidiendo la implantación del óvulo fecundado (335). En relación con esto último se ha observado que los heteroanticuerpos anti-zona pelúcida producidos en animales de experimentación son capaces de inhibir la fertilización tanto "in vitro" como "in vivo" (10,164,367).

Mediante procedimientos de absorción con diversos tejidos se ha indicado que la zona pelúcida humana, análogamente a las

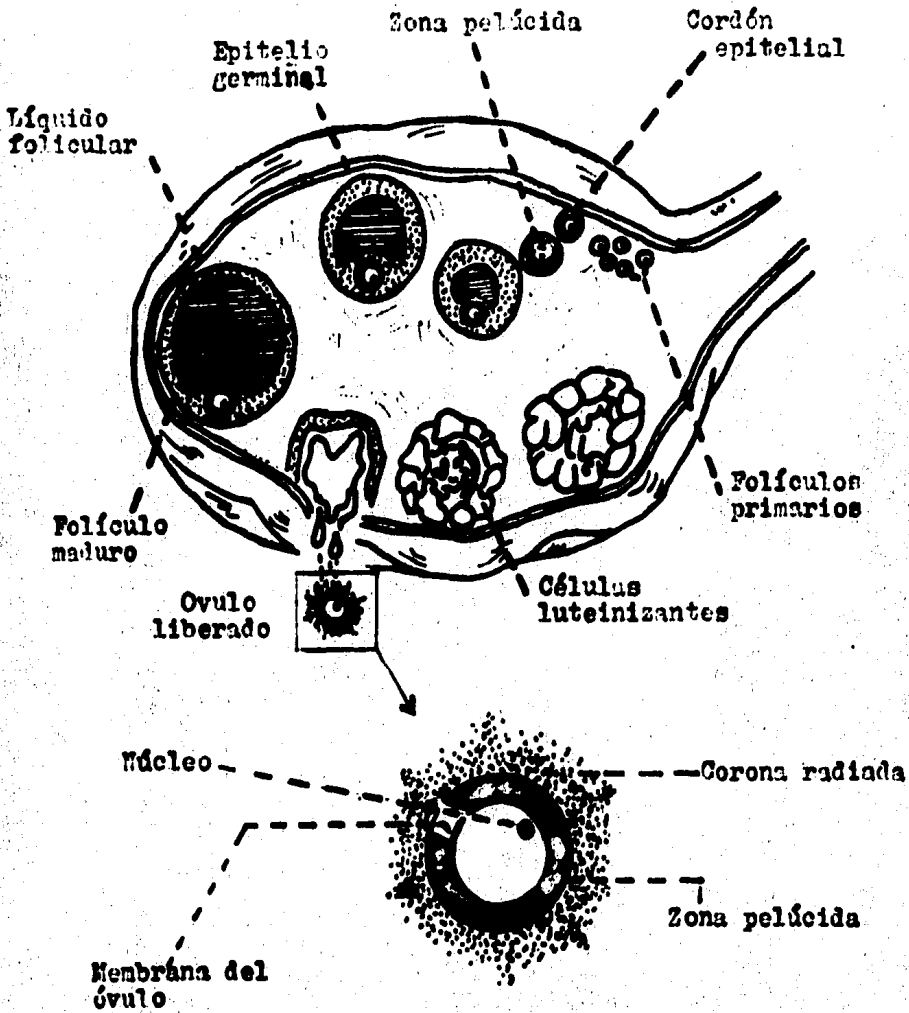


FIGURA NO 10. Corte transversal de ovario mostrando el desarrollo folicular y la aparición de la zona pelúcida del óvulo (116).

de otras especies de mamíferos posee antígenos organoespecíficos (16,111,321), especificidad que se ha desprendido también de la observación de que los anticuerpos producidos contra --- otros componentes corpóreos (útero, oviducto, líquido folicular, suero) son incapaces de reaccionar contra la zona pelúcida --- (335). Desafortunadamente la naturaleza química y física de la estructura de la zona pelúcida ha sido hasta ahora pobremente entendida debido en gran medida, a la pobre disponibilidad de óvulos recubiertos de zona pelúcida en la mayoría de los mamíferos, incluido el humano, y a que a pesar del gran esfuerzo realizado en el aislamiento y caracterización de sus componentes, no ha sido alcanzado un grado de pureza satisfactorio (278).

En forma similar a lo reportado respecto a la zona pelúcida porcina (69,70,71,278,323,326), Sacco (324) ha reportado la presencia de componentes glucoproteicos ácidos en la zona pelúcida humana; Mori (269) ha indicado en relación con lo anterior, la posible presencia de sustancias de grupo sanguíneo en la zona pelúcida humana. Takai (355) por su parte, sugiere que la zona pelúcida humana consiste por lo menos de tres componentes antigénicos diferentes:

- Antígeno (s) específico (s) de la zona pelúcida humana.
- Antígeno específico relacionado con sustancias de grupo sanguíneo.
- Antígeno-específico de la zona pelúcida, compartido por la zona pelúcida humana y la zona pelúcida porcina (presentan reacción cruzada).

Respecto a esta última aseveración, ya en varios reportes anteriores se ha indicado una reactividad cruzada entre la zona

pelúcida humana y la porcina (69,322,324,336). Tomando en cuenta dicha reactividad cruzada y la relativa facilidad de obtener números suficientes de óvulos recubiertos de zona pelúcida, a diferencia de la dificultad de tal maniobra en el humano, se ha optado por utilizar predominantemente óvulos porcinos en los procedimientos de inmunofluorescencia indirecta encaminados a la detección de autoanticuerpos anti-zona pelúcida en el suero de mujeres estériles; los reportes clínicos de este tipo han sido pocos a la fecha, aunque hay que hacer notar que el reporte inicial de Shivers y Dunbar fué apenas en 1977 (336).

Algunos estudios han mostrado una mayor incidencia de autoanticuerpos anti-zona pelúcida en mujeres con esterilidad inexplicada (227,268,269,336), mientras que otros han dado resultados contradictorios al reportar altas incidencias incluso en niños, varones y mujeres fértiles (63,212,275,325). De acuerdo a Nishimoto (277) tales divergencias pudieren derivarse de diferencias en los grados de eliminación de heteroaglutininas presentes en los sueros humanos (mediante absorción con eritrocitos porcinos) que reaccionan con sustancias de grupo sanguíneo de la zona pelúcida porcina, interfiriendo en la detección específica de anticuerpos anti-zona pelúcida (269).

Finalizando se puede decir que, aunque resulta tentador especular que los autoanticuerpos anti-zona pelúcida pudieran prevenir la fertilización, no puede afirmarse hasta ahora, que este tipo de autoanticuerpos detectados en el suero de algunas mujeres, sean el factor responsable de su esterilidad (335); quedan muchas cuestiones por resolverse y se requiere mucho más trabajo de investigación antes de que pueda establecerse firmemente el significado de tales hallazgos (187).

VIII). CONCLUSIONES .

- 1.- Esta revisión ha mostrado los reportes existentes en la literatura respecto a los procesos de inmunidad contra espermatozoides; estos reportes dan evidencia de una asociación estadística significativa entre la presencia de anticuerpos anti espermatozoide y esterilidad en el humano, poniendo de relieve la necesidad de valorar la participación de este tipo de procesos inmunológicos en las parejas estériles.
- 2.- Los antígenos involucrados en la inducción de inmunidad contra espermatozoides son los antígenos intrínsecos del espermatozoide (antígenos de superficie, enzima LDH-X y proteínas del núcleo).
- 3.- La inducción de inmunidad contra espermatozoides en el varón está relacionada con la alteración de la barrera hematotesticular por diversos mecanismos (traumatismo, oclusión, infección); en la mujer se ha propuesto que la isoinmunización estaría condicionada a alteraciones cuantitativas o cualitativas de un factor inmunosupresor normalmente presente en el plasma seminal del varón.
- 4.- La interferencia de la inmunidad contra espermatozoides con el proceso de fecundación puede darse a tres niveles fundamentalmente: interferencia sobre la espermatogénesis en el varón, reducción del potencial migratorio de los espermatozoides en el tracto reproductor femenino y alteración de las interacciones espermatozoide-óvulo.
- 5.- De los métodos tradicionales para valorar la presencia de inmunidad contra espermatozoides, la prueba de inmovilización es la que ha mostrado una óptima correlación con el estado clínico del paciente por lo que se sugiere, entre las de ese

grupo, como prueba de elección. Es de esperarse que en los años venideros se implemente más el uso de algunos de los métodos no tradicionales (ELISA y RIA), dada su objetividad y mayor sensibilidad.

- 6.- En las pruebas de detección de anticuerpos antiespermatozoide resulta indispensable la utilización de muestras representativas del estado inmunológico a nivel del tracto reproductor, puesto que pueden no coexistir a nivel sistémico y local.
- 7.- Los diversos tratamientos para personas que presentan esterilidad inmunológica han arrojado porcentajes variables de éxito; entre ellos el que aparentemente ha tenido un éxito más sostenido ha sido el de inmunosupresión.
- 8.- Los procesos de autoinmunización en contra de la zona pelúcida del óvulo plantean la posibilidad de extender el concepto de esterilidad inmunológica, sin embargo se requieren más estudios clínicos en la especie humana antes de establecer el significado definitivo de los mismos.

