

ASPECTOS INMUNOLOGICOS EN LA INFERTILIDAD

REVISION

Helman Serrano

Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Apartado 526. Maracaibo, Venezuela.

RESUMEN

Se analiza en esta revisión, la situación actual de los conocimientos hasta ahora obtenidos en el área de la infertilidad humana con base etiopatogénica de tipo inmunológico.

El tema fué considerado y desarrollado sobre tres áreas importantes: a) mecanismos inmunopatogénicos; b) métodos de diagnóstico serológico; c) intentos de tratamientos hasta ahora utilizados.

Finalmente, se proyectaron los conocimientos actuales a las necesidades futuras de investigación.

I-INTRODUCCION

Si consideramos los diferentes elementos anatómicos y fisiológicos involucrados en la fertilización e implantación de los óvalos, podemos decir que teóricamente todas las células, los tejidos, hormonas y secreciones relacionadas con el proceso son potencialmente antigénicas y por lo tanto, capaces de provocar una reacción inmunológica que pudiera ser adversa al proceso de fecundación. Esta respuesta inmunológica podría ser un proceso de autoinmunización o de insoinmunización, si el material antigénico proviene del mismo individuo o de la pareja, respectivamente.

Establecida esta premisa, vamos a considerar en el siguiente orden: 1) los factores que intervienen en la inmunización con antígenos provenientes del sistema reproductor masculino, 2) los métodos de laboratorio para detectar estas respuestas, y 3) el significado clínico de los hallazgos realizados en parejas con problemas de infertilidad no explicada por causas conocidas (anatómicas, funcionales, endocrinas, genéticas, etc.).

II—INMUNOGENECIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES.

Los estudios experimentales en varias especies de animales (cobayo, ratón, conejo y ganado bovino) han demostrado convincentemente la capacidad que poseen los espermatozoides para provocar respuestas inmunológicas, celular o humoral (con producción local o sistémica de anticuerpos) y a través de distintas rutas (intradérmicas, sistémica, transvaginal) (6). Mediante métodos de inmunolectroforesis se han podido identificar hasta 30 antígenos diferentes en el semen humano (54,77), algunos de ellos, son específicos de espermatozoides o plasma seminal, y otros se hallan presentes también en otros órganos o tejidos humanos (12,57). Algunos antígenos específicos de espermatozoides se encuentran presentes en más de una especie (29).

El que el hombre pueda desarrollar infertilidad por reacciones de auto-inmunización contra sus propios espermatozoides se hizo evidente con los trabajos de Rümke (68), que descubrió la presencia de anticuerpos para espermatozoides en dos hombres infértiles. Posteriormente, Rümke (69) estudió miles de hombres estériles en los cuales demostró la presencia de estos anticuerpos en un título de 1:32 o mayor, en un 3% de ellos, mientras que ninguno de los hombres fértiles presentaban anticuerpos séricos a ese nivel de concentración. Posteriormente, Shulman (83) encontró que hombres que durante mucho tiempo eran infértiles, posteriormente se convertían en fértiles y aunque en ellos también se detectaban anticuerpos para espermatozoides, los tenían en concentraciones o títulos más bajos. Laurenti y colaboradores (53) estudiaron el caso de un joven de 19 años que había desarrollado una atrofia testicular por traumatismos, en el cual detectaron anticuerpos contra espermatozoides de tres clases: aglutinantes, inmovilizantes y citotóxicos tanto en el suero como en el plasma seminal del paciente. Después de la orquiectomía del testículo atrofiado, los anticuerpos disminuyeron progresivamente hasta desaparecer totalmente. Esto sugiere que la lesión testicular produjo una reacción inmunológica que perpetuaba y mantenía la lesión inflamatoria con una dispermia sobre el otro testículo no lesionado. La orquiectomía eliminó el estímulo antigénico y permitió la restauración fisiológica en el otro testículo.

III—INSOINMUNIZACION DEL SEXO FEMENINO CONTRA ANTIGENOS SEMINALES.

Franklin y Dukes (19, 20) reportaron por primera vez, que las mujeres

con infertilidad de causa inexplicable, frecuentemente producen anticuerpos para espermatozoides. Sin embargo, ya mucho antes, Meaker (57) había encontrado en el suero de 2 mujeres con infertilidad de causa desconocida, un factor sérico que era citolítico para los espermatozoides, y que en su reporte no fué catalogado o identificado como anticuerpo.

Los mecanismos involucrados en la inducción de infertilidad inmunológica pueden ser varios: 1) inmovilización de los espermatozoides, 2) muerte de los espermatozoides por reacciones de citotoxicidad, 3) interferencia con la migración de los espermatozoides, 4) aumento de la tasa de fagocitosis de los mismos por parte de los macrófagos y neutrófilos, 5) interferencia con el contacto óvulo-espermatozoide, 6) e interferencia en la penetración del óvulo por el espermatozoide (2).

Es posible que hayan factores coadyuvantes en la producción de anticuerpos para espermatozoides y que este efecto coadyuvante lo proporcionen antígenos extraños que tengan acceso al tracto genital femenino. Existen reportes que revelan una exagerada respuesta de anticuerpos a antígenos seminales, asociada a infecciones vaginales (23, 65).

En la mujer los mecanismos de respuesta inmunológica a antígenos seminales pueden ser de mayor importancia etiopatogénica cuando la producción de anticuerpos es local. El cuello uterino es el mayor sitio de actividad secretoral del tracto genital femenino. El cuello uterino está dotado de células plasmáticas que pueden secretar inmunoglobulina A, y también puede proporcionar mediante exudación IgG, IgM y algunos componentes del sistema del complemento (7, 8, 25, 95). Por otra parte, el semen posee efectos quimiotácticos sobre macrófagos y neutrófilos (97). Friedman y Shulman (24) se encontraron con que un 60-80 % de las mujeres estériles (de causa inexplicada) por ellos estudiadas, presentaban actividad de anticuerpos anti-espermatozoides en el moco cervical. Shulman y Stone (88) estudiaron 450 mujeres infértiles durante un periodo de 3 años. En ese grupo detectaron 12 mujeres que presentaban en el moco cervical anticuerpos para espermatozoides y de ellas 9 presentaban anticuerpos también en el suero, pero 3 de ellas solo lo tenían presente en el moco cervical, lo cual sugiere que es posible el desarrollo de anticuerpos localmente sin desarrollar una respuesta sistémica.

