

## Incidencia de anticuerpos antiespermáticos en estudiantes universitarios

Ana María Montarroso M. Sc.  
Gabriela Arata de Bellabarba M. Sc.  
Nelia González de Moreno Lic.  
Walter Bishop MD.

### RESUMEN

Se estudió la prevalencia de anticuerpos séricos antiespermáticos, utilizando la técnica de inmunofluorescencia indirecta y la de microaglutinación, en muestras de suero provenientes de estudiantes de Medicina, niños prepúberes, prostitutas, hombres y mujeres de fertilidad probada y de la consulta de esterilidad; así como su relación con parámetros espermáticos y con la capacidad fecundante (TPOH). Se detectaron espermioaglutininas en título  $\geq 32$ , en el 6.8% de los hombres de la consulta de esterilidad y en el 2.6% de los varones y 3.3% de las mujeres estudiantes de medicina. Se detectaron títulos de anticuerpos antiespermáticos fluorescentes  $\geq 16$  en todos los grupos estudiados (5% a 21%). No se encontró correlación entre anticuerpos y alteración de los parámetros espermáticos. Sin embargo se observó una relación negativa entre títulos altos de espermioaglutininas y valores del TPOH.

**Palabras claves:** Anticuerpos antiespermáticos.

### SUMMARY

Serum samples from medical students and other patients groups were tested for the presence of antisperm antibodies by the microagglutination test (MAE) and indirect immunofluorescent (IFI) test and its correlation with spermatic parameters and the fertilizing capacity of these cells *in vitro* (TPOH). Tittles superior to 32 by MAE were

detected in 6.8% of men with fertility problems and in 2.6% of men and 3.5% women of the medical students group. Tittles 16 by IFI were found in all the studied groups. There was no relationship between presence of antisperm antibodies and sperm progressive motility of sperm plasmatic membrane integrity. However there was a negative relationship between high tittles of antisperm antibodies and TPOH values.

**Key words:** Antispermantibodies.

### INTRODUCCION

La esterilidad, definida como la falla de una pareja en concebir después de un año de coitos frecuentes no protegidos, no es un fenómeno aislado, ya que ocurre en un 10% a 15% de las parejas; de estos casos el 25% aproximadamente, no demuestran causa aparente, a pesar de exhaustivas pruebas clínicas y de laboratorio; siendo agrupadas colectivamente bajo la denominación de esterilidad no explicada. Sin descartar la posibilidad de que en pacientes con causas conocidas, los mecanismos inmunológicos puedan ser un factor contribuyente de mayor o menor peso, es en los casos de infertilidad inexplicada donde cobra un mayor significado la importancia potencial de una etiología inmune.

En los últimos 30 años, se ha acumulado numerosas evidencias sobre la generación de una respuesta inmune antiespermática en diversas situaciones experimentales y clínicas. La producción de auto o isoanticuerpos antiespermáticos puede, en función de su localización, clase, concentración, afinidad, especificidad, afectar negativamente la función reproductiva por bloqueo de uno o más eventos a nivel de la producción, maduración y capacitación del espermatozoi-

Laboratorio de Neuroendocrinología y Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Apartado 42, Mérida, Venezuela.

Este trabajo fue parcialmente sub-venicionado por el CDCHT-ULA.

de: "la fusión de los gametos" o el ulterior desarrollo y mantenimiento del embrión. Sin embargo, pese a la extensa investigación realizada en esta área, no existe hoy día consenso en relación a la importancia clínica de la respuesta inmune antiespermática ni se conoce la casuística en nuestro país.

Por consiguiente, los objetivos del presente estudio fueron: a) determinar la prevalencia de anticuerpos antiespermáticos séricos en una población estudiantil, potencialmente fértil; b) Establecer la posible correlación entre los anticuerpos antiespermáticos séricos y algunos parámetros de la función reproductora; c) Estandarizar una técnica sensible, sencilla, económica y de fácil ejecución para la detección clínica de anticuerpos antiespermáticos.

## MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 351 muestras procedentes de 116 hombres y 60 mujeres, estudiantes de medicina, con edades comprendidas entre 17 y 33 años, 29 hombres y 21 mujeres, procedentes de una consulta de esterilidad (20 a 45 años); de 28 hombres y 20 mujeres de fertilidad comprobada (20 a 42 años); de 33 prostitutas de la consulta de venereología del HULA (18 a 44 años), y de 44 prepúberes (6 a 10 años). Las muestras de suero se inactivaron a 56°C por 30 minutos y fueron mantenidas a -30°C hasta su utilización.

Como antígeno se utilizó un pool de espermatozoides. Los donantes seleccionados recolectaron la muestra de semen después de tres días de abstinencia sexual. El pool de espermatozoides móviles y libres de plasma seminal se obtuvo según la técnica de migración ascendente.

La prueba de microaglutinación espermática (MAE), se realizó según el método de Renton y col.<sup>9</sup> modificado. La microcámara de cultivo fue sustituida por láminas portaobjeto con áreas, delimitadas con pintura no tóxica, de 5 mm de diámetro, sobre las cuales se depositaron 9 µl de aceite mineral. Dentro de esta gota se colocaron 5 µl de la dilución respectiva de suero en medio Bigger Whiten Wittingham (BWW) a pH 7.6. Posteriormente se adicionó 1 µl de la solución de espermatozoides móviles ( $10 \times 10^6$ /ml) en BWW, incubándose en cámara húmeda a temperatura ambiente por 1 hora; al cabo de ese periodo se observó a 100X toda el área delimitada, considerándose como positiva toda muestra en la que se observaron más de tres aglutinados. En cada experimento, se incluyeron muestras de sueros positivos y negativos, así como diluyente sólo más espermatozoides, para excluir la aglutinación no específica.

La prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) se realizó según la técnica de Hiort y Hansen.<sup>10</sup> En todos los experimentos se utilizó el mismo pool de espermatozoides en buffer fosfato salina, pH 7.4 con 0.1% de azida de sodio. Se usó la fracción IgG1 de suero de

cabra anti-fracción Fc de las IgG, IgM e IgA humanas, de Laboratorios Cappel (Cochranville, CA). En cada experimento, se incluyeron muestras de sueros positivos y negativos y controles con solo el conjugado fluorescente o el diluyente para detectar fluorescencia inespecífica o la presencia de anticuerpos sobre los espermatozoides usados como antígenos. Se seleccionó como criterio de positividad, la presencia de fluorescencia en 25% o más de los espermatozoides de la muestra, determinándose en cada caso la ubicación de la fluorescencia sobre el espermatozoide.

Las muestras de semen obtenidas después de tres días de abstinencia sexual fueron analizadas según las indicaciones de la Organización Mundial de la Salud,<sup>12</sup> la prueba de integridad de la membrana plasmática o de respuesta hipoosmolar (TIM) según la técnica descrita por Yeyendran y col.<sup>13</sup> y la prueba de penetración del óvulo desnudo de hamster (TPOH) según la técnica descrita por Yanagimachi y col.<sup>14</sup>

## RESULTADOS

En experimentos preliminares, realizados en nuestro laboratorio, se demostró la variabilidad antigénica de los espermatozoides de diferentes donantes; por esta razón se utilizó un pool de espermatozoides provenientes de tres donantes previamente seleccionados. De esta forma se compensan las variaciones interindividuales de antígenos espermáticos, observándose un aumento importante en la sensibilidad de la técnica.

### *Prevalencia de espermaglutinas séricas en la muestra estudiada*

La presencia de espermaglutininas séricas en los grupos estudiados fue corroborada al menos en dos diferentes experimentos; los sueros positivos 1:10 fueron titulados por diluciones seriadas. Los resultados obtenidos, muestran un elevado porcentaje de negatividad en todos los grupos (73% a 97.7%), observándose títulos iguales o superiores a 16 sólo en el grupo de estudiantes de medicina y el de los hombres de la consulta de esterilidad. Los títulos más elevados se observaron en el grupo de hombres procedentes de la consulta de esterilidad (Tabla I).