IX. BIBLIOGRAFIA .

- 1.- Abstracts of the international meeting on immunological -- factors in human contraception (Nov. 8-9, 1982 Rome Italy) Am. J. Reprod. Immunol. 2: 270-7, 1982.
- 2.- Ackerman, D.R. The adsorption of anti-A and anti-B antibodies on human spermatozoa. Fertil. Steril. 20: 324, 1969.
- 3.- Ainmelk, Y., Bélisle, S. and Elhilali, M. Primary infertility: correlation between sperm migration test and humoral - immunity. Int. J. Fertil. 27: 52, 1982.
- 4.- Alexander, N.J. Immunologic and morphologic effects of vasectomy in the rhesus monkey. Fed. Proc. 34: 1692, 1975.
- 5.- Alexander, N.J., Fulgham, D. Antibodies to sperm in male - monkeys: mode of action. Fertil. Steril. 30: 334, 1978.
- 6.- Alexander, N.J. Pregnancy rates in patients treated for antisperm antibodies with prednisone. Int. J. Fertil. 28: 63 1983.
- 7.- Alexander, N.J. Antibodies to human spermatozoa impede -- sperm penetration of cervical mucus or hamster eggs. Fertil. Steril. 41: 433, 1984.
- 8.- Anano, Y. and Behrman, S.J. Immunochemical studies on human seminal plasma. II. Isolation and characterization of major antigens. Int. J. Fertil. 13: 61, 1968.
- 9.- Anderson, D.J. Major histocompatibility antigens are not - expressed on human epididymal sperm. J. Immunol. 129: 452, 1982.
- 10.- Anderson, D.J. A new look at antifertility vaccines. Fertil. Steril. 40: 557, 1983.
- 11.- Antisperm antibodies and fertility (editorial). Lancet 1 - (8212): 136, 1981.
- 12.- Arnais-Villena, Festenstein H. HLA genotyping by using ---

- spermatozoa: Evidence for haploid gene expression. *Lancet* 2: 707, 1976.
- 13.- Austin, C. Fate of spermatozoa in the female genital tract *J. Reprod. Fertil.* 1: 151, 1960.
 - 14.- Austin, C.R. Fate of spermatozoa in the female genital tract and the problem of induction of local anti-sperm immunity women. In: Development of vaccines for fertility control, Scriptor (WHO publication), Copenhagen, p.p. 63-80, 1976.
 - 15.- Azim, A. Immunologic studies of male infertility. *Fertil. Steril.* 30: 426, 1978.
 - 16.- Bailey, C.E. Studies of the antigenicity of human ovarian tissue. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 114: 639, 1972.
 - 17.- Ball, R.Y. and Mitchinson, M.J. Obstructive lesions of the genital tract in men. *J. Reprod. Fertil.* 70: 667, 1984.
 - 18.- Bartley, C.B. Man, microbes and matter, Mc.Graw Hill, USA pp. 455-486, 1975.
 - 19.- Baskin, M.J. Temporary sterilization by injection of human spermatozoa. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 24: 892, 1932.
 - 20.- Beer, E and Billingham, R. Host responses to intrauterine tissue, cellular and fetal allografts. *Adv. Immunol.* 14: 1 84, 1971.
 - 21.- Beer, E. Antigenic status of semen from the viewpoints of the female and male. *Fertil. Steril.* 29: 3, 1978.
 - 22.- Bernstein, L.I., Englander, B.E. and Gallagher, J.S. Localized and systemic hypersensitivity reactions to human seminal fluid. *Ann. Int. Med.* 94 (prt 1): 459, 1981.
 - 23.- Blandau, R.J. and Moghissi, K.S. The biology of the cervix University of Chicago Press, Chicago, pp. 305, 1973.

- 24.- Boettcher, B. Correlation between human ABO blood group antigens in seminal plasma and on seminal spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 16: 49, 1968.
- 25.- Boettcher, B. Antigens of the male tract. *J. Reprod. Fertil. suppl.* 18: 77, 1973.
- 26.- Boettcher, B. A possible mode of action of progestagen only oral contraceptives. *Contraception* 9: 123, 1974.
- 27.- Boettcher, B. The molecular nature of sperm agglutinins in human sera. *J. Reprod. Fertil. suppl.* 21:151, 1974.
- 28.- Boettcher, B. Auto and isoantibodies to antigens of the human reproductive system (WHO reference bank). *Acta Pathol. Microbiol. Scand. suppl.* 258: 1-69, 1977.
- 29.- Boettcher, B. Immunological influence on human fertility. Academic Press, Sydney. Isolation of spermatozoal antigens pp. 105-110, 1977.
- 30.- Boettcher, B, and Hay, J. The nature of sperm agglutinins - in human sera. In *Immunology of human spermatozoa and fertilization*. Bulgarian Academy of Sciences Press, Sofia -- Bulgaria, pp. 47, 1969.
- 31.- Boettcher, B., Hay, J. and Kay, D.J. Spermagglutinating activity in some human sera. *Int. J. Fertil.* 15: 143, 1970.
- 32.- Boettcher, B., Hjort, T. and Vyazov, O.E. Auto and isoantibodies to antigens of the human reproductive system. I. Results of an international comparative study. *Clin. Exp. Immunol.* 30: 173-180, 1977.
- 33.- Boettcher, B. and Kay, J. Fractionation of human spermagglutinating serum. *Nature* 223: 737, 1969.
- 34.- Boettcher, B. and Kay, D. Loss of activity during fractionation of some human spermagglutinating sera. *J. Reprod. -*

- Fertil. 27: 107, 1971.
- 35.- Boettcher, B. and Kay, D. Agglutination of spermatozoa by human sera with added steroids. *Andrologia* 5: 265, 1973.
 - 36.- Boettcher, B., Kay, D. and Rünke, P. Human sera containing immunoglobulin and non-immunoglobulin spermagglutinins. -- *Biol. Reprod.* 5: 236, 1971.
 - 37.- Botella, J. L. Esterilidad e infertilidad humanas. Ed. -- Científico-Médica, Barcelona, pp.1-3, 69-72, 203-209, 1971
 - 38.- Brannen, G. and Koffey, D. Immunologic implications of vasectomy. II. Serum mediated immunity. *Fertil. Steril.* 25: 515, 1974.
 - 39.- Brodsky, P., Pathan, G.J. and Brodsky, P.M. Monoclonal antibodies for analysis of the HLA system. *Immunol. Rev.* 47: 3, 1979.
 - 40.- Bronson, R. Ability of antibody-bound human sperm to penetrate zona-free hamster ova in vitro. *Fertil, Steril.* 36: 778, 1981.
 - 41.- Bronson, R. Sperm specific isoantibodies and autoantibodies inhibit the binding of human sperm to the human zona pellucida. *Fertil. Steril.* 38: 724, 1982.
 - 42.- Bronson, R.A., Cooper, G.W. and Rosenfeld, D.L. Autoimmunity to spermatozoa: effect on sperm penetration of cervical mucus as reflected by postcoital testing. *Fertil. Steril* - 41: 609, 1984.
 - 43.- Bronson, R., Rosenfeld, D.L. and Cooper, G. Infertility -- associated with anti-sperm antibodies (letter). *N. Engl. J Med.* 304: 301, 1981
 - 44.- Butler, W. Effects of corticosteroids on immunity in man. *J. Clin. Invest.* 52: 26, 1973.

- 45.- Cantuaria, A. Sperm immobilizing antibodies in the semen - and cervicovaginal secretions on infertile and normal women. Br. J. Obstet. Gynaecol. 84: 865, 1977.
- 46.- Cerezo, M.J. Isolation and characterization two antigens - from human seminal plasma. Int. J. Fertil. 19: 211, 1974.
- 47.- Cerezo, M.J. and Cerezo, A. Antigens from human seminal -- plasma. Part. III: Studies on two new antigens from the -- TCA soluble fraction. Int. J. Fertil. 22: 162, 1977.
- 48.- Chandley, A.C., Christie, S. and Fletcher, J. Transloca-- tion heterozygosity and associated subfertility in man. Cy togenetics 11: 516, 1972.
- 49.- Chandra, R.K., Malkani, P.K. and Bhasin, K. Levels of immu noglobulins in the serum and uterine fluid of woman using an intrauterine contraceptive device. J. Reprod. Fertil. - 37: 1, 1974.
- 50.- Chang, T. Familial allergic seminal vulvovaginitis. Am. J. Obstet. Gynecol. 126: 442, 1976.
- 51.- Clancy, R: Local production of antisperm antibodies in in- fertile women. Med. J. Aust. 2: 511, 1979.
- 52.- Cuenca, M.I. y Salas, M.L. Investigación de anticuerpos antiespermatozoide en pacientes vasectomizados y parejas - infértiles. Comparación de métodos. Tesis, Facultad de Quí mica UNAM, 1981.
- 53.- Czuppon, A. B. and Mettler, L. Acrosin dependent solubili- sation of antigenic peptides from human spermatozoa. Am. J. Reprod. Immunol 1: 303, 1981.
- 54.- Czuppon, A.B. and Mettler, L. Chemical synthesis of a deca peptide eliciting characteristics of a human spermatozoal antigen. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem 363: 1465, 1982.