IV—AUTOINMUNIZACION LOCAL EN EL HOMBRE

También se ha estudiado el semen mismo para investigar la presencia de anticuerpos para espermatozoides. Se ha encontrado que muchos de los hombres (pero no todos) que presentaban actividad aglutinante en el suero, también la presentaban en el plasma seminal. En algunos casos, el título

lo de anticuerpos aglutinantes en el plasma seminal es más alto que en el suero y ello es indicio de una producción local de los anticuerpos (36). Sin embargo, en la mayoría de los casos, estos anticuerpos llegan al plasma seminal por trasudación y a veces, exudación, desde el suero sanguíneo. Friberg (22) demostró que la mayoría de los anticuerpos del plasma seminal son del tipo IgA y una pequeña fracción son del tipo IgG y nunca se encuentran del tipo IgM, se demostró que la concentración de IgG e IgA en el plasma seminal es aproximadamente el 1% de la concentración sérica.

También es posible, detectar anticuerpos adheridos a los espermatozoides, en el semen, aún sin que haya aglutinación de ellos, y esto ha podido ser demostrado por una técnica conocida como reacción mixta con antiglobulina (RMA) y la presencia de estos anticuerpos se correlaciona muy bien con los resultados de pruebas realizadas para detectar anticuerpos en el suero (33, 42). También se ha demostrado en hombres infértiles la presencia auto-anticuerpos para espermatozoides en el plasma seminal sin que pudieran detectar dichos anticuerpos en el suero indicando esto que en algunos casos pueden darse la circunstancia de una respuesta inmunitaria local en ausencia de una respuesta sistémica (59).

V— NATURALEZA Y SIGNIFICADO DE LOS ANTICUERPOS ANTIESPERMATOZOIDES.

En primer lugar, debemos aclarar, que la capacidad de aglutinante no siempre se debe a un anticuerpo. Así por ejemplo, la técnica denominada F—D (19, 20), que es una prueba de aglutinación que combinan el tubo con la lámina, puede detectar factores aglutinantes que no son anticuerpos. Boettcher y colaboradores (9) creyeron que estos factores aglutinantes estaban representados en una betalipoproteína, pero Ingerslev (37, 38) concluyó que la actividad aglutinante de esos factores no-anticuerpos residía en la fracción de beta-globulinas, y que posee un peso molecular de 600.000 y le dió el nombre de beta-espermaglutinina. También la prueba de aglutinación en placa o prueba de Friberg (21) puede originar aglutinaciones no-inmunológicas provocadas por ese factor beta-espermaglutinina.

En segundo lugar, consideremos la especificidad de las reacciones de aglutinación y de inmovilización de espermatozoides por anticuerpos. La reacción es específica de tejido, pero no está relacionada ni determinada por antígenos HL-A, que son específicos del individuo y por lo tanto los anticuerpos reaccionan con espermatozoides provenientes de individuos humanos diferentes (78). La actividad inmunológica del anticuerpo es pues

específica para el espermatozoide y aparentemente es específica de la especie humana.

En cuanto a los anticuerpos que producen inmovilización de espermatozoides (39) se encuentran tanto dentro de la clase IgG como dentro de la clase IgM de inmunoglobulinas (40, 41).

El antígeno sobre el cual actúa un tipo de anticuerpo inmovilizante, parece estar localizado en la membrana del acrosoma y la pieza media que le sigue al cuello del cuerpo del espermatozoide (72) y el anticuerpo ocasiona cambios en la integridad de la superficie y la permeabilidad de la membrana celular (72).

Los antígenos localizados en la pieza media y en la porción principal de la cola, originan anticuerpos aglutinantes y anticuerpos inmovilizantes que también parecen tener importancia en su relación con la infertilidad, tanto en hombres como en mujeres.

También se ha identificado en este grupo de personas infértiles un anticuerpo que posee actividad antinuclear, especialmente con actividad contra DNA (48).

Los anticuerpos identificados con actividad para los antígenos del plasma seminal no parecen tener relevancia alguna en la etiopatogenia de la infertilidad. Algunos de estos antígenos se adhieren al espermatozoide y pueden modificar su antigenicidad. Ejemplo de ello, lo es una beta-globulina que se origina en la vesícula seminal y que es idéntica inmunológicamente a la lactoferrina sérica y que puede servir para cubrir y enmascarar otros antígenos importantes en el espermatozoide.

En 1979, Menge y Black (58) reportaron que cuando un anticuerpo anti-espermatozoides humanos (obtenido por inmunización en conejos) con espermatozoides de humano, y luego se incubaban con óvulos de cobayos, libres de la zona pelúcida, los espermatozoides disminuían considerablemente su capacidad de penetración ovular (los óvulos de cobayo, desprovistos de zona pelúcida pueden ser penetrados por espermatozoides de otras especies). Esta fué la primera demostración experimental de que los anticuerpos pueden interferir en el proceso de fertilización de un óvulo. En 1980, Haas y colaboradores (26) reprodujeron el experimento usando suero humano de individuos infértiles, como fuente de anticuerpo, en lugar de suero de conejos inmunizados, indicando éste experimento que los espermatozoides humanos sufren interferencia de su capacidad de penetración ovular por efecto de anticuerpos contra espermatozoides.

VI— IMPORTANCIAS DE OTROS ANTIGENOS Y ANTICUERPOS EN EL PROBLEMA DE LA INFERTILIDAD HUMANA.

Aunque no existe clara evidencia que asocie la incompatibilidad ABO entre parejas con la infertilidad de la misma, es interesante observar que existe evidencia epidemiológica, incriminando la incompatibilidad ABO feto materno en la patogénesis de abortos espontáneos (93).

La posible relación de los antígenos HL—A al problema de la infertilidad no está todavía dilucidado. Stolp y colaboradores (91) reportaron una mayor incidencia de anticuerpos anti—HL—A en mujeres con infertilidad de causa inexplicable, pero otros estudios ofrecen resultados contradictorios (55).

Rizov y colaboradores (65) reportaron una alta incidencia de anticuerpos antinucleares en un grupo de mujeres infértiles y aunque los anticuerpos antinucleares están involucrados en la patogénesis de la infertilidad inmunológica en animales (45), su papel de infertilidad humana permanece todavía sin dilucidar.