### *Prevalencia de anticuerpos antiespermáticos detectados por IFI en la muestra estudiada*

La inmunofluorescencia indirecta reveló anticuerpos dirigidos contra al menos cinco antígenos localizados en diferentes áreas del espermatozoide: región acrosómica, postnuclear, cuello, pieza intermedia de la cola o punta de la cola. En ocasiones, toda la membrana citoplasmática se coloreó, no observamos tinción de la región nuclear con ninguno de los sueros. El porcentaje de espermatozoides teñidos en una muestra, varió en función del título del suero. Un 65% de los sueros investigados fueron positivos, con porcentajes de posi-

Tabla I  
PREVALENCIA DE ESPERMOAGLUTININAS SERICAS  
EN LAS MUESTRAS ESTUDIADAS

Titulos								
Muestra	Sexo	No. Total	Neg.	8	16	32	64	128
Consulta	M	29	23(79.3%)	3(10.3%)	1(3.4%)	—	1(3.4%)	1(3.4%)
Esterilidad	F	21	19(90.5%)	2(9.5%)	—	—	—	—
Fertilidad	M	28	23(82%)	3(10.7%)	2(7.1%)	—	—	—
Probada	F	20	18(90.0%)	2(10.0%)	—	—	—	—
Estudiantes	M	116	106(91.4%)	7(4.4%)	—	—	3(2.6%)	—
Medicina	F	60	44(73.3%)	6(10.0%)	8(13.3%)	—	2(3.3%)	—
Prepúberes	M + F	44	43(97.7%)	1(2.3%)	—	—	—	—
Prostitutas	F	33	28(87.8%)	5(15%)	—	—	—	—
Total		351	304(78.9%)	28(8.3%)	11(3.1%)	—	4(1.1%)	1(0.3%)

tividad por grupos entre 23% y 86%. El título más alto obtenido fue de 32, coincidentalmente en un individuo de la consulta de esterilidad con un título de aglutinación de 128. Sueros con títulos iguales o superiores a 8, fueron hallados en todos los grupos entre un 2% y un 21% (Tabla 2).

*Comparación de la prevalencia de anticuerpos antiespermáticos detectados por ambas técnicas en las muestras estudiadas*

Por espermoaglutinación, sólo se obtuvieron títulos elevados de anticuerpos antiespermáticos, superiores a 32, en los estudiantes de medicina (2.6% en las mujeres y 3.3% en los hombres) y en el grupo de varones de la consulta de esterilidad (6.6%), siendo negativos el resto de los grupos controles. Por el contrario títulos elevados de anticuerpos antiespermáti-

cos fluorescentes, iguales o superiores a 16, fueron detectados en todos los grupos estudiados (5% a 21%) (Tabla 3). El porcentaje de sueros totales positivos (títulos iguales o superiores a 8) por aglutinación fue del 13.4% mientras que por IFI fue del 65% sin embargo, el porcentaje de sueros positivos simultáneamente por ambas técnicas en todos los grupos fue del 3.4% (entre 0 a 5%) (Tabla 4).

*Relación entre anticuerpos espermáticos y parámetros seminales*

En la tabla 5 se muestra la distribución de títulos de anticuerpos antiespermáticos, detectados por ambas técnicas, en relación con la movilidad espermática progresiva y la integridad de la membrana plasmática. La presencia de altos títulos de anticuerpos antiespermáticos es compatible con una óptima movilidad es-

Tabla II  
PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTIESPERMATICOS SERICOS  
DETECTADOS POR INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA  
EN LA MUESTRAS ESTUDIADAS

Titulos					
Muestra	Sexo	No. total	Neg.	> 8	< 16
Consulta	M	29	4(13.8%)	19(65.5%)	6(20.7%)
Esterilidad	F	21	8(38.1%)	12(57.1%)	1(4.8%)
Fertilidad	M	28	8(28.6%)	18(64.3%)	2(7.1%)
Probada	F	20	7(35.0%)	10(50.0%)	3(15.0%)
Estudiantes	M	116	25(21.6%)	78(67.2%)	13(11.2%)
Medicina	F	60	24(40.0%)	29(48.3%)	7(11.7%)
Prepúberes	M + F	44	34(77.3%)	9(20.5%)	1(2.3%)
Prostitutas	F	33	12(36.4%)	15(45.5%)	6(18.2%)
Total		351	122(35.8%)	190(54.1%)	39(11.1%)