- 55.- Davidsohn, I. and Henry, J.B. Diagnóstico Clínico por el - laboratorio. 6ª edición. Salvat Editores. pp 1347. México, 1978.
- 56.- D'Almeida, M. Corticosteroid therapy for male autoimmune - infertility. *Lancet* 2(8042): 815, 1977.
- 57.- D'Almeida, M. Studies on human sperm autoantigens. I. frac - tionation of sperm membrane antigens: evidence of three an - tigenic systems. *Clin. Exp. Immunol.* 44: 359, 1981.
- 58.- D'Almeida, M., Righenzi, S. and Voisin, G.A. Ultrastructu - ral localization of human spermatozoa surface autoantigens by immunoperoxidase labeling. In: Fourth Congress of Immu - nology, Preudhoms S., Haeken V. (Editors). Abstract # 16.1 05. Société Française d'Immunologie. Paris 1980.
- 59.- De Fazio, S., Lewis, E. and Ketchel, M.M. Antigenic varia - tions in the seminal plasma of different men. *J. Reprod. - Fertil.* 20: 29, 1969.
- 60.- De Fazio, S. and Ketchel, M. The occurrence of seminal plas - ma antigens in the tissues of women. *J. Reprod. Fertil.* 30 125, 1972.
- 61.- De Louvois, J., Blades, M. and Stanley, V.C. Frequency of mycoplasma in infertile couples. *Lancet* 1: 1073, 1974.
- 62.- Diamond, M.P., Christianson, A.C. and Daniell, J.G. Preg - nancy following use of the cervical cup for home artifi - cial insemination utilizing homologous semen. *Fertil. Ste - ril.* 39: 480, 1983.
- 63.- Dietl, J. The frequency of serological anti-zona pellucida activity in males, females and children. *J. Reprod. Immu - nol.* 4: 123, 1982.
- 64.- Dendero, F. Autoimmunisation antitesticulaire chez le hom -

- me. Ann. Endocrinol. Paris. 33: 41, 1972.
- 65.- Dondero, F. Treatment and follow up of patients with infertility due to spermagglutinins. Fertil. Steril. 31: 43, -- 1979.
- 66.- Dor, J. Antisperm antibodies: their effects on the process of fertilization studied in vitro. Fertil. Steril. 35: 535 1981.
- 67.- Dor, J., Soffer, Y. and Nabel, I. Inhibition of leucocyte migration by spermatozoa in infertile women. Fertil. Steril. 28: 316, 1977.
- 68.- Doreman, B. Detection of cell mediated immunity to sperm - in mice by the leukocyte adherence-inhibition test. J. Reprod. Fertil. 53: 277, 1978.
- 69.- Dunbar, B.S. Characterization of porcine zona pellucida antigens. Biol.Reprod. 22: 941, 1980.
- 70.- Dunbar, B.S. Isolation, physicochemical properties and macromolecular composition of zona pellucida from porcine oocytes. Biochemistry 19: 356, 1980.
- 71.- Dunbar, B.S. Identification of the three major proteins of porcine and rabbit zona pellucida by high resolution two - dimensional gel electrophoresis: comparison with serum, follicular fluid and ovarian cell proteins. Biol. Reprod. 24 1111, 1981.
- 72.- Edwards, R., Ferguson, L.C. and Coombs, R.R. Blood group - antigens on human spermatozoa. J. Reprod. Fertil. 7: 153, 1964.
- 73.- El-Alfi, O. and Bassili, F. Immunological aspermatogenesis in man. I. Blastoid transformation of lymphocytes in response to seminal antigens in cases of non-obstructive azo-

- ospermia. *J. Reprod. Fertil.* 21: 25, 1970.
- 74.- El-Maggoub, S. Antispermatozoal antibodies in infertile women with cervicovaginal schistosomiasis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 112: 781, 1972.
- 75.- Eppig, J.J. and Downs, S.M. Chemical signals that regulate mammalian oocyte maturation. *Biol. Reprod.* 30: 1, 1984.
- 76.- Escudero, G.J. La esterilización biológica temporaria de la mujer por espermatozoos humanos. *Arch. Urug. Med.* 8: 484, 1936
- 77.- Etribi, A. Antisperm antibodies and human infertility. *Fertil. Steril.* 37: 236, 1982.
- 78.- Fawcett, D.W. and Leak, L.V. Electron microscopic observation on the structural components of the blood-testis barrier. *J. Reprod. Fertil. suppl.* 10: 105, 1970.
- 79.- Fellous, M. and Dausset, J. Probable haploid expression of HLA on human sperm. *Nature* 225: 191, 1970.
- 80.- Feltkamp, T. and Kruff, K. Autospermagglutinins: immunofluorescence studies. *Ann. NY. Acad. Sci.* 124: 702, 1965.
- 81.- Fernandez-Collazo, P. and Thierer, E. Action of ABO antisera on human spermatozoa. *Fertil. Steril.* 23: 376, 1972.
- 82.- Festenstein, H. and Halim, K. HLA-D locus determinants detected by sperm-lymphocyte culture. *Transplant. Proc.* 9: 1239, 1977.
- 83.- Festenstein, H. and Halim, K. Selection of haploid spermatozoa and its application to HLA-D typing. *Scand. J. Immunol.* 6: 511, 1977.
- 84.- Feuchter, P.A. Analysis of the sperm surface with monoclonal antibodies; topographical restricted antigens appearing in the epididymis. *Biol. Reprod.* 24: 1099, 1981.
- 85.- Fjallbrant, B. Immunoagglutination of sperm in cases of —

- sterility. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 44: 474, 1965.
- 86.- Fjallbrant, B. Sperm agglutination in sterile and fertile men. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 47: 89, 1968.
- 87.- Fjallbrant, B. Sperm antibodies and sterility in men. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 47 (suppl. 4): 5, 1968.
- 88.- Fjallbrant, B. Cervical mucus penetration by human spermatozoa treated with antispermatozoal antibodies from rabbit and man. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 48: 71, 1969.
- 89.- Fjallbrant, B. Studies on sera from men with sperm antibodies. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 48: 131, 1969.
- 90.- Fjallbrant, B. and Nilsson, S. Decrease of sperm antibody titer in males, and conception after treatment of chronic prostatitis. *Int. J. Fertil.* 22: 255, 1977.
- 91.- Fjallbrant, B. and Obsant, O. Clinical and seminal findings in men with antisperm antibodies. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 47: 451, 1968.
- 92.- Fowlkes, D. and O'Leary, W.W. T mycoplasma and human infertility: correlation of infection with alterations in seminal parameters. *Fertil. Steril.* 26: 1212, 1975.
- 93.- Francavilla, F. and Romano, R. Modification of the slide - agglutination test for the detection of sperm agglutinins. *Andrologia* 15: 699, 1983.
- 94.- Francois, R. Autoimmunity and ovarian failure. *Arch. French. Pediatr.* 38: 773, 1981.
- 95.- Franken, D.R. Corticosteroid therapy in case of immunologic infertility: a preliminary report. *Andrologia* 14: 256, 1982.
- 96.- Franken, D.R. and Du Toit, P.I. Inhibition of lymphocytes by seminal plasma fractions from azo-, oligo-, and normozo-

- ospermic men. Arch. Androl. 9: 303, 1982.
- 97.- Franken, D.R. and Slabber, C. The effect of seminal plasma from oligozoospermic men on in vitro lymphocyte cultures. Andrologia 14: 8, 1982.
- 98.- Franken, D.R. and Slabber, C.F. The sperm-cervical mucus - contact test: a screening test for spermatozoal antibodies. Andrologia 15: 270, 1983.
- 99.- Frankland, A. and Parish, W. Anaphylactic sensitivity to human seminal fluid. Clin. Allergy 4: 249, 1974.
- 100.- Franklin, R and Dukes, C. Antiespermatozoal antibodies and unexplained infertility. Am. J. Obstet. Gynecol. 89: 6, -- 1964.
- 101.- Franflin, R. and Dukes, C. Further studies on sperm-agglutinating antibody and unexplained infertility. JAMA 190: - 682, 1964.
- 102.- Friberg, J. A simple and sensitive micro-method for the demonstration of spermagglutinating activity in serum from infertile men and women. Acta. Obstet. Gynecol. Scand. --- suppl. 36: 21, 1974.
- 103.- Friberg, J. Clinical and immunological studies on sperm agglutinating antibodies in serum and seminal fluid. Acta. - Obstet. Gynecol. Scand. 36: 3, 1974.
- 104.- Friberg, J. Immunological studies on human sperm agglutinating seminal fluid. Acta Obstet. Gynecol. Scand. suppl. 36 65, 1974.
- 105.- Friberg, J. Immunological studies on spermagglutinating sera from men. Acta. Obstet. Gynecol Scand. suppl. 64: 43, - 1974.
- 106.- Friberg, J. Immunological studies on spermagglutinating se

- ra from women. *Acta Obstet. Gynecol. Scand. suppl.* 36: 31, 1974.
- 107.- Friberg, J. Immunoglobulin concentration in serum and seminal fluid from men with and without sperm-agglutinating antibodies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 136: 671, 1980.
- 108.- Fuchs, P. Immunologic considerations and after vasovasostomy. *Fertil Steril.* 40: 497, 1983.
- 109.- Gaunt, S.J. A 28K-dalton cell surface autoantigen of spermatogenesis: characterization using a monoclonal antibody. *Dev. Biol.* 89: 92, 1982.
- 110.- Gillet, G.P. Immunologic control of fertility: search for a contraceptive vaccine. *Clin. Obstet. Gynecol.* 20: 705, - 1977.
- 111.- Glass, L.E. Immunological approach to contraception: localization of antiembryo and antizona pellucida serum during mouse preimplantation development. *Fertil. Steril.* 25: 484 1974.
- 112.- Goldberg, E. Aminoacid composition and properties of crystalline lactate dehydrogenase-X from mouse testes. *J. Biol Chem.* 247: 2044, 1972.
- 113.- Gottschalk, A. Correlation between composition, structure, shape and function of a salivary mucoprotein. *Nature* 186: 949, 1960.
- 114.- Gradl, T. and Mettler, L. Crossed immunoelectrophoresis of sperm antibodies in human serum cervical mucus. *Int. J. -- Fertil.* 20: 50, 1975.
- 115.- Grenat, M. Familial gonadal germinative failure. *Fertil. - Steril.* 40: 215, 1983.
- 116.- Grollman, S. *The human body*, 4th ed. McMillan Publishing