Metz (60) reportó en 1973 la presencia de anticuerpos circulantes contra la hialuronidasa del espermatozoide en 3 mujeres, 2 de las cuales eran infértiles. Se necesitan más estudios para determinar el posible papel que pueden tener los anticuerpos contra las enzimas de los espermatozoides, como la hialuronidasa, la acrosina y la LDH—X.

Existen ahora, evidencias clínicas, bastantes persuasivas, de que algunos casos de insuficiencia ovárica, primaria y secundaria, pertenecen a un espectro de enfermedades autoinmunes en las cuales se encuentran involucradas glándulas endocrinas. Tales casos presentan autoanticuerpos que reaccionan contra la capa granulosa del ovario y las células de la teca interna, así como otras células productoras de esteroides como los testículos, adrenales y placenta (5, 67, 96).

En un estudio de Kolarov y colaboradores (47) se detectó actividad anti-gonadotropina en el 52% de 50 mujeres con síndrome de ovarios poliquísticos.

La zona pelúcida contiene antígenos específicos de células que son posibles causa de respuestas inmunológicas que pueden conducir a infertilidad (10, 74).

Los anticuerpos heterólogos producidos contra la zona pelúcida bloquean la adherencia de espermatozoides y la fertilización (75, 76).

VII— METODOS DE LABORATORIO PARA INVESTIGAR LA INFERTILIDAD, INMUNOLOGICA.

Una gran variedad de métodos han sido utilizados para detectar anti-

cuerpos anti-espermatozoides. La gran profusión de métodos también ha originado algo de confusión en relación al significado clínico de la presencia de dichos anticuerpos en los grupos estudiados por infertilidad sobre este aspecto hablaremos posteriormente.

Muchos de los problemas de estandarización han sido resueltos gracias al programa colaborativo internacional de la Organización Mundial de la Salud (66).

Entre los métodos clásicos o antiguos, los únicos verdaderamente confiables son los de aglutinación y el de inmovilización de espermatozoides.

La técnica de citotoxicidad desarrollada por Hammer Lynck y Rumke (28) es confiable pero muy engorrosa y difícil de manejar.

Otro procedimiento, el de inmunofluorescencia, (29, 30, 31, 34, 64) es de poca utilidad en trabajos de diagnóstico clínico, debido a que los anticuerpos normales que se desarrollan contra los antígenos internos de los espermatozoides en muchas personas fértiles, son fácilmente detectables mediante esta técnica, originando por lo tanto muchos resultados positivos falsos.

Las diferentes técnicas actuales estandarizadas y frecuentemente utilizadas están agrupadas en la Tabla I.

TABLA I

TECNICAS CLASICAS PARA DETECTAR ANTICUERPOS
PARA ESPERMATOZOIDES

VIEJA NOMENCLATURA	NUEVA NOMENCLATURA
Métodos de Aglutinación	
Kibrick	Prueba de aglutinación en gelatina
F-D	Prueba de aglutinación tubo-lámina
Friberg	Prueba de aglutinación en placa
Capilar	Prueba de aglutinación en tubo capilar
Lámina	Prueba de aglutinación en lámina
Método de Inmovilización	
Isojima	Prueba de inmovilización de espermatozoides

Pruebas de aglutinación.

Existen por lo menos 5 procedimientos basados en aglutinación de los espermatozoides por anticuerpos:

a) El Método de Kibrick (46), conocido como, la prueba de aglutinación en gelatina que se realiza en tubos de ensayo muy pequeños con gelatina como medio de soporte para la reacción. Es importante usar sueros diluidos al 1:4 por lo menos, para evitar resultados falsos positivos.

b) El Método F-D de Franklin y Dukes (19, 20) denominado ahora, prueba de aglutinación en tubo-lámina. La prueba necesita de espermatozoides con motilidad, los cuales son contados en un campo de 400X de aumento, y se reporta el porcentaje de espermatozoides aglutinados en relación al número total de espermatozoides contados en el campo. Se considera una prueba positiva si un suero diluido 1:4, da un porcentaje de aglutinación mayor que un 10%.

c) El Método de Friberg (21) usa microjeringas para mezclar sueros problemas con espermatozoides en una placa o batea, de las utilizadas para el tipaje de linfocitos. El método es más sensible que el método F-D, pero el procedimiento es más engorroso y necesita de un microscopio invertido y un semen que haya sido clarificado por un procedimiento previo. Este procedimiento permite distinguir muy bien las diferentes reacciones de aglutinación: cabeza-a-cabeza, cola-a-cola, punta de cola-a-punta de cola.

d) El Método capilar desarrollado por Shulman (84) tiene la ventaja de que no necesita de espermatozoides con motilidad, en contraste con los tres anteriores que sí lo precisan, y es tan sensible como el método de Kibrick ya que Dondero (14, 15) obtuvo resultados positivos en un 7.9% de 970 parejas infértiles y solamente el 1% de 102 parejas fértiles presentaban resultados positivos a la dilución del suero de 1:4.

e) La prueba de aglutinación en lámina es un simple procedimiento cualitativo en la cual se mezclan en un portaobjeto una gota de semen diluido con una gota de suero inactivado y diluido, dejándolos en incubación a 37 grados centígrados durante una hora para observar la presencia o ausencia de aglutinación. Esta prueba se utiliza generalmente para complementar la prueba de Kibrick o la prueba capilar.

La prueba de inmovilización desarrollada por Isojima (39, 40) es practicada mezclando el suero problema y los espermatozoides con motilidad en presencia de complemento. La prueba se considera positiva cuando el número de espermatozoides con motilidad es menos de la mitad de los espermatozoides con motilidad presente en una muestra de mezclas de semen que sirven de control y el conteo se hace al cabo de 1 hora de incubación. Esta prueba puede originar resultados falsos negativos, lo cual es una desventaja, al igual que los falsos positivos que se obtienen con las pruebas de aglutinación.

La Tabla II muestra la especificidad que para los diferentes antígenos somáticos del espermatozoide, muestran las diferentes técnicas discutidas.

TABLA II

ESPECIFICIDAD PARA ESPERMATOZOIDES EN LA MAYORIA DE LOS METODOS DE DETECCION DE ANTICUERPOS

ESPECIFICIDAD	AGLUTINACION EN GELATINA (KIBRICK)	AGLUTINACION EN TUBO -LAMINA (F-D)	AGLUTINACION EN PLACA (FRIBERG)	AGLUTINACION (ISOJIMA)
CABEZA -A -CABEZA	+	+++	++	+
COLA -A -COLA	++	-	++	+
PUNTA DE COLA -A PUNTA DE COLA	++	-	++	?