**Tabla III**  
PREVALENCIA DE TITULOS ELEVADOS DE ANTICUERPOS ANTIESPERMATICOS EN LAS MUESTRAS ESTUDIADAS

Muestra	Sexo	No. Total	ACS ** Aglutinantes (%)	ACS * Fluorescentes (%)
Consulta	M	29	6.8	20.7
Esterilidad	F	21	0.0	4.8
Fertilidad	M	28	0.0	7.1
Probada	F	20	0.0	15.0
Estudiantes	M	116	2.6	11.2
Medicina	F	60	3.3	11.7
Prepúberes	M + F	44	0.0	2.3
Prostitutas	F	33	0.0	18.2

\*\* Titulo >32

\* Titulo >6

permática o funcionalidad de la membrana. Asimismo, las alteraciones de cualquiera de estas dos funciones, no parecen estar asociadas a la presencia de anticuerpos antiespermáticos.

*Relación entre anticuerpos espermáticos séricos y penetración del óvulo de hamster*

La prueba de penetración del óvulo desnudo de hamster es un índice *in vitro* de la capacidad fertilizante del espermatozoide. La tabla 6, nos muestra los resultados de esta prueba realizada con espermatozoides de 26 individuos, en relación a la presencia simultánea de anticuerpos antiespermáticos. No se detectaron títulos de espermioaglutininas séricas, en individuos con valores óptimos de penetración, mientras que un 14.3% de los individuos con valores de penetración por debajo del 50% presentaron espermio-

glutininas con títulos iguales o superiores a 32. Sin embargo, la presencia de anticuerpos fluorescentes en títulos altos fue observada en un 32% de los individuos con valores de penetración óptima y sólo en un 14% de los individuos con valores por debajo del 50%.

**DISCUSION**

La reacción de aglutinación, es un fenómeno de superficie que se fundamenta en la interacción simultánea de un mismo anticuerpo con dos o más determinantes antigénicos en la membrana de células espermáticas distintas. La formación de espermioaglutinados depende por una parte de la concentración, clase y afinidad de los anticuerpos presentes y por otra parte, de la densidad y localización de los antígenos expuestos sobre la superficie del espermatozoide.

**Tabla IV**  
RELACION ENTRE LAS TECNICAS DE MICROAGLUTINACION E INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA EN LA DETECCION DE ANTICUERPOS ANTIESPERMATICOS

Muestra	Sexo	No.	MAE*	IFI*	MAE=IFI
Consulta	M	29	6(20.7%)	25(86.2%)	2(6.9%)
Esterilidad	F	21	2(9.5%)	13(61.9%)	0(0.0%)
Fertilidad	M	28	5(17.9%)	20(71.4%)	0(0.0%)
Probada	F	20	2(10.0%)	13(65.0%)	2(6.9%)
Estudiantes	M	116	10(8.6%)	91(78.4%)	5(4.3%)
Medicina	F	60	16(26.7%)	36(62.0%)	3(5.0%)
Prostitutas (Hula)	F	33	5(15.2%)	21(63.6%)	0(0.0%)
Prepúberes	M + F	44	1(2.3%)	10(22.7%)	0(0.0%)
Total		351	47(13.4%)	229(65.2%)	12(3.4%)

\*Titulo 8

Tabla V  
RELACION ENTRE ANTICUERPOS  
ESPERMATICOS SERICOS  
Y PARAMETROS SEMINALES

Parámetro	N	Espermoaglutininas (%)			Anticuerpos fluorescentes (%)			
		Neg.	≤16	≥32	Neg.	≤8	≥16	
Motilidad Espermática Progresiva	< 40%	26	96.2	0.0	3.8	7.7	73.1	19.2
	≥40%	75	82.7	12.0	4.0	20.0	65.3	14.7
	< 50%	27	96.3	0.0	3.7	14.8	59.3	25.9
TIM* (%)	≤50%	74	83.7	12.2	4.1	17.6	70.2	12.1

\* Test de integridad de la membrana plasmáticas.

Variaciones fisiológicas intraindividuales e interindividuales en la concentración de estos antígenos de cobertura, podrían modificar parcialmente la distribución de este mosaico antigénico, generando nuevos motivos y ocultando otros, explicando el hecho reportado por numerosos investigadores (independientemente de la técnica empleada) de "subpoblaciones" de espermatozoides no marcados.<sup>15-16</sup> Este hecho ha sido corroborado con el uso de anticuerpos monoclonales, los cuales permiten separar subpoblaciones definidas de espermatozoides de una misma muestra.<sup>17</sup> Esta variabilidad antigénica, introduce un factor de aleatoriedad en la detección de anticuerpos, la cual puede compensarse con el empleo de un "pool" de espermatozoides de distintos donantes.