- Co. Inc. pp.561-609. USA 1978.
- 117.- Gupta, I. and Saha, K. Low fertility rate in vasovasostomized males and its possible immunologic mechanism. *Int. J. Fertil.* 20: 183, 1975.
- 118.- Guyton, A.C. *Tratado de Fisiología Médica*. 4ª Ed. Ed. Interamericana, pag. 1066-1069. Barcelona, 1977.
- 119.- Gwatkin, R.B. Immunization of mice with heat-solubilized hamster zonae. *Fertil. Steril.* 28: 871, 1977.
- 120.- Haas, G. Identification of antisperm antibodies on sperm of infertile men. *Fertil Steril* 38: 54, 1982.
121. Haas, G. The incidence of sperm-associated immunoglobulin and C₃ in infertile men. *Fertil. Steril* 39: 542, 1983.
- 122.- Haas, G., Cines, D.B. and Schreiber, A.D. Immunologic infertility: identification of patients with antisperm antibody. *N. Engl. J. Med.* 303: 722, 1980.
- 123.- Haas, G. Jr., Schweitzer, S.S. and Wolf, D.P. The identification and quantitation of antibodies on human spermatozoa. *Fertil. Steril* 35: 265, 1981.
- 124.- Halim, A. and Festenstein, H. HLA-D on sperm is haploid enabling use of sperm for HLA-D typing. *Lancet* 2: 1255, 1975
- 125.- Halim, A. The HLA typing of human spermatozoa by two color fluorescence. *Tissue Antigens* 19: 90, 1982.
- 126.- Halim, A., Abbasi, K and Festenstein, H. The expression of the HLA antigens on human spermatozoa. *Tissue Antigens* 4: 1, 1974.
- 127.- Halpern, B., Ky, T. and Robert. B. Clinical and immunological study of an exceptional case reaginic type sensitization to human seminal fluid. *Immunology* 12: 247, 1967.
- 128.- Hammerling, G., Mauve, G. and McDevitt, H.O. Tissue distri

- bution of Ia antigens. Immunogenetics 1: 428, 1975.
- 129.- Hamerlynck, J. and Rünke, P. A test for the detection of cytotoxic antibodies spermatozoa in man. J. Reprod. Fertil 17: 191, 1968.
- 130.- Hancock, R.J.T. and Faruki, S. Detection of antibody-coated sperm by "panning" procedures. J. Immunol. Methods. 66 149, 1984.
- 131.- Hansen, K.B. Immunofluorescent studies on human spermatozoa. Clin. Exp. Immunol. 9: 21, 1971.
- 132.- Hargreave, T.B. The significance of serum agglutinating antibodies in men with on fertile marriages. Br. J. Urol. 52 566, 1980.
- 133.- Hargreave, T.B. Isolation of ureaplasma urealyticum from seminal plasma in relation to sperm antibody levels and sperm motility. Andrologia 14: 223, 1982.
- 134.- Hargreave, T.B., Busuttill, A. and Elton, R.A. Studies of testicular and epididymal damage in relation to the occurrence of antisperm antibodies. Br. J. Urol. 54: 769, 1982
- 135.- Hargreave, T.B. and Elton, R. Treatment with intermittent high dose methylprednisolone or intermittent betamethasone for antisperm antibodies: preliminary communication. Fertil. Steril. 38: 586, 1982.
- 136.- Hargreave, T.B. and Hjort, T. Is low titre agglutination seen when testing male sera for antisperm antibodies an immunological phenomenon? Andrologia 15: 90, 1983.
- 137.- Hekman, A. Association of lactoferrin with other proteins as demonstrated by changes in electrophoretic mobility. -- Biochem. Biophys. Acta. 251: 380, 1971.
- 138.- Hekman, A. and Rünke, P. The antigens of human seminal --

plasma, with special reference to lactoferrin as a spermatozoa-coating antigen. *Fertil. Steril.* 20: 312, 1969.

- 139.- Hendry, W.F. The results of intermittent high dose steroid therapy for male infertility due to antisperm antibodies. *Fertil. Steril* 36: 351, 1981.
- 140.- Hendry, W.F. Mixed erythrocyte-spermatozoa antiglobulin -- reaction (MAR test) for IgA antisperm antibodies in subfertile men. *Fertil, Steril.* 37: 108, 1982.
- 141.- Hendry, W.F., Hughes, L. and Stedronska, J. Steroid treatment of male subfertility caused by antisperm antibodies. *Lancet* 2 (8141): 498, 1979.
- 142.- Hendry, W.F., Morgan, H. and Stedronska, J. The clinical significance of antisperm antibodies in male subfertility. *Br. J. Urol.* 49: 757, 1977.
- 143.- Hendry, W.F. and Stedronska, J. Mixed erythrocyte-spermatozoa antiglobulin reaction (MAR test) for the detection of antibodies against spermatozoa in infertile males. *J. Obstet. Gynaecol.* 1: 59, 1980.
- 144.- Hill, L. Detection of sperm antibodies by radioassay: a comparative evaluation. *Fertil. Steril.* 33: 302, 1980.
- 145.- Hjort, T. and Hansen, K. Immunofluorescent studies on human spermatozoa. *Clin. Exp. Immunol.* 8: 9, 1971.
- 146.- Hjort, T. Reactivity of F(ab)₂ fragments of sperm antibodies in agglutination, immobilisation and immunofluorescence test. *Arch. Androl.* 1: 83, 1978.
- 147.- Hjort, T. and Hansen, K. The penetration of antibody-covered spermatozoa into cervical mucus and egg-white. *Arch. - Androl.* 3: 245, 1979.
- 148.- Hjort, T. and Hasted, S. The effect of testis biopsy on au

- tosensitization against spermatozoal antigens. Clin. Exp. - Immunol. 18: 201, 1974.
- 149.- Hoffer, A.P. and Hinton, B.T. Morphological evidence for a blood epididymus barrier and the effects of gossypol on -- its integrity. Biol. Reprod. 30: 991, 1984.
- 150.- Husted, S. and Hjort, T. Comparisons of the occurrence of - spermatozoal antibodies in male and female blood donors. - Clin. Exp. Immunol. 17: 61, 1974.
- 151.- Husted, S. and Hjort, T. Microtechniques for simultaneous de termination of immobilizing cytotoxic sperm antibodies. -- Clin. Exp. Immunol. 22: 256, 1975.
- 152.- Husted, S. and Hjort, T. Lymphocyte-transformation test -- with spermatozoal antigens in men from infertile couples. II. Clinical studies. Int. J. Fertil. 21: 226, 1976.
- 153.- INSS-Subdirección General Médica. Laboratorio Clínico. Pro cedimientos. 3^a Ed. pp. 445-450. México, 1978.
- 154.- Ingerslev, H.J. Characterization of sperm agglutinins in - sera from infertile women. Int. J. Fertil. 24: 1, 1979.
- 155.- Ingerslev, H.J. Spermagglutinating antibodies and betasper magglutinins in sera from infertile and fertile women. Fer til. Steril. 37: 496, 1979.
- 156.- Ingerslev, H.J. Spermagglutinating antibodies and spermpe netration in cervical mucus from infertile women with cir culating antibodies against spermatozoa. Fertil. Steril. - 34: 561, 1980.
- 157.- Ingerslev, H.J. Clinical findings in infertile women with circulating antibodies against sperm. Fertil. Steril. 33: 514, 1980.
- 158.- Ingerslev, H.J. Antibodies against sperm surface-membrane

- antigens in infertile woman. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* suppl. 100: 1, 1981.
- 159.- Ingerslev, H.J., Hjort, T. and Linnet, L. Immunoglobulins classes of human sperm antibodies. *J. Clin. Lab. Immunol.* 2: 220, 1979.
- 160.- Ingerslev, H.J. and Poulsen, F. Bromelin for liquefaction of cervical mucus in sperm antibodies testing: its effect on sperm-agglutinating immunoglobulin G. *Fertil. Steril.* - 33: 61, 1980.
- 161.- Insler, V. and Bettendorf, G. The uterine cervix in reproduction, George Thieme Publishers, pp. 181. Stuttgart, 1977
- 162.- Isahakia, M. and Alexander, N.J. Interspecies cross-reactivity of monoclonal antibodies directed against human sperm antigens. *Biol. Reprod.* 30: 1015, 1984.
- 163.- Isojima, S. Further studies on sperm immobilizing antibodies found in sera of unexplained cases of sterility in women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 112: 199, 1972.
- 164.- Isojima, S. and Koyama, K. Monoclonal antibodies to porcine zona pellucida antigens and their inhibitory effects on fertilization. *J. Reprod. Immunol.* 6: 77, 1984.
- 165.- Isojima, S., Koyama, K. and Fujiwara, N. Purification of HSP 7 antigen by immunoaffinity chromatography on bound monoclonal antibodies. *Clin. Exp. Immunol.* 49: 449, 1982.
- 166.- Isojima, S., Koyama, K. and Touchiya, K. The effect on fertility in women of circulating antibodies human spermatozoa. *J. Reprod. Fertil. suppl.* 21: 125, 1974.
- 167.- Isojima, S., Li, T.S. and Ashitaka, Y. Immunologic analysis of sperm-immobilizing factor found in sera of women with unexplained infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 101:

677, 1968.