TABLA III

PRUEBAS DE PENETRABILIDAD DEL MOCO CERVICAL

IN VIVO:	PRUEBA DE POST-COITO (Sims-Hühner)
IN VITRO:	PRUEBA EN TUBO CAPITAL (Kremer)
	PRUEBA DE CONTACTO ENTRE ESPERMATOZOIDES Y MOCO CERVICAL, EN LAMINA (Kremer y Jaeger) (Prueba CEMC)

Métodos que involucran ambos miembros de la pareja (Ver Tabla III).

a) Prueba de Sims-Hühner o prueba post-coito. A pesar de sus limitaciones, y de su dependencia en múltiples factores, esta prueba puede servir de guía para decidir si es conveniente una investigación de anticuerpos anti-espermatozoides en el plasma seminal o en el moco cervical (61, 90). Por otra parte, está muy claro, que existe muy poca correlación entre el resultado de esta prueba y la presencia de anticuerpos circulantes en el suero, detectado por medio de las otras pruebas anteriormente mencionadas. En este método se determina el número de espermatozoides presentes en una muestra de moco obtenida del canal endocervical, 2-10 horas después del coito, y se debe precisar si los espermatozoides poseen motilidad o no, y si poseen motilidad, si progresan en su movimiento o si están estacionarios sin avanzar. Si la prueba es negativa, debe repetirse con una semana de abstinencia sexual y en el día que supuestamente debe ocurrir la ovulación, para que el moco cervical esté receptivo a la penetración de los espermatozoides, bajo la influencia de los estrógenos. La prueba post-coito, tiene una mejor correlación con la presencia de anticuerpos circulantes (anti-espermatozoides) en mujeres que en los hombres (94).

b) La prueba de Kremer (49) es una prueba realizada en tubo capilar, en la cual se estudia la capacidad de penetración de los espermatozoides al moco cervical *in vitro*, y esta prueba es la más popular de este último grupo de pruebas.

c) Kremer y Jaeger (50) describieron una variación a la técnica anterior la cual es realizada en lámina en donde se cuenta el porcentaje de espermatozoides que presentan movimientos de sacudidas al entrar en contacto con el moco cervical, clasificando los resultados de la siguiente manera:

Negativo: 0-25 espermatozoides con sacudidas; $1 \pm$: 26- 50% , $2 +$: 51- 75 %y $3 +$:76- 100%. De acuerdo con los autores del procedimiento un fenómeno positivo fuerte (3+) siempre significa la presencia de anticuerpos anti-espermatozoides en las secreciones genitales de la pareja y por lo tanto puede ser utilizado como método de descarte para detectar anticuerpos en el moco cervical y en el plasma seminal (52).

Nuevos Métodos.

Mathur (56) ideó una técnica donde combinó el procedimiento de hemaglutinación pasiva con una prueba de Coomb modificada usando extractos antigénicos de espermatozoides o plasma seminal. Los resultados con este método frecuentemente discrepan de los otros métodos citados anteriormente y todavía no ha sido completamente estandarizada. Haas y colaboradores (27) publicaron en 1980 un método que utiliza procedimientos de radioinmunoanálisis en el cual se incubaba una suspensión de espermatozoides diluídos y obtenidos de un donante, con plasma no diluído del paciente y luego de lavados sucesivos, se incubaban con anti-IgG humana marcada con I-125 y después de un nuevo lavado se cuenta la radioactividad presente sobre los espermatozoides. La técnica es más engorrosa, pero en sus resultados es comparable con el método de Kibrick por lo que dudamos que sea adaptada ampliamente. Sung y colaboradores (92) han utilizado actinomicina D marcada con un radioisótopo para micropruebas de citotoxicidad de espermatozoides. Este método todavía no está suficientemente evaluado ni comparado con los procedimientos clásicos. Alexander y Bearwood (3) desarrollaron un método de ensayo con inmunosorbentes ligados a enzimas ("ELISA") utilizando un antígeno soluble extraído de mezclas de espermatozoides humanos alogénicos, mediante tratamiento de los mismos con procedimientos de congelación-descongelación.

El método inmunoenzimático es rápido y sencillo para realizar en un laboratorio clínico, no necesita de espermatozoides frescos y detecta anticuerpos tanto en suero como plasma seminal y moco cervical. Comparado con las técnicas de aglutinación y de inmovilización, mostró superioridad en la sensibilidad para detectar anticuerpos relacionados con infertilidad; origina menos reacciones falsas positivas; tiene menos variabilidad y es más preciso. La mayor eficiencia de este método, posiblemente lo ha de convertir en una prueba de rutina en los laboratorios clínicos que investigan anticuerpos anti-espermatozoides.

Czuppon (11), desarrolló en el Laboratorio de Reproducción Humana, de la Universidad de Kiel, Alemania, una técnica de radioinmunoanálisis en fase sólida, utilizando antígenos solubles de membrana de espermatozoides y el isótopo I-125 acoplado a proteína A como medio de adherencia a la fase sólida. Este método no necesita de células vivas o intactas, pero tardará mucho en ser comercializado como el anterior.

VIII— INCIDENCIA Y SIGNIFICADO CLÍNICO DE LOS ANTICUERPOS ANTI-ESPERMATOZOIDES EN LOS ESTUDIOS DE INFERTILIDAD.

En general podemos decir que muchos estudios han demostrado que con una dilución apropiada del suero, se obtienen resultados positivos para anticuerpos antiespermatozoides con mucho más frecuencia en los grupos de población infértil que en los grupos fértiles.

En general, cuando se detectan anticuerpos para espermatozoides en los grupos de personas fértiles, los títulos séricos de los mismos son bajos. Sin embargo, las pruebas de laboratorios son de mayor significado clínico cuando se encuentran positivas para anticuerpos en pacientes femeninos con infertilidad de causa inexplicable y de larga duración, es decir, de más de 3 años (44).

Un hallazgo sorprendente e interesante es el estudio realizado por Jones (44) quien se encontró con una alta incidencia de abortos espontáneos en embarazos subsiguientes en pacientes que presentaban anticuerpos anti-espermatozoides.

Es indudable que se necesita más estudios para dilucidar la naturaleza de estos hallazgos, pero es posible que la incompatibilidad antigénica entre la pareja, originando una isoimmunización, tenga una relación casual con los abortos.