El uso de la técnica de microaglutinación espermática en nuestros grupos de estudio, reveló un elevado porcentaje de sueros negativos: 89.5%, detectándose títulos bajos de espermoaglutinina en todos los grupos estudiados (2 a 12%), mientras que sólo se observaron títulos elevados en el 3% de los estudios de medicina y en el 6% de los varones de la consulta de esterilidad.

La comparación y análisis de los resultados de espermoaglutinación reportados en la literatura se dificulta

enormemente, debido en parte a las numerosas variantes metodológicas introducidas, y en particular a la disparidad de criterios utilizados en el uso de diluciones y en la determinación de la positividad de la prueba. Si comparamos nuestros resultados con estudios que utilizan diluciones y criterios semejantes a los empleados en este trabajo, nuestros porcentajes de títulos elevados concuerdan con los reportados en la literatura para hombres infértiles y para mujeres de fertilidad no probada.<sup>21-26</sup> Nuestros hallazgos de espermoaglutininas en títulos en el 3.3% de los estudiantes de medicina, pudiera deberse a la inducción de una respuesta inmune por ruptura de la barrera hematotesticular, inducida por infecciones venéreas, traumatismos o anomalías congénitas.<sup>21,27,28</sup> No se detectaron títulos elevados de espermoaglutininas en el suero de mujeres infértiles. Trabajos anteriores han reseñado títulos elevados en un 2% a 20% de mujeres con distintas causas y grados de infertilidad.<sup>29,30</sup> La falla en detectar espermoaglutininas en el suero de las mujeres procedentes de la consulta de esterilidad, tal vez pueda deberse al escaso número de pacientes estudiadas.

Tampoco encontramos títulos elevados de espermoaglutininas séricas en hombres y mujeres de fertili-

Tabla VI  
RELACION ENTRE ANTICUERPOS ANTIESPERMATICOS SERICOS  
Y LA PRUEBA DE PENETRACION DEL OVULO DE HAMSTER

TPOH*	N	Espermoaglutininas **			Ad Fluorecente**		
		Neg.	≤16	≥32	Neg.	≤8	≥16
< 50%	7	85.7	0.0	14.3	0.0	85.7	14.3
> 50%	19	84.2	15.8	0.0	21.1	47.7	31.6

\* Test de penetración del óvulo desnudo de Hamster.

\*\* Expresado en porcentaje

dad probada o en niños o niñas prepúberes en concordancia con lo reportado en la literatura.<sup>22-29, 33</sup> La observación frecuente de la poca fertilidad de las prostitutas y del probable incremento de exposición antigénica en este grupo, ha hecho proponer a algunos autores la hipótesis de infertilidad por causa inmunológica. Estos investigadores han reportado porcentajes de positividad en este grupo entre el 17% al 73%,<sup>26, 33, 34</sup> sin embargo la positividad a que se hace referencia en estos artículos, es obtenida con sueros no diluidos o con diluciones muy bajas ( $\leq 10$ ) y la exposición antigénica señalada en el grupo de prostitutas en uno de los trabajos,<sup>34</sup> no fue mayor que en el grupo de fertilidad probada. Por otra parte es posible que el incremento en la frecuencia del coito tenga mayor importancia a partir de un número mínimo que seguramente es alcanzado por otras mujeres. No conociendo los datos de fertilidad de nuestro grupo de prostitutas ni teniendo información acerca de sus métodos anticonceptivos, no podemos probar la hipótesis de infertilidad por causa inmunológica, sin embargo, si ésta fuera cierta, pudiera ser debida a una respuesta de tipo celular a anticuerpos citotóxicos u opsonicos, no aglutinantes, o a un incremento de infecciones genitales en este grupo las cuales pudiera promover la inducción de respuesta inmune.