- 168.- Isojima, S. and Tsuzuku, O. Problem of ABO blood group incompatibility and sterility. The effect of blood group antibody on spermatozoa. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 102: 304, - 1968.
- 169.- Jackson, J. and Eylar, E.H. Experimental allergic and --- aspermatogenesis orchitis. *Biochem. Biophys. Acta.* 427: -- 251, 1975.
- 170.- Jager, S., Kremer, J. and Kuiken, L. Immunoglobulin class of sperm agglutinins in cervical mucus. In: *Immunological influence on human fertility.* Academic Press, pp. 289. Sidney, 1977.
- 171.- Jager, S. The significance of the Fc part of antisperm antibodies for the shaking phenomenon in the sperm-cervical mucus contact test. *Fertil. Steril.* 36: 792, 1981.
- 172.- Jager, S., Kremer, J. and Kuiken, J. Immunoglobulin class of antispermatozoal antibodies from infertile men and inhibition of in vitro sperm penetration into cervical mucus. *Int. J. Androl.* 3: 1, 1980.
- 173.- Jager, S., Kremer, J. and Van Slochteren-Draaisma, T. A -- simple method of screening for antisperm antibodies in the human male. *Int. J. Fertil.* 23: 12, 1978.
- 174.- Jennings, P.B. and Wetthauer, J.N. Prevalence of circulating HLA lymphocytotoxic antibodies in men after vasectomy. *Fertil. Steril.* 26: 53, 1975.
- 175.- Jequier, A. Sperm immunofluorescence in infertile men: its relationship with sperm agglutination and gel agglutina--- tion. *Arch. Androl.* 5: 201, 1980.
- 176.- Johnson, A.D. and Gómez, W. *The testis*, Academic Press, --

vol. 4, pp. 125. New York, 1977.

- 177.- Johnson, M.H. Physiological mechanisms for the immunological isolation of spermatozoa. *Adv. Reproduct. Physiol.* 6: 279, 1973.
- 178.- Johnson, M.H., Hekman, A. and Rünke, P. The male and female tracts in allergic disease. In: *Clinical aspects of immunology*, 3d. Ed., Gell P.G., Coombs R.A. (editors). -- Blackwell Scientific Publications, 1975.
- 179.- Johnson, W. and Menge, A. Evaluation of human sera for antibodies against sperm by immunofluorescence. *Fertil. Steril.* 26: 721, 1975.
- 180.- Johnston, D.R. The history of human infertility. *Fertil. - Steril.* 14: 261, 1963.
- 181.- Jones, W.R. The use of antibodies developed by infertile women to identify relevant antigens. *Acta Endocrinol.* --- suppl. 194: 76, 1974.
- 182.- Jones, W.R. The investigation of immunological infertility *Med. J. Aust.* 2: 188, 1979.
- 183.- Jones, W.R. Immunologic infertility: fact or fiction? *Fertil. Steril.* 33: 577, 1980.
- 184.- Jones, W.R. Immunology of infertility. *Clin. Obstet. Gynecol.* 8: 611, 1981.
- 185.- Jones, W.R. Assessing immunity to sperm. *Clin. Reprod. Fertil.* 1: 3, 1982.
- 186.- Jones, W.R., Keye, V.D. and Ingerslev, R.M. Sperm microagglutination activity in the serum of patients with carcinoma of the cervix. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 116: 883, 1973
- 187.- Kazade, M., Hasebe, H. Detection of anti-zona pellucida activities in human sera by the passive hemagglutination --

- reaction. *Fertil. Steril.* 41: 901, 1984.
- 188.- Kamata, A. and Festenstein, H. Sperm immobilization by HLA antibody. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 23: 358, 1976.
- 189.- Kamidomo, S. Infertility and HLA antigen-male infertility and infertile couples. Correlation between HLA and infertility. *Andrologia*, 12: 317, 1980.
- 190.- Katsh, S. Immunity and infertility: a review. *Contraception* 4: 135, 1971.
- 191.- Katsh, S., Aguirre, A. and Katsh, G.F. Inactivation of sperm antigens by sera and tissues of the female reproductive tract. *Fertil. Steril.* 19: 740, 1968.
- 192.- Katz, M. and Newill, R. Steroid treatment for infertility associated with antisperm antibodies. *Lancet* 1 (8181): 1306, 1980.
- 193.- Kay, D. J. Further characterization of the non-immunoglobulin sperm-agglutinin found in some human sera. *Arch. Androl.* 4: 37, 1980.
- 194.- Kay, R. Immunofluorescent titres of sperm centrifuged at different speeds. *Clin. Exp. Immunol.* 32: 299, 1978.
- 195.- Kerek, G. Distribution of the blood group antigens on human spermatozoa. *Int. J. Fertil.* 19: 181, 1974.
- 196.- Kibrick, S., Belding, D. and Merrill, B. Methods for the detection of antibodies against mammalian spermatozoa. II. A gelatin agglutination test. *Fertil. Steril.* 3: 430, 1952.
- 197.- Kistner, R. *Tratado de Ginecología*. Ediciones Toray S.A., pp. 438-527. Barcelona, 1974.
- 198.- Kolk, H.J. Autoantigens of human spermatozoa. *Clin. Exp. Immunol.* 16: 63, 1974.
- 199.- Kolk, H.J. Isolation, chemical and immunological characte-

- rization of two strongly basic nuclear proteins from human spermatozoa. *Biochem. Biophys. Acta* 393: 307, 1975.
- 200.- Kolodny, R.S., Toro, G. and Masters, W. Sperm agglutinating antibodies and infertility. *Obstet. Gynecol.* 38: 576, 1971.
- 201.- Komlos, L., Zamir, R. and Joshua, H. Common HLA antigens in couples with repeated abortions. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 7: 330, 1977.
- 202.- Kovary, P., Dykgers, A. and Niermann, H. Gl_q precipitins - in human seminal plasma. *Arch. Androl.* 1: 99, 1978.
- 203.- Koyama, K., Takada, Y. and Isojima, S. Localization of HSP 7 antigen in accessory glands of male genital tract and spermatozoa. *J. Reprod. Immunol.* 5: 135, 1983.
- 204.- Koyama, Y.I. and Shinomiga, T. Identification of sperm antigenic determinants with phylogenetically diverse and limited distribution using monoclonal antibodies. *J. Reprod. Immunol.* 6: 141, 1984.
- 205.- Kremer, J. A simple penetration test. *Int. J. Fertil.* 10: 209, 1965.
- 206.- Kremer, J. Treatment of infertility caused by antisperm antibodies. *Int. J. Fertil.* 23: 270, 1978.
- 207.- Kremer, J. Characteristics of antisperm antibodies responsible for the Shaking phenomenon: Ig class and antigenic - reactive sites. *Int. J. Androl.* 3: 143, 1980.
- 208.- Kremer, J and Jager, S. The unexplained "poor" postcoital test. *Int. J. Fertil.* 23: 277, 1978.
- 209.- Kremer, J. and Jager, S. The sperm-cervical mucus contact test: a preliminary report. *Fertil. Steril.* 27: 335, 1976.
- 210.- Kremer, J., Jager, S. and Kuiken, J. The clinical signifi-

- cance of antibodies to spermatozoa. In: Immunological influence on human fertility, Academic Press, pp. 47. Sidney 1977.
- 211.- Kula, K., Owczarczyk, F. and Retersky, Z. Serum immunoglobulins IgG and IgM in the seminal plasma of men with normospermia, oligospermia and azospermia. Arch. Androl. 3: 337, 1979.
- 212.- Kurachi, H. and Wakimoto, H. Specific antibodies to porcine zona pellucida detected by quantitative radioimmunoassay in both fertile and infertile women. Fertil. Steril. 41: 265, 1984.
- 213.- Kurt, E. and Johnson, S. Histology; microscopic anatomy and embryology. John Wiley and Sons, pp. 302-307. USA, 1982.
- 214.- Law, H.Y. Use of microimmobilization and microagglutination assays for attempted detection of HLA antigens and B₂-microglobulin in human sperm. Tissue Antigens 12: 249, 1978.
- 215.- Lee, C.Y. Monoclonal antibodies to human sperm antigens. J. Reprod. Immunol. 4: 173, 1982.
- 216.- Lee, C.Y. Analysis of sperm antigens by sodium dodecyl sulfate gel/protein blot radioimmunobinding methods. Anal. Biochem. 123: 14, 1982.
- 217.- Lee, C.Y., Wong, E. and Richter, D. Monoclonal antibodies to human sperm antigens. J. Reprod. Immunol. 6: 227, 1984.
- 218.- Levine, B., Siraganian, R.P. and Schenkein, I. Allergy to human seminal plasma. N. Engl. J. Med. 288: 894, 1973.
- 219.- Levine, P. and Celano, M. The question of Rh₀(D) antigenic sites on human spermatozoa. Vox. Sang. 6: 720, 1961.
- 220.- Levinsky, H., Singer, R. and Malik, Z. Distribution of sia

- lic acid in human sperm membranes. Arch. Androl. 10: 209,-1983.
- 221.- Lewis, W., Whalen, J., Sherins, R. Mixed cultures of sperm and leucocytes as a measure of histocompatibility in man. Science 191: 302, 1976.
- 222.- Lewis, W.R., Lincoln, P., and Dattner, A. Sperm-induced -- lymphocyte activation. Lancet 1: 937, 1978.
- 223.- Linnet, L. A comparison of eight techniques for the eva--- luation of the autoimmune response to sperm after vasecto--- my. J. Reprod. Immunol. 4: 133, 1982.
- 224.- Linnet, L. and Hjort, T. Association between failure to im--- pregnate after vasovasostomy and sperm agglutinins in se--- men. Lancet 1: 117, 1981.
- 225.- Li, T.S. Sperm immunology, infertility and fertility con--- trol. Obstet. Gynecol. 44: 607, 1974.
- 226.- Li, T.S. and Behling, C. Isolation and characterization of two specific antigens of human seminal plasma. Fertil. Ste--- ril. 24: 134, 1973.
- 227.- Li, T.S. and Behrman, S.J. The sperm and seminal plasma--- specific antigens of human semen. Fertil. Steril. 21: 565, 1970.
- 228.- Li, T.S., Pelasi, W.A. and Cateri, H. Purification and cha--- racterization of a sperm-coating antigen from human semi--- nal plasma. Fertil. Steril. 27: 702, 1976.
- 229.- Li, T.S. and Shulman, S. Immunoelectrophoretic analysis of human seminal plasma fractions after fractionation by va--- rious methods. Int. J. Fertil. 16: 87, 1971.
- 230.- London, S.M., and Haney, A.F. Diverse humoral and cell me--- diated effects of antisperm antibodies on reproduction. -- Fertil. Steril. 41: 907, 1984.