Dependiendo del tipo de población masculina estudiada, hasta un tercio de los hombres con anticuerpos para espermatozoides presentan también patología del tracto genital, actual o pasada, a saber: traumatismo, daño quirúrgico, prostatitis, epidemitis, orquitis y atrofia testicular post-infecciosa. Por otra parte, en hombres infértiles, sin lesiones orgánicas aparentes o detectables en la historia, presentan una buena correlación entre la presencia de anticuerpos anti-espermatozoides y auto-aglutinación de espermatozoides en el semen, o pobre motilidad celular o muy pobre penetración del moco cervical. Es posible por otra parte, que hombres fértiles poseyendo anticuerpos circulantes en el suero, presenten la circunstancia de que estos anticuerpos no llegan al plasma seminal en concentración suficiente para inferir con la eficacia de los espermatozoides.

Es digno de mencionar el hecho de que cuando se detectan anticuerpos citotóxicos para espermatozoides, dichos anticuerpos aparecen independientemente de los anticuerpos aglutinantes y tienden a correlacionarse mejor con la presencia de patología testicular (28).

Los anticuerpos detectados por inmunofluorescencia muestran una muy pobre correlación con los anticuerpos aglutinantes y ha quedado muy incierto la relación que puedan tener con la esterilidad (17).

Shulman y colaboradores (18) iniciaron en 1970 sus estudios para determinar la correlación que pudiera existir entre infertilidad y anticuerpos anti-espermatozoides y la Tabla IV muestra los resultados acumulados en 409 parejas infértiles, de las cuales un 90% habían sido referidas con el diagnóstico de esterilidad de causa inexplicable (81). El estudio arrojó un 9% de positividad en los hombres, mediante el método de Kibrick y un 5% usando el método F-D. La positividad de ambas pruebas fué mayor en las mujeres de las parejas infértiles. Otro estudio realizado por Shulman y colaboradores en 1978 (87) detectaron anticuerpos antiespermatozoides en una proporción variable del 15 - 18% de mujeres infértiles y en 5 - 9% de hombres infértiles. La incidencia de estos resultados es muy similar a los reportados por otros autores, como Fjällbrant (18), Hjort (34, 35), Hendry (32) y Dondero (13). De manera, que a pesar de las diferencias geográficas entre las poblaciones estudiadas (sueca, danesa, inglesa, italiana y americana) todos los cinco laboratorios han reportado entre un 8 y 10% de positividad en los hombres de parejas infértiles usando los métodos Kibrick o F-D.

TABLA IV
INCIDENCIA DE RESULTADOS POSITIVOS EN SUEROS DE
409 PAREJAS INFERTILES
(SHULMAN, 1975)

	Prueba de Aglutinación En Gelatina (Kibrick)		Prueba de Aglutinación Tubo-lámina (F-D)	
	Femenino	Masculino	Femenino	Masculino
Pacientes en cada grupo	409	381	389	347
Número de positivos	72	33	58	17
Porcentaje de positivos	17.6	8.7	14.9	4.9

En relación a los anticuerpos presentes en el semen, debemos decir que muy raramente se consiguen en el semen sin estar presentes en el suero de los hombres; por el contrario, la mujer parece producir una respuesta inmunológica local con bastante frecuencia y se pueden encontrar anticuerpos en el moco cervical sin que aparezcan en el suero, aunque la mayoría

de las mujeres que presentan anticuerpos en el suero, también los presentan en el moco cervical.

Shulman (80), se encontró en uno de sus estudios, con que el 28% de un grupo de mujeres infértiles que eran negativas en el suero, eran positivas en el moco cervical.

Moghissi y colaboradores (62) hallaron anticuerpos en el moco cervical del 26% de un grupo de mujeres infértiles y ninguna positividad en el grupo control; mientras que solo un 13% de las mujeres de ese grupo tenían anticuerpos en el suero.

IX— INMUNIDAD CELULAR HACIA ANTIGENOS TESTICULARES Y SEMINALES.

El — Alfi y Bessilli (16) estudiaron la inmunidad celular en 126 hombres infértiles por azoospermia y oligospermia no-obstructiva. Un 17% de ellos presentó respuesta linfoproliferativa ante antígenos seminales solubles. Un 38% de los que presentaron resultados positivos tenían una historia anterior de daño testicular orgánico.

Es evidente que se necesita mayor investigación en este campo, porque los trabajos hasta ahora reportados sobre inmunidad celular en hombres y mujeres no son concluyentes.

X— INDICACIONES PARA REALIZAR INVESTIGACIONES DE ANTICUERPOS ANTI-ESPERMATOZOIDES.

Esto depende de varios factores:

a) Si la prueba de Sims-Hüner es mala o negativa, es recomendable investigar anticuerpos anti-espermatozoides en el plasma seminal y en el moco cervical.

b) Si el semen muestra aglutinación espontánea de espermatozoides, está indicado investigar anticuerpos en el suero del individuo.

c) Si la motilidad de los espermatozoides está debajo de un 20% también debería investigarse la presencia de anticuerpos en el suero del individuo.

d) Una pareja infértil, cuya infertilidad haya durado más de un año y cuya causa no haya podido ser atribuida a factores endocrinos orgánicos u otros factores investigados, merece que se les investigue la posibilidad de presentar factores inmunológicos en su esterilidad. Sin embargo es preciso enfatizar los principios que deben regir en este tipo de investigación, a saber (66):

1. Investigar tanto el suero de la mujer como el suero del hombre.

2. Los sueros deben usarse diluidos por lo menos 1:4 para evitar resultados falsos positivos.

3. Deben utilizarse por lo menos dos métodos diferentes para investigar anticuerpos, por ejemplo el de Kibrick y el F-D simultáneamente.

4. Si la prueba de anticuerpos resultase positiva debe repetirse por lo menos una vez y probablemente dos veces más.

5. Para las pruebas de Kibrick y de F-D la cuenta de espermatozoides debe estar por encima de 50 millones por ml., y la motilidad por encima de un 50 - 60%.

6. Siempre debe incluirse un suero control positivo con un control negativo.

XI—PRONOSTICO Y TRATAMIENTO.

En general, existe una buena correlación entre la persistencia de la infertilidad y la presencia de títulos altos de anticuerpos anti-espermatozoides en hombres normospérmicos; al bajar el título de anticuerpos por debajo de 1:32 hay una tendencia a disminuir la incidencia de esterilidad (71).