En contraste con la espermoaglutinación, la inmunofluorescencia indirecta produjo un elevado porcentaje de sueros positivos (96%) y los títulos elevados, oscilaron entre un 2% para el grupo de niños prepúberes, hasta un 21% para el grupo de hombres de la consulta de esterilidad. Es de señalar que el único título de 32, fue obtenido en un hombre de la consulta de esterilidad el cual también mostró el título más elevado de espermoaglutininas. Nuestros resultados no discrepan de los reportados en la literatura. Positividad elevada (60% a 90%) en grupos similares a los aquí estudiados han sido observados por otros.<sup>10, 18, 19</sup> Así mismo, títulos altos son reportados en un 30% a 40% de hombres y mujeres infértiles,<sup>10, 15</sup> de niños prepúberes<sup>10, 18</sup> y un 7% de mujeres de fertilidad probada.<sup>16</sup>

A diferencia de la espermoaglutinación, la IFI utiliza espermatozoides lavados y fijados. El lavado puede remover o modificar la distribución de los antígenos de cobertura, exponiendo nuevos motivos antigénicos.<sup>17</sup> Los fijadores pueden destruir parcial o totalmente los determinantes antigénicos o insertar moléculas del fijador en glicoproteínas o glicolípidos de la membrana, enmascarando o alterando la estructura terciaria de éstas o haciendo accesibles determinantes adicionales, tanto membranales como intracelulares.<sup>17</sup> Estos cambios en la membrana del espermatozoide explican la baja especificidad de esta técnica bajo las condiciones comúnmente empleadas (anticuerpos policlonales, espermatozoides lavados, secados y fijados), ya que al alterarse la estructura e integridad de la

membrana pueden modificarse antígenos de superficie y exponerse antígenos intracelulares, generando falsos positivos por anticuerpos heterófilos.<sup>9, 18, 38</sup> Así mismo, justificaría las diferencias en sensibilidad entre esta técnica y la espermoaglutinación, tal como se reporta en este estudio y en la literatura.<sup>29, 34, 39</sup>

Los anticuerpos antiespermáticos pueden inducir la inmovilización de los espermatozoides o daños estructurales de la membrana citoplasmática del espermatozoide, por mecanismos de toxicidad mediada por anticuerpos.<sup>32, 39, 40</sup> Nuestros resultados no muestran relación entre la presencia de altos títulos de anticuerpos antiespermáticos séricos, detectados por aglutinación o inmunofluorescencia y alteraciones de la movilidad progresiva o de la integridad de la membrana plasmática. La presencia de anticuerpos séricos, no implica necesariamente la presencia de estos mismos anticuerpos en el plasma seminal o directamente sobre el espermatozoide. Usualmente la concentración de anticuerpos en el plasma seminal es 10 a 100 veces menor que en el suero,<sup>11, 12</sup> de tal modo que en la mayoría de los casos, la presencia de estos anticuerpos en plasma seminal o sobre el espermatozoide, sólo se detecta cuando existen simultáneamente concentraciones elevadas en el suero, lo cual no ocurrió en nuestro caso. Por otra parte, los anticuerpos detectados por estas técnicas no necesariamente tienen que exhibir, simultáneamente actividad citotóxica o inmovilizantes.<sup>25, 29, 39, 41</sup> Recientemente Menge y Beitner<sup>42</sup> corroboran nuestros resultados en un estudio de 754 parejas infértiles. Estos autores encuentran una asociación entre la presencia de espermoaglutininas séricas y disminución significativa de parámetros espermáticos (cuenta total, morfología, movilidad progresiva y penetración del moco cervical) sólo en títulos superiores a 256, los cuales están presentes sólo en el 5% aproximadamente de los hombres estudiados. Mientras que el mayor título observado en este estudio fue 128.

De las pruebas funcionales realizadas con los espermatozoides *in vitro*, la que mejor correlación guarda con su capacidad fertilizante, es la prueba de penetración del óvulo de hamster. Nuestros resultados sugieren que la presencia de altos títulos de espermoaglutininas séricas parece estar asociada con una capacidad disminuida de penetrar el óvulo de hamster. Esta sugerencia se ve reforzada por evidencias experimentales que demuestran que la exposición *in vivo* de espermatozoides a anticuerpos espermáticos, reduce su capacidad de penetración del óvulo de hamster<sup>43, 44</sup> así como evidencias clínicas que indican un bajo número de embarazos y un tiempo mayor para lograr el embarazo en parejas con títulos elevados de anticuerpos.<sup>45, 47</sup>