- 231.- Lord, E., Sensabaugh, G. and Stites, D. Immunosuppressive activity of human seminal plasma. *J. Reprod. Immunol.* 1: 125 1976.
- 232.- Luisi, M. Levamisole treatment in male infertility due to sperm (letter). *Lancet* 2(8688): 47, 1982.
- 233.- Manarang, P. and Behrman, S. Spermotoxicity of immune sera in human infertility. *Fertil. Steril.* 22: 145, 1971.
- 234.- Marcus, Z., Freisheim, J., and Houk, J. Suppression of cell mediated immune response by human spermatozoa and fractions isolated from human seminal plasma. *Clin. Immunol. - Immunopathol.* 9: 318, 1977.
- 235.- Marcus, Z., Herman, J. and Hess, E. The effect of human spermatozoa on antigen and mitogen induced blastogenesis. *Arch. Androl.* 1: 89, 1979.
- 236.- Marcus, Z., Herman, J. and Hess, E. In vitro studies in reproductive immunology. *J. Reprod. Immunol.* 1: 97, 1979.
- 237.- Marmar, J. Functional role of spermagglutinating antibodies in man. *Fertil. Steril.* 34: 365, 1980.
- 238.- Masson, P. and Heremans, J. Studies of lactoferrin, the iron binding protein of secretions. *Protides Biol. Fluids* 14: 115, 1966.
- 239.- Mavligit, G. and Talpas, M. Chronic immune stimulation by sperm alloantigens. *JAMA* 251: 237, 1984.
- 240.- Mathur, S. and Williamson, H. Sperm motility on postcoital testing correlates with male autoimmunity to sperm. *Fertil. Steril.* 41: 81, 1984.
- 241.- Mathur, S. Application of passive hemagglutination for evaluation of antisperm antibodies. *J. Immunol. Methods* 30: 381, 1979.

- 242.- Mathur, S. Antigenic cross reactivity of sperm and T-lymphocytes. *Fertil. Steril.* 34: 469, 1980.
- 243.- Mathur, S. A new microassay for spermocytotoxic antibodies. *J. Immunol.* 26: 905, 1981.
- 244.- Mathur, S., Baker, E. and Eadenberg, H. Immunoglobulin E levels and antisperm antibody titers in infertile couples. *Clin. Obstet. Gynecol.* 140: 923, 1981.
- 245.- Mathur, S., Baker, E. and Teague, K. Clinical significance of sperm antibodies in infertility. *Fertil. Steril.* 36: 486, 1981.
- 246.- Mathur, S., Genco, P. and Nesmith, D. Cytotoxic antibodies to lymphocytes: relationship to sperm immunity. *J. Reprod. Immunol.* 5: 89, 1983.
- 247.- Mathur, S., Genco, P. and Williamson, H. Association of human leucocyte antigens B7 and BW35 with sperm antibodies. *Fertil. Steril.* 39: 343, 1983.
- 248.- Mathur, S. Sperm immunity in infertile couples. *Am. J. Reprod. Immunol.* 3: 18, 1983.
- 249.- Meaker, S. Some aspects of the problem of sterility. *Boston Med. Surg. J.* 187: 535, 1922.
- 250.- Meistrich, N. and Brown, C. Estimation of the increased risk of human infertility from alterations in semen characteristics. *Fertil. Steril.* 40: 220, 1983.
- 251.- Menge, A. Sperm fractions responsible for immunologic induction of pre and postfertilization infertility in rabbits. *Biol. Reprod.* 20: 931, 1979.
- 252.- Menge, A. The incidence and influence of antisperm antibodies in infertile human couples on sperm-cervical mucus interactions and subsequent fertility. *Fertil. Steril.* 38: -

439, 1982.

- 253.- Menge, A. and Behrman, S. Infecundidad de origen inmunológico. Clin. Obstet. Gynecol. 22: 237, 1979.
- 254.- Mettler, L. Difficulty of timing reproducibility in the -- Franklin-Dukes test for detection of sperm agglutinating - antibodies in human sera. J. Reprod. Fertil. 44: 217, 1975
- 255.- Mettler, L. Macrophage migration inhibitory factor in female sterility. Am. J. Obstet. Gynecol. 121: 117, 1975.
- 256.- Mettler, L. Isolation of human sperm membrane antigens binding spermagglutinating and sperm-immobilizing antibodies. Int. J. Fertil. 24: 44, 1979.
- 257.- Mettler, L. Immunology and reproduction. Sterility immunology. Gynecol. Obstet. Invest. 11: 129, 1980.
- 258.- Mettler, L. Spermatozoal hapten gained via autolysis. Arch Androl. 4: 145, 1980.
- 259.- Mettler, L. The occurrence of sperm antibodies in reproduction. Comparative new and improved test methods for sperm antibody detection. Am. J. Obstet. Gynecol. 136: 106, 1980
- 260.- Meyer, H., Laurson, A. and Heron, I. Mixed lymphocyte culture responses in infertile couples. Int. J. Fertil. 22: - 110, 1977.
- 261.- Michelle, R. and Davajan, V. Reproductive endocrinology, - infertility and contraception. F.A. Davis Co., pp. 313-315 Philadelphia, 1979.
- 262.- Mikkelsen, E., Henderson, L. and Leiferman, K. Allergy to human seminal fluid. Ann. Allergy 34: 239, 1975.
- 263.- Mirecka, J. and Bromboszcz, Z. Effects of seminal constituents in leucocyte migration tests on infertile couples. J. Reprod. Immunol. 2: 331, 1981.

- 264.- Moghissi, S. Investigación y estudio básico de los matrimonios infecundos. *Clin. Obstet. Ginecol.* 1: 11, 1979.
- 265.- Moghissi, S. Immunologic infertility. I. Cervical mucus antibodies and postcoital test. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 136: 941, 1980.
- 266.- Moghissi, S. and Wallach, E. Unexplained infertility. *Fertil. Steril.* 39: 5, 1983.
- 267.- Korenz, J. Immunological factors in human infertility: -- immunopathological studies of the testes. *Int. J. Fertil.* 26: 94, 1981.
- 268.- Mori, T. Possible presence of autoantibodies to zona pellucida in infertile women. *Experientia* 34: 797, 1978.
- 269.- Mori, T. A method for specific detection of autoantibodies to the zona pellucida of infertile women. *Fertil. Steril.* 32: 67, 1979.
- 270.- Moyer, D. and Mishell, D. Sperm distribution and degradation in the human female reproductive tract. *Obstet. Gynecol.* 35: 831, 1970.
- 271.- Mujica, A., Alonso, R. and Hernández, H. Electrophoretic patterns of total, nuclear and flagellar proteins from ejaculated human spermatozoa. *Int. J. Fertil.* 23: 112, 1978.
- 272.- Mumford, D. Immunity and male infertility. *Invest. Urol.* 16: 255, 1981.
- 273.- Mumford, D., Gordon, H. and Rosen, R. Incidence of lymphocytotoxins in vasectomy patients. A preliminary report. In *Control of male fertility*, Scieria, J. and Markland, G. -- (editors), pp. 196. Harper and Row, 1975.
- 274.- Nakabayashi, N., Tyler, R. and Tyler, A. Immunological aspects of human infertility. *Fertil. Steril.* 12: 544, 1961.

- 275.- Nayudu, P., Freeman, L. and Trounson, A. Zona pellucida antibodies in human sera. *J. Reprod. Fertil.* 65: 77, 1982.
- 276.- Naz, R.K. Inhibition of fertility in rabbits by monoclonal antibodies against sperm. *Biol. Reprod.* 28: 249, 1983.
- 277.- Nishimoto, T. Autoantibodies to zona pellucida in infertile and aged women. *Fertil. Steril.* 34: 552, 1980.
- 278.- Noda, Y. Characterization of glycoproteins isolated from porcine zona pellucida. *J. Reprod. Immunol.* 5: 161, 1983.
- 279.- Nordlander, C. Human leukocyte antigens group A in couples with unexplained infertility. *Fertil. Steril.* 40: 60, 1983
- 280.- Novak, E.R. *Tratado de Ginecología*. 9^a Ed., Editorial Interamericana, pp. 608-631. México, 1977.
- 281.- Noyes, R. Antibody binding of spermatozoa. *Fertil. Steril.* 20: 275, 1969.
- 282.- O'Brien, D. and Millette, C. Identification and immunochemical characterization of spermatogenic cell surface antigens that appear during early meiotic prophase. *Dev. Biol.* 101: 307, 1984.
- 283.- O'Hama, K. and Kadotani, T. Lymphocyte reaction in mixed wife-husband leucocyte cultures in relation to infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 9: 177, 1971.
- 284.- O'Moore, A., O'Moore, R. and Harrison, R. Psychosomatic aspects of idiopathic infertility. *J. Psychosom. Res.* 7: 145 1983.
- 285.- O'Rand, M. and Ivons, G. Monoclonal antibodies to rabbit sperm autoantigens. II. Inhibition of human sperm penetration of zona-free hamster eggs. *Biol. Reprod.* 30: 731, --- 1984.
- 286.- Parish, W. and Richards, C. The detection of antibodies to

- spermatozoa and to blood group antigens in cervical mucus. *J. Reprod. Fertil.* 13: 469, 1967.
- 287.- Paul, S. Enzyme-linked immunoabsorbent assays for sperm antibody detection and antigenic analysis. *J. Immunol. Methods.* 56: 199, 1982.
- 288.- Petrunia, D.M. A comparison of methods for screening for sperm antibodies in the serum of women with otherwise unexplained infertility. *Fertil. Steril.* 27: 655, 1976.
- 289.- Phadke, A. and Padukoni, K. Presence and significance of autoantibodies against spermatozoa in the blood of men with obstructed vas deferens. *J. Reprod. Fertil.* 7: 162, 1964.
- 290.- Ping, W. Sperm antibody activity in human fallopian tube fluid. *Fertil. Steril.* 32: 681, 1979.
- 291.- Popavinov, R., Evrev, T. and Ananiev, T. Adsorption of the seminal plasma blood group antigens on human spermatozoa. In; *Immunology of spermatozoa and fertilization*. Bratanov (editor), Bulgarian Academy of Sciences Press, pp. 121. Sofia, 1969.
- 292.- Poulsen, F. The nature of an isoantigen of the human sperm membrane. *J. Reprod. Immunol.* 5: 49, 1983.
- 293.- Poulsen, F. and Hjort, T. Identification of autoantigens of the human sperm membrane. *J. Clin. Lab. Immunol.* 6: 69 1981.
- 294.- Prakash, C., Coutinho, A. and Moller, G. Inhibition of in vitro immune responses by fraction from seminal plasma. *Scand. J. Immunol.* 5: 77, 1976.
- 295.- Prakash, C. and Lang, R. Studies on immune infertility: a hypothesis on the etiology of immune infertility based on

the biological role of seminal plasma immune response inhibitor. Mount Sinai J. Med. 47: 491, 1980.