Otra característica que puede influir en el pronóstico de hombres con anticuerpos anti-espermatozoides es la de anticuerpos en el plasma seminal, ya que títulos por encima de 1:32 disminuyen las probabilidades de fertilidad de cero (70).

En las mujeres con infertilidad de una duración menor a los tres años no se encuentra buena correlación entre la presencia de anticuerpos y la infertilidad misma (43), pero cuando el período de infertilidad es mayor a los 3 años, la tasa de fertilidad subsiguiente es solo de un 17% en mujeres con pruebas positivas para anticuerpos.

En cuanto al tratamiento de la infertilidad inmunológica podemos decir que los esfuerzos terapéuticos están dirigidos a tratar a las mujeres o al hombre de acuerdo a las circunstancias.

Tratamiento en la mujer.

1) **Uso del preservativo durante el coito.** Este método se basa en el principio de que si la mujer no tiene contacto con antígenos de los espermatozoides, el estímulo antigénico cesa y con el tiempo, el título y concentración de anticuerpos locales o sistémicos disminuyen (19, 20). La recomendación usual es que el hombre use preservativo un período de 12 meses, y cada tres meses, la mujer debe someterse a estudios de titulación

de anticuerpos antiespermatozoides. Si el título desciende en un 70-80% del valor inicial, se suspende el uso de preservativo durante tres días correspondientes al período ovulatorio y se sigue usando el resto del mes durante un período de 6 meses más. Si después de 12 meses de uso de preservativo no baja el título de anticuerpos, debe abandonarse este tipo de tratamiento.

2) **Inmunosupresión.** Shulman (85, 86) ha propiciado el uso metilprednisolona, a una dosis de 96 mg por día durante una semana, iniciándose el tratamiento alrededor del 21o. días del ciclo menstrual, ya que se necesitan unas tres semanas para obtener un efecto máximo. Shulman reportó un índice de éxito en un 14% de un grupo de 7 mujeres así tratadas (86). Es evidente que se necesitan series de tratamientos con mayor número de pacientes para poder sacar conclusiones valederas y poder decir si este régimen es o no de valor terapéutico.

3) **Inseminación intrauterina.** Se basa este tipo de tratamiento en el hecho de que la presencia de anticuerpos anti-espermatozoides en el moco cervical puede ocasionar una pobre penetración de los espermatozoides a través del canal cervical; esta barrera puede saltarse mediante la inseminación directa en la cavidad uterina.

Krem y colaboradores (51) reportaron 4 embarazos en 20 pacientes así tratados (20% de efectividad) y ellos recomiendan que si la inseminación falla en fecundar, debe seguirse repitiendo durante seis meses. También, con este tipo de régimen, se necesitan estudios bien controlados para establecer la validez y utilidad del tratamiento.

Tratamiento en el hombre.

1) **Inmunosupresión.** Shulman y colaboradores (79) utilizando el mismo esquema de dosis usada para las mujeres, obtuvo un índice de éxito de un 22% en un grupo de 18 hombres tratados con metilprednisolona en 1977; posteriormente reportó una tasa de fertilidad del 35% en otro grupo de 30 hombres tratados (86).

Posteriormente, cambió sus recomendaciones originales, por la administración de 96 mg diarios de metilprednisolona durante una semana a intervalos de cada 4 semanas, por un total de 3 sesiones de tratamientos (82). Otros estudios realizados por Alexander y colaboradores (4) mejoraron la tasa de embarazos a un 45% administrando tratamiento con prednisona a la pareja infértil. Shulman y Shulman (89) obtuvieron un éxito de un 44% usando metilprednisolona en el tratamiento de pacientes masculinos.

2) **Supresión hormonal de la espermatogénesis.** Este tratamiento se basa en la hipótesis de que los anticuerpos antiespermatozoides se forman por el estímulo antigénico, que representa la resorción de espermatozoides, y que al suprimir la fuente de antígenos se lograría disminuir la tasa de

producción de anticuerpos. Este método fué propiciado por Schoysman (73). Sin embargo, este régimen no dió resultados favorables en manos de Rümke y colaboradores (70) y desde entonces cayó en desuso.

3) **Inseminación con espermatozoides lavados.** Shulman y colaboradores (85) describieron el método fundamentándose en que el lavado eliminaría los anticuerpos existentes en el plasma seminal. De 7 parejas tratadas con este método se obtuvo un embarazo. Este método igualmente necesita de una mejor evaluación y por supuesto estaría indicado para aquellas parejas en la cual el hombre presenta anticuerpos anti-espermatozoides en el plasma seminal. Finalmente, Ackerman y colaboradores (1) han sugerido recurrir a métodos de fertilización *in vitro*. Pero aún con este método, no se elimina la posibilidad de que los anticuerpos anti-espermatozoides no interfieran en el proceso de fertilización *in vitro*, como les ocurrió a los investigadores Pexieder y colaboradores (63).

XVI PROSPECTOS FUTUROS Y CONCLUSIONES.

1. Es preciso mejorar las técnicas de investigación de anticuerpos para disminuir la incidencia de falsos positivos y falsos negativos.

2. Es necesario determinar cuál o cuáles anticuerpos son los directamente relacionados con el problema de la infertilidad humana.

3. Es recomendable investigar otros posibles mecanismos inmunológicos inductores de infertilidad, a saber, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, citotoxicidad de espermatozoides inducida por linfocinas.

4. Debemos obtener antígenos solubles purificados y estandarizados a partir de espermatozoides y que puedan ser utilizados en técnicas de radioinmunoanálisis (RIA) y de inmunoanálisis con enzimas (ELISA) con fines diagnóstico, sin que sea necesario como hasta ahora, tener cada día un donante de semen fresco disponible para el laboratorio diagnóstico.

5. Es preciso mejorar y simplificar las técnicas de solubilización del moco cervical para el estudio de anticuerpos locales.

6. Es recomendable organizar programas de tratamiento bajo buenos controles que permitan evaluar los métodos hasta ahora utilizados.

7. Es necesario conocer mejor los mecanismos inmunopatogénicos involucrados en la infertilidad humana.

ABSTRACT

Immunological Aspects of Infertility. Serrano Helman (Facultad de Medicina Universidad del Zulia, Apartado 526, Maracaibo, Venezuela) Invest.