## REFERENCIAS

1. Hass GG, Beer AE. Immunological influences on reproductive biology: sperm gametogenesis and maturation in the males

- and female genital tracts. *Fertil Steril* 45: 753, 1986.
2. Marcuani-Leguizamo B, Almeida R. Role of the guinea-pig sperm autoantigens in capacitation and the acrosome reaction. *J Reprod Fertil* 77: 373, 1986.
  3. London SN, Haney AF, Weinberg JB. Macrophages and infertility: enhancement of human macrophage mediated sperm killing by antisperm antibodies. *Fertil Steril* 43: 274, 1985.
  4. Tung KSK, Okada A, Yanagimachi R. Sperm autoantigens and fertilization. I. Effects of antisperm autoantibodies on rouleaux formation, viability and acrosome reaction of guinea-pig spermatozoa. *Biol Rep* 23: 877, 1980.
  5. Price RJ, Boetcher B. The presence of complement in human cervical mucus and its possible relevance to infertility in woman with complement dependent sperm immobilizing antibodies. *Fertil Steril* 32: 61, 1979.
  6. Yanagimachi RJ, Okada A, Tung KSK. Sperm autoantigens and fertilization: effects of anti-Guinea pig sperm antibodies on sperm-ovum interaction. *Biol Reprod* 24: 512, 1981.
  7. London SN, Haney AF, Weinberg JB. Diverse humoral and cell mediated effects of antisperm antibodies on reproduction. *Fertil Steril* 41: 907, 1984.
  8. Haney AF, Misukonis MA, Weinberg J. Macrophages and infertility: oviductal macrophages as a potential mediators of infertility. *Fertil Steril* 39: 310, 1983.
  9. Renlon KA, Kay BW, van der Wall LA. A simple assay for human sperm agglutination antibodies. *Arch Androl* 8: 213, 1982.
  10. Hjord T, Hansen KB. Immunofluorescent studies on human spermatozoa. I: the detection of different spermatozoal antibodies and their occurrence in normal and infertile women. *Clin Exp Immunol* 8: 9, 1971.
  11. World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. Singapore Press Concern, 1980.
  12. Mackler A. The improved ten-micrometer chamber for rapid sperm count and mobility evaluation. *Fertil Steril* 33: 237, 1980.
  13. Yeyendran RS, van der Vent HH, Pérez M, Crabo BC, Zeneveld LDJ. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J Reprod Fertil* 10: 219, 1984.
  14. Yanagimachi R, Yanagimachi H, Rogers BJ. The use of zonai-free seminal ova as a test-system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol Reprod* 15: 417, 1976.
  15. Hackam A, Rumke PH. The antigens of human seminal plasma. *Arch Biochem Biophys* 127: 680, 1968.
  16. Mancini RE, Gutiérrez O, Fernández CE. Immunohistochemical localization of antigens in human spermatozoa. *Fertil Steril* 22: 475, 1986.
  17. Tezon JG, Ramell E, Cameo MS, Vázquez MH, Blaquier JA. Immunohistochemical localization of secretory antigens in the human epididymis and their association with spermatozoa. *Biol Reprod* 32: 591, 1985.
  18. Tung KSK, Cooke WD, McCarty TA, Robitaille P. Human sperm antigens and antisperm antibodies II age-related incidence of antisperm antibodies. *Clin Exp Immunol* 25: 73, 1976.
  19. Glassy MC, Surh CD, Sakar S. Murine monoclonal antibodies that identify antigenically distinct subpopulations of human sperm. *Hybridoma* 3: 363, 1984.
  20. Ingerslev HJ, Hjord T. Spermagglutinating antibodies and B-spermagglutinins in sera from fertile women. *Fertil Steril* 31: 496, 1979.
  21. Rumke PH, Hellinga G. Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am J Clin Path* 32: 357, 1959.
  22. Tung KSK. Human sperm antigens and antisperm antibodies III studies on acrosomal antigens. *Clin Exp Immunol* 24: 292, 1976.