- 296.- Price, R. The presence of complement in human cervical mucus and its possible relevance to infertility in women --- with complement-dependent sperm-immobilizing antibodies. - Fertil. Steril. 32: 81, 1979.
- 297.- Price, R. Possible mechanism of induction immunity to --- sperm in an infertile women: a case study. Fertil. Steril. 35: 583, 1981.
- 298.- Quesada, E., Duke, C. and Franklin, R. Genital infection - and sperm agglutinating antibodies in infertile men. J. -- Urol. 99: 106, 1968.
- 299.- Quinlivan, W.L. The specific antigens of human seminal -- plasma. Fertil. Steril. 20: 58, 1969.
- 300.- Quinlivan, W., Masouredis, S. Rh₀(D) antigenic content of human spermatozoa. Immunology 5: 267, 1962.
- 301.- Quinlivan, W. and Sullivan, H. The identity and origin of antigens in human semen. Fertil. Steril. 23: 873, 1972.
- 302.- Quinlivan, W. and Sullivan, H. Antispermatozoal effects of human seminal plasma- an immunologic phenomenon. Fertil. - Steril. 27: 1194, 1976.
- 303.- Quinlivan, W. and Sullivan, H. Spermatozoa antibodies in - human seminal plasma as a cause of failed artificial donor insemination. Fertil. Steril. 28: 1082, 1977.
- 304.- Ragni, G., Ruspa, M. and Baratini, G. Postcoital test in - subfertile men. Andrologia 15: 177, 1983.
- 305.- Rajgopal, R. and Rao, S. An enzyme-linked immunoabsorbent assay for the detection of antisperm antibodies. Indian J. Med. Res. 70: 440, 1979.

- 306.- Rao, S.S. Antigens of human spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 2: 204, 1961.
- 307.- Rao, S.S. and Stedronska, J. Mixed erythrocyte-spermatozoa antiglobulin reaction (MAR test) for the detection of antibodies against spermatozoa in infertile males. *J. Obstet. Gynecol.* 1: 59, 1980.
- 308.- Regueda, E., Charron, J. and Roberts, K. Fertilizing capacity and antisperm antibodies in vasovasostomized men. *Fertil. Steril.* 39: 197, 1983.
- 309.- Reynisk, J.V. Immunology of infertility. *Mt. Sinai J. Med.* 47: 491, 1980.
- 310.- Roberts, K. and Roettcher, E. Identification of human sperm coating antigen. *J. Reprod. Fertil.* 13: 347, 1969.
- 311.- Rodríguez-López, M. Esterilización biológica temporaria de la mujer. *Arch. Urug. Med.* 9: 373, 1936.
- 312.- Roitt, I.M. Essential immunology. 4 th Ed., Blackwell Scientific Publications, pp. 39-41. Oxford, 1980.
- 313.- Rose, N., Harper, M. and Rünke, P. Techniques for the detection of iso and autoantibodies to human spermatozoa. *Clin. Exp. Immunol.* 23: 175, 1976.
- 314.- Rünke, P. Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am. J. Clin. Path.* 32: 357, 1959.
- 315.- Rünke, P. The presence of sperm antibodies in the serum of two patients with oligospermia. *Vox Sang* 4: 135, 1959.
- 316.- Rünke, P. Sperm agglutinating autoantibodies in relation to male infertility. *Proc. Roy. Soc. Med.* 61: 275, 1968.
- 317.- Rünke, P. The origin of immunoglobulins in semen. *Clin. Exp. Immunol.* 17: 287, 1974.
- 318.- Rünke, P. Sterility: an immunologic disorder? *Clin. Obstet*

Gynecol. 20: 691, 1977.

- 319.- Rünke, P. and Hellings, G. Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am. J. Clin. Pathol.* 32: 367, 1959.
- 320.- Rünke, P., Messer, E. and Bezemer, P. Prognosis of fertility of men with spermagglutinins in the serum. *Fertil. -- Steril.* 25: 393, 1974.
- 321.- Sacco, A.G. Antigens of the rabbit ovary, oviduct and uterus. *J. Reprod. Fertil.* 23: 402, 1973.
- 322.- Sacco, A.G. Antigenic cross-reactivity between human and pig zona pellucida. *Biol. Reprod.* 16: 164, 1977.
- 323.- Sacco, A.G. Heteroimmunization with isolated pig zona pellucida. *J. Reprod. Fertil.* 51: 165, 1977.
- 324.- Sacco, A.G. Zona pellucida composition: species cross reactivity and contraceptive potential of antiserum to a purified pig zona antigen (FPZA). *Biol. Reprod.* 25: 997, 1981.
- 325.- Sacco, A.G. and Moghissi, K. Anti-zona pellucida activity in human sera. *Fertil. Steril.* 31: 503, 1979.
- 326.- Sacco, A.G. and Subramanian, M. Association of sperm receptor activity with a purified pig zona antigen (FPZA). *J. Reprod. Immunol.* 6: 89, 1984.
- 327.- Sarkar, S. Carbohydrate antigens of human sperm and auto-immune induction of infertility. *J. Reprod. Med.* 13: 93, 1974.
- 328.- Schulz, K., Schirren, G. and Kueppers, P. Allergy to seminal fluid. *N. Engl. J. Med.* 290: 916, 1974.
- 329.- Schumacher, G.F. Immunological factors in infertility. Antibodies against spermatozoa. *J. Reprod. Med.* 23: 272, 1979.
- 330.- Schwimmer, W. and Behrman, S. An evaluation of immunologic factors of infertility. *Fertil. Steril.* 18: 167, 1967.

- 331.- Schwimmer, W. and Ustay, K. Sperm agglutinating antibodies and decreased fertility in prostitutes. *Obstet. Gynecol.* - 30: 192, 1967.
- 332.- Shahani, S. and Southam, A. Immunofluorescence study of -- the ABO group antigens in human spermatozoa. *Am. J. Obstet Gynecol.* 84: 660, 1962.
- 333.- Shigeta, M. Sperm immobilizing monoclonal antibodies to hu man seminal plasma antigens. *Clin. Exp. Immunol.* 42: 453,- 1980.
- 334 - Shigeta, M., Koyama, K. and Isojima, S. Hybridoma produ--- cing monoclonal sperm immobilizing antibodies to human se--- minal plasma antigens. *Acta Obstet. Gynecol. Jpn.* 32: 965, 1980.
- 335.- Shivers, G.A. The zona pellucida as a possible target in -. immun contraception. In: *Immunological influence on human fertility*, Academic Press, pp. 13-24. Sydney, 1977.
- 336.- Shivers, G.A. and Dunbar, B. Autoantibodies to zona pel lu- cida as a possible cause for infertility in women. *Science* 197(4308): 1982, 1977.
- 337.- Shulman, J.P. Methylprednisolone treatment of immunologic infertility in the male. *Fertil. Steril.* 38: 591, 1982.
- 338.- Shulman, S. Immunity and infertility: a review. *Contracep- tion* 4: 135, 1971.
- 339.- Shulman, S. *Reproduction and antibody response*. CRC Press, pp. 154. Cleveland, 1975.
- 340.- Shulman, S. Treatment of immune male infertility with me--- thylprednisolone (letter). *Lancet* 2(7997): 1243, 1976.
- 341.- Shulman, S. Antisperm antibodies and fertility (letter). - *Lancet* 1(8223): 788, 1981.