Clin 27 (4):259-284, 1986. The author reviews the current status and knowledge in the area of human infertility with an immunopathogenic basis. Three areas were reviewed: a) Immunologic mechanisms; b) Serological methods in diagnosis; and c) Treatment trials so far used. Finally, the future prospects and needs of investigation were considered.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ACKERMAN, S.B., GRAFF, D., VAN VERN, J.F.H.M., SWANSON, R.J., NEECK, L.L., ACOSTA, A.A., GARCIA, J.E.: Immunologic infertility and *in vitro* fertilization. Fertil. Steril. 42: 474-480, 1984.
- 2- ALEXANDER, N.J.: Antibodies to human spermatozoa impede sperm penetration of cervical mucus or hamster eggs. Fertil. Steril. 41: 433-439, 1984.
- 3- ALEXANDER, N.J., BEARWOOD, D.: An immunosortition assay for antibodies to spermatozoa: Comparison with agglutination and immobilization tests. Fertil. Steril. 41: 270-276, 1984.
- 4- ALEXANDER, N.J., SAMPSON, J.H., FULGHAN, D.L.: Pregnancy rates in patients treated for antisperm antibodies with prednisone. Int. J. Fertil. 28: 63-70, 1983.
- 5- ANDERSON, J.R., GOUDIE, R.B., GRAY, K. STUART-SMITH, D.-A.: Immunological features of idiopathic Addison's disease: an antibody to cells producing steroid hormones. Clin. Exp. Immunol. 3: 107-117, 1968.
- 6- BEHRMAN, S.J., MENGE, A.C.: Immunologic aspects of reproduction. In: "Human reproduction: Conception and Contraception", p. 237-256. E.S.E. Hafez and T.N. Evans, (eds.), Harper and Row, New York, 1973.
- 7- BEHRMAN, S.J. LIEBERMAN, M.E.: Biosynthesis of immunoglobulins in the human cervix. In: "The biology of cervix", p. 235-249. R. J. Blandau and M. Moghissi, (eds.). University of Chicago Press, Chicago, 1973.
- 8- BEIER, H.M. BEIER-HELLWIG, K.: Specific secretory protein of the female genital tract. Acta Endocr. (Kbh.) Suppl. 180: 404-425, 1973.
- 9- BOETTCHER, B., HAY, J., KAY, D.J., BALDO, B.A. ROBERTS, T. K.: Spermagglutinating activity in some human sera. Int. J. Fertil. 15: 143-157, 1970.
- 10- BOETTCHER, B., HJORT, T., RUMKE, P., SHULMAN, S., VEA-

- ZON, O.: Auto-and isoantibodies to antigens of the human reproductive system. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. C., Suppl.* 258: 151-157, 1977.
11. CZUPPON, A.B.: A new solid phase immunoassay for the diagnosis of immunological infertility cases. In: *Proceedings of Biochemische Analytik*, p.p. 728-729, D.A. Mueller. (ed.), Springer - Verlag, Berlin, 1984.
 - 12- DE FAZIO, S.R. KETCHEL, M.M.: The occurrence of seminal plasma antigens in the tissues of woman. *J. Reprod. Fertil.* 30: 125-131, 1972.
 - 13- DONDERO, F., BONIFACIO, V. ISIDRI, A.: Results with Shulman and Hekman's capillary method in the detection of spermagglutinins in man. *Panminerva Med.* 16: 115-117, 1974.
 - 14- DONDERO, F., BONIFACIO, V. SCHIAVO, B.: Antiespermatozoa antibodies. II. Spermagglutinating antibodies in the blood serum of infertile men. *Folia Endocrin.* 27: 650-653, 1974.
 - 15- DONDERO, F., Specific spermagglutinins: their detection and significance. *Folia Allergol. Immunol. Clin.* 22: 256-270, 1975.
 - 16- EL ALFI, O.S. BASSILI, F.: Immunological aspermatogenesis in man. I. Blastoid transformation of lymphocytes in response to seminal antigen in cases of non-obstructive azoospermia. *J. Reprod. Fertil.* 21: 23-28, 1970.
 - 17- FELTKAMP, T.E.W., KRUYFF, K., LADIGES, N.C.J.J. RUMKE, P.: Autospermagglutinins: Immunofluorescence studies. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 124: 702-708, 1965.
 - 18- FJALLBRANT, B.: Incidence of sperm antibodies in males with regard to age. In: "Immunology in obstetrics and gynecology" p. 36-40. A. Cantaro and N. Carretti, (eds.), *Excerpta Medica*, Amsterdam, 1974.
 - 19- FRANKLIN, R.R. DUKES, D.C.: Antispermatozoal antibody and unexplained infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 89: 6-9, 1964.
 - 20- FRANKLIN, R.R. DUKES, D.C.: Further studies on spermagglutinating antibody and unexplained infertility. *J.A.M.A.* 190: 682-683, 1964.
 - 21- FRIBERG, J.: A simple and sensitive method for demonstration of sperm-agglutinating antibodies in serum from infertile men and women. *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.* 36: 21-29, 1974.

- 22- FRIBERG, J.: Spermagglutinating antibodies and immunoglobulins G and A in stored human seminal fluid. *Acta Obstet, Gynecol. Scand. Suppl.* 36: 9-12, 1974.
- 23- FRIBERG, J. GNARPE, H.: Mycoplasma and human reproductive failure. III. Pregnancies in "infertile" couples treated with doxycycline for T-mycoplasmas. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 116: 23-26, 1973.
- 24- FRIEDMAN, R. SHULMAN, S.: Human cervical mucus and antibodies to spermatozoa. *Fed. Proc.* 33: 814, 1974.
- 25- GOVERS, J. GIRARD, J.P.: Some immunological properties of human cervical and vaginal secretions. *Gynec. Invest.* 3: 184-194, 1972.
- 26- HAAS, G.G., Jr., SOKOLOSKI, J.E., WOLF, D.P.: The interfering effect of human IgG antisperm antibodies on human sperm penetration of zona-free hamster eggs. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1: 40, 1980.
- 27- HAAS, G.G., Jr. CINES, D.B. SCHREIBER, A.D.: Immunologic infertility: Identification of patients with antisperm antibodies. *N. Engl. J. Med.* 303: 722-725, 1980.
- 28- HAMERLYNCK, J.V. RUMKE, P.: A test for the detection of cytotoxic antibodies to spermatozoa in man. *J. Reprod. Fertil.* 17: 191-194, 1968.
- 29- HANSEN, K.B.: Immunofluorescence studies on mammalian spermatozoa: Antigenic relationship between human, bull and rabbit spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 29: 19-28, 1972.
- 30- HANSEN, K.B.: Immunofluorescent studies on human spermatozoa. III. Immunoglobulin classes on human spermatozoal antibodies. *Clin. Exp. Immunol.* 10: 243-249, 1972.
- 31- HANSEN, K.B. HJRI, T.: Immunofluorescent studies on human spermatozoa. II. Characterization of spermatozoal antigens and their occurrence from the male partners of infertile couples. *Clin. Exp. Immunol.* 9: 21-31, 1971.
- 32- HENDRY, W.F., MORGAN, H. STEDRONSKA, J.: The clinical significance of antisperm antibodies in male subfertility. *Br. J. Urol.* 49: 757-760, 1977.
- 33- HENDRY, W.F. STEDRONSKA, J.: Mixed erythrocyte spermatozoa antiglobulin reaction (MAR test) for the detection of antibodies

against spermatozoa in infertile males. *J. Obstet. Gynecol.* 1: 59-63, 1980.