  23. Franklin RR, Dukes CD. Antispermatozoal antibodies and unexplained infertility. *Amer J Obstet Gynecol* 89: 6, 1964.
  24. Runke PH. Autospermagglutinins: a cause of infertility in men. *Ann NY Acad Sci* 124: 696, 1965.
  25. Fjalibrant B. Immunoagglutination of sperm in cases of sterility. *Acta Obstet Gynecol Scandinav* 44: 474, 1965.
  26. Husted S, Hjord T. Microtechnique for simultaneous determination of immobilizing and cytotoxic sperm antibodies. *Clin Exp Immunol* 22: 256, 1975.
  27. Wilkinn SS, Toth A. Relationship between genital tract infections, sperm antibodies in seminal plasma fluid and infertility. *Fertil Steril* 40: 805, 1983.
  28. Hargreave TB, Torrance M, Young H, Harris AB. Isolation of ureaplasma urealyticum from seminal plasma in relation to sperm antibody levels and sperm motility. *Androl* 14: 223, 1982.
  29. Schwimmer WB, Ustay KA, Behrman SJ. An evaluation of immunological factors in infertility. *Fertil Steril* 18: 167, 1967.
  30. Petrunia DM, Taylor PJ, Watson IJ. A comparison of methods of screening for sperm antibodies in the serum of women with otherwise unexplained infertility. *Fertil Steril* 27: 655, 1976.
  31. Runke PH, Renckens GNM, Bezemer PD, van Amstel N. Prognosis of fertility in woman with unexplained infertility and sperm agglutinins in the serum. *Fertil Steril* 42: 561, 1984.
  32. Mazzoli A, Barrera C, Giudice GA, Andreotta AM, Elisoff N. Estudio inmunológico de hombres infértiles. *Medicina (Buenos Aires)* 43: 241, 1983.
  33. Rumke PH. Sperm agglutinating autoantibodies in relation to male infertility. *Proc Roy Soc Med* 61: 275, 1968.
  34. Kolodny RC, Koehler BC, Roro C, Masters WH. Sperm agglutinating aut antibodies and male infertility. *Obstet Gynecol* 38: 577, 1971.
  35. Schwimmer WB, Ustay KA, Behrman SJ. Sperm agglutinating antibodies and decreased fertility in prostitutes. *Obstet Gynecol* 30: 192, 1967.
  36. Fellkamp TEW, Kruyff K, Ladiges NCJ, Rumke PH. Antispermagglutinins: immunofluorescent studies. *Ann NY Acad Sci* 124: 702, 1965.
  37. Hellerna HWJ, Rumke P. Immune sperm agglutination are only spermatozoa involved? *Clin Exp Immunol* 31: 12, 1978.
  38. Villarroja S, Scholler R. Regional heterogeneity of human spermatozoa detected with monoclonal antibodies. *J Reprod Fertil* 76: 435, 1986.
  39. Baker GHW, Clarke GN, McGowan PM, Koh SH, Cauchi MN. Increased frequency of auto antibodies in men with sperm antibodies. *Fertil Steril* 43: 438, 1985.
  40. Fjalibrant B. Interrelation between high levels of sperm antibodies, reduced penetration of cervical mucus by spermatozoa and sterility in men. *Acta Obstet Gynecol Scandinav* 47: 102, 1968.
  41. Isojima S, Li ST, Ashakita Y. Immunological analysis of sperm immobilizing factor found in sera of women with unexplained sterility. *Amer J Obstet Gynecol* 101: 677, 1968.
  42. Kay R, Alexander NJ. Immunofluorescence titres of sperm centrifuged at different speeds. *Clin Exp Immunol* 31: 299, 1978.
  43. Ansbacher R. Sperm agglutinating and sperm immobilizing antibodies in vasectomized men. *Fertil Steril* 22: 629, 1971.
  44. Menge AC, Beiter O. Relationships between seminal parameters and antisperm antibodies. *Fertil Steril* 51: 486, 1989.
  45. Clarke GN, McBain JC, Johnston WIH. *In vitro* fertilization results for women with sperm antibodies in plasma and follicular fluid. *Amer J Reprod Immunol Microbiol* 8: 103, 1985.
  46. Croket ATK, Takihara H, Consentino MJ. Varicocele. *Fertil Steril* 41: 5, 1984.
  47. Ayvaliotis B, Bronson R, Rosenfeld D, Cooper G. Conception rates in couples where autoimmunity to sperm is detected. *Fertil Steril* 43: 739, 1985.