- 342.- Shulman, S., Herlim, B. And Davis, P. Immune infertility - and new approaches to treatment. *Fertil. Steril.* 29: 309, 1978.
- 343.- Shulman, S., Mininberg, B. and Davis, J. Significance immunologic factors in male infertility. *J. Urol.* 119: 231, -- 1978.
- 344.- Sleipyan, P. Valoración y tratamiento ambulatorios de parejas infecundas. *Clin. Obstet. Ginecol.* 2: 533, 1979.
- 345.- Soffer, Y., Marcus, Z. and Bukovsky, I. Immunological factors and postcoital test in unexplained infertility. *Int. J. Fertil.* 21: 89, 1976.
- 346.- Soffer, Y., Marcus, Z. and Nebel, L. Reactions leucocytaires "in vitro" aux spermatozoides humains chez des femmes infertiles. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.* 5: 621, 1976.
- 347.- Soliman, H. and Olesen, H. Concentration of the secretory IgA of seminal fluid in normal subjects, in decreased fertility and aspermia. *Clin. Chim. Acta* 69: 543, 1976.
- 348.- Srivastava, P., Tandon, H. and Kumar, V. The antigenicity of the rabbit sperm, acrosomes and the reversible sterility induced in the immunized rabbits. *Gamete Research* 9: -- 239, 1984.
- 349.- Sudo, N., Shulman, S. and Stone, M. Sperm agglutination -- phenomenon in cervical mucus in vitro: a possible cause of infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 29: 360, 1977.
- 350.- Sullivan, H. and Quinlivan, W. Complement and antibody in self agglutinating human semen. *Fertil. Steril.* 25: 644, - 1974.
- 351.- Sullivan, H. and Quinlivan, W. Immunoglobulins in the semen of men with azoospermia, oligospermia or self-aggluti-

- nating of spermatozoa. *Fertil. Steril.* 34: 465, 1980.
- 352.- Sullivan, M. and Howe, G. Correlation of circulating anti-sperm antibodies to functional success in vasovasostomy. - *J. Urol.* 117: 189, 1977.
- 353.- Sung, J., Shizuya, H. and Black, D. A radiomicroassay for cytotoxic antibodies to human spermatozoa. *Clin. Exp. Immunol.* 27: 469, 1977.
- 354.- Suominen, J., Multamaku, S. and Djupsund, M. A new method for measurement of cytotoxic antibodies to human spermatozoa. *Arch. Androl.* 4: 257, 1980.
- 355.- Takai, I. Heteroimmunization with isolated human ova. *J. - Reprod. Fertil.* 61: 19, 1981.
- 356.- Takano, N., Maekawa, I. and Takamizawa, H. Ultrastructure of human cervical mucus observed by cryoscanning electron microscopy. *Fertil. Steril.* 32: 604, 1979.
- 357.- Telwar, G.P. Immunological control of male fertility. *Arch. Androl.* 7: 177, 1981.
- 358.- Tauber, P., Zaneveld, L. and Propping, D. Components of human sperm ejaculates: I. Spermatozoa, fructose, immunoglobulins, albumin, lactoferrin and other plasma proteins. *J. Reprod. Fertil.* 43: 249, 1975.
- 359.- Tarter, T. and Alexander, N. Genetic control of humoral immunity to sperm acrosomal and cell surface antigens. *J. Reprod. Immunol.* 6: 213, 1984.
- 360.- Tarter, T. and Anderson, D. Immunosuppressive activities of male accessory organ fluids. *Fed. Proc.* 39: 458, 1980.
- 361.- Taylor, R. and Manchee, R. Sperm absorption and sperm agglutination by mycoplasma. *Nature* 215: 484, 1967.
- 362.- Templeton, A. and Penney, G. The incidence, characteristics and prognosis of patients whose infertility is unex-

- plained. *Fertil. Steril.* 37: 175, 1982.
- 363.- Telang, M. Antibodies to sperm.VIII. Correlation of sperm antibody activity with postcoital test in infertile couples. *Int. J. Fertil.* 23: 200, 1978.
- 364.- Thorn, G. and Adams, R. Principles of internal medicine. - Mc Graw-Hill, pp. 251-254. USA, 1977.
- 365.- Tozzini, I.R. Esterilidad e infertilidad humanas. Editorial Médica Panamericana, pp. 376-389, 583-586, 604-606. - Argentina, 1978.
- 366.- Tredway, D. Significance of timing for the postcoital evaluation of cervical mucus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 121: -- 387, 1975.
- 367.- Tsunoda, Y. and Chang, M. Effects of antisera on fertilization of mouse, rat and hamster eggs. *Biol. Reprod.* 18: 468 1978.
- 368.- Tung, P.S. An objective sperm cytotoxicity assay for male-specific antisera based on ATP levels of unlysed cells: -- application to assay of H-Y antigen. *J. Reprod. Immunol.* - 4: 315, 1982.
- 369.- Tung, P.S. and Fritz, I. Autoimmune orchitis can be induced by thymic lymphocytes autosenitized against syngenic Sertoli cells in vitro. *Biol. Reprod.* 30: 979, 1984.
- 370.- Tung, K.S. Human sperm antigens and antisperm antibodies. *Clin. Exp. Immunol.* 29: 93, 1975.
- 371.- Tung, K.S. Immunobiological consequence of immunization of female mice with homologous spermatozoa. *J. Reprod. Immunol.* 1: 145, 1979.
- 372.- Tung, K.S., Cooke, W. and Robitaille, P. Human sperm antigens and antisperm antibodies. II. Age incidence of sperm

- antibodies. Clin. Exp. Immunol. 25: 73, 1976.
- 373.- Tyler, A., Tyler, E. and Denny, P. Concepts and experiments in immunoreproduction. Fertil. Steril. 18: 153, --- 1967.
- 374.- Uehling, D. Secretory IgA in seminal fluid. Fertil. Steril. 22: 769, 1971.
- 375.- Vaerman, J. and Férin, J. Local immunological response in the vagina, cervix and endometrium. Acta Endocrinol. suppl. 194: 281, 1978.
- 376.- Varkauf, B. S. The incidence and outcome of single factor, multifactorial and unexplained infertility. Am. J. Obstet. Gynecol. 147: 175, 1983.
- 377.- Velázquez, A. and Rosado, A. Cell polarography. I. Study - of the surface characteristics of human spermatozoa. Fertil. Steril. 23: 562, 1972.
- 378.- Voisin, G.A. and Toullet, F. Etude sur l'orchite aspermatogénétique autoimmune et les autoantigènes de spermatozoïdes chez le cobaye. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 114: 727, - 1968.
- 379.- Voisin, G.A., Toullet, F. and D'Almeida, M. Characterization of spermatozoal auto, iso and allo-antigens. Acta Endocrinol. suppl. 194: 173, 1975.
- 380.- Wall, J., David, R. and Lessof, M. Immunologic studies of male infertility. Fertil. Steril. 26: 1025, 1975.
- 381.- Weil, A. and Rodenburg, J. Immunological differentiation - of hematotesticular (spermatocele) and seminal spermatozoa. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 105: 43, 1960.
- 382.- Weil, A. The seminal vesicle as a source of the spermatozoa-coating antigen of seminal plasma. Proc. Soc. Exp. ---

Biol. Med. 109: 567, 1962.

- 383.- Wilson, L. Sperm agglutinins in human semen and blood. ---
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 85: 652, 1954.
- 384.- Witkin, S. Demonstration of IgG Fc receptors on spermatozoa and their utilization for the detection of circulating immune complexes in human serum. Clin. Exp. Immunol. 41: 441, 1980.
- 385.- Witkin, S. Demonstration of 11S IgA antibodies to sperm in human seminal fluid. Clin. Exp. Immunol. 44: 368, 1981.
- 386.- Witkin, S. IgA antibody to spermatozoa in seminal and prostatic fluids of a subfertile man. JAMA 247: 1014, 1982.
- 387.- Witkin, S. and Bongiovani, A. Detection and characterization of immune complexes in the circulation of infertile women. Fertil. Steril. 42: 384, 1984.
- 388.- Witkin, S. and Sonnabend, J. Immune responses to spermatozoa in homosexual men. Fertil. Steril. 39: 337, 1983.
- 389.- Witkin, S. and Sonnabend, J. Induction of antibody to asialo GM1 by spermatozoa and its occurrence in the sera of homosexual men with the acquired immune deficiency syndrome. (AIDS). Clin. Exp. Immunol. 54: 646, 1983.
- 390.- Witkin, S. and Toth, A. Relationship between genital tract infection, sperm antibodies in seminal fluid and infertility. Fertil. Steril. 40: 197, 1983.
- 391.- Wolf, D.P. Antibodies to sperm-associated antigens detected by solid phase assays. Biol. Reprod. 26: 140, 1982.
- 392.- Wolf, D.P., Sokoloski, J. and Dandekar, P. Characterization of human sperm surface antigens with monoclonal antibodies. Biol. Reprod. 29: 713, 1983.
- 393.- Wong, W. Sperm antibodies in the cervical mucus and sera -

- end postcoital test in infertile women. *Eur. J. Obstet. -- Gynecol. Biol. Reprod.* 8: 363, 1978.
- 394.- Yamagimachi, R. Sperm autoantigens and fertilization. *Biol Reprod.* 24: 512, 1981.
- 395.- Yang, S. and Schumacher, G. Immune responses after vaginal application of antigens in the rhesus monkey. *Fertil. Steril.* 32: 588, 1979.
- 396.- Young, I.G. Characterization of human sperm cell surface components. *Biol. Reprod.* 23: 826, 1980.
- 397.- Zanchetta, R. The enzyme-linked immunoabsorbent assay for detection of antisperm antibodies. *Fertil. Steril.* 38: 730 1982.
- 398.- Zárate, T.A. y Pérez, C.E. *Ginecología*. Editorial Méndez - Cervantes, pp. 303-317. México, 1982.

- and postcoital test in infertile women. *Eur. J. Obstet. -- Gynecol. Biol. Reprod.* 8: 363, 1978.
- 394.- Yamagimachi, R. Sperm autoantigens and fertilization. *Biol. Reprod.* 24: 512, 1981.
- 395.- Yang, S. and Schumacher, G. Immune responses after vaginal application of antigens in the rhesus monkey. *Fertil. Steril.* 32: 588, 1979.
- 396.- Young, I.G. Characterization of human sperm cell surface components. *Biol. Reprod.* 23: 826, 1980.
- 397.- Zanchetta, R. The enzyme-linked immunoabsorbent assay for detection of antisperm antibodies. *Fertil. Steril.* 38: 730 1982.
- 398.- Zárate, T.A. y Pérez, C.E. *Ginecología*. Editorial Méndez - Cervantes, pp. 303-317. México, 1982.