- 34- HJORT, T. HANSEN, K.B.: Immunofluorescent studies on human spermatozoa. I. The detection of different spermatozoal antibodies and their occurrence in normal and infertile women. *Clin. Exp. Immunol.* 8: 9-23, 1971.
- 35- HJORT, T. HUSTED, S.: Autoimmunity to sperm. *Proc. R. Soc. Med.* 68: 253-254, 1975.
- 36- HUSTED, S., HJORT, T.: Sperm antibodies in serum and seminal plasma. *Int. J. Fertil.* 20: 97-101, 1975.
- 37- INGERSLEV, H.J.: Characterization of sperm agglutinins in sera from infertile women. *Int. J. Fertil.* 24: 1-6, 1979.
- 38- INGERSLEV, H.J.: Hort, T.: Spermagglutinating antibodies and beta-spermagglutinins sera from infertile and fertile women. *Fertil. Steril.* 31: 496, 1979.
- 39- ISOJIMA, S., LI, T.S. ASHITAKA, Y.: Immunologic analysis of sperm-immobilizing factor found in sera from women with unexplained sterility. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 101: 677-683, 1968.
- 40- ISOJIMA, S., LI, T.S. ASHITAKA, Y.: Further studies on sperm-immobilizing antibody found in sera of unexplained cases of sterility in woman. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 112: 199-210, 1972.
- 41- ISOJIMA, S.: Further studies on sperm immobilizing antibody found in sera of unexplained sterile women. In: "Immunology of Reproduction". p. 360-366. K. Bratanov, R.G. Edwards, V.H. Vulchanov, V. Dikov and B. Somlev, (eds.), Bulgarian Acad. Sci. Press, Sofia, 1973.
- 42- JAGER, S., KREMER, J., van SLOCHTEREN-DRAAISMA, T.: A simple method of screening for antisperm antibodies in the human male. Detection of spermatozoal surface IgG with the direct mixed anti-globulin reaction carried out on untreated fresh semen. *Int. J. Fertil.* 23: 12-29, 1978.
- 43- JONES, W.R.: The use of antibodies developed by infertile women to identify relevant antigens. In: "Immunological Approaches to Fertility Control", p. 376-390, E. Dicfalusy, (ed.), Stockholm Institutet, Stockholm, 1974.
- 44- JONES, W.R.: Immunological aspects of infertility. In: "Immunology of human reproduction", P. 375-413, J.S. Scott and W.R. Jones,

(eds.), Academic Press, London, Grune & Stratton, New York, 1976.

- 45- KATSH, S. KATSH, G.F.: Antigenicity of spermatozoa. *Fertil. Steril.* 12: 522-537, 1961.
- 46- KIBRICK, S., BELDING, D.L. MERRIL, B.: Methods for the detection of antibodies against mamalian spermatozoa. II. A gelatin agglutination test. *Fertil. Steril.* 3: 430-441, 1952.
- 47- KOLAROV, P., Dokumov S., PANAYATOR, D., SPASOV, S.: Antigonadotrophins in some reproductive disorders in man. In: "Immunology of reproduction", P. 660-675, K. Bratanov, R.G. Edwards, V.H. Vulchanov, V. Dikov and B. Somlev, (eds.), Bulgarian Acad. Sci. Press, Sofia, 1973.
- 48- KOLK, A.H.J., SAMUEL, T. RUMKE, P.: Autoantigens of human spermatozoa. *Clin. Exp. Immunol.* 16: 63-74. 1974.
- 49- KREMER, J.: A simple sperm penetration test. *Int. J. Fertil.* 10: 209-215, 1965.
- 50- KREMER, J. JAGER, S.: The interaction between sperm and cervical mucus in couples with anti-sperm antibodies. In: "Mucus in Health and Disease", p. 387-401, M. Elstein D.V. Parke, (eds.), Plenum Press, New York and London, 1977.
- 51- KREMER, J., JAGER, S. KUIKEN, J.: The clinical significance of antibodies to spermatozoa. In: "Immunological Influence of human fertility" p. 47-66, B. Boettcher, (ed.), Academic Press, Sidney, 1977.
- 52- KREMER, J., JAGER, S., KUIKEN, J. van SLOECHTEREN DRA-AISMA, T.: Recent advances in diagnosis and treatment of infertility due to antisperm antibodies. In: "Spermatozoa Antibodies and Infertility", p. 117-127, J. Cohen and W.F. Hendry, (eds.), Blackwell Scientific Publications, Oxford and London, 1978.
- 53- LAURENTI, C., FAGIOLI, A., LENZI, A., DONDERO, F.: Antisperm antibodies in a case of secondary unilateral testicular atrophy. *Br. J. Urol.* 50: 352, 1978.
- 54- LI, T.S. BEHRMAN, S.J.: The sperm-and seminal plasma-specific antigens of human semen. *Fertil. and Steril.* 21: 565-573, 1970.
- 55- LINDBLOM, J.B. FRIBERG, J., HOGMAN, C.F. GEMZELL, C.: HL-A haplotypes and unexplained infertility. *Tissue Antigens* 2: 352-358, 1972.

- 56- MATHUR, S.: Application of passive hemagglutination for evaluation of antisperm antibodies and a modified Coomb's test for detecting male autoimmunity to sperm antigens. *J. Immunol. Methods* 30: 381-398, 1979.
- 57- MEAKER, S.R.: Some aspects of the problem of sterility. *Boston Med. Surg. J.* 187: 535-537, 1922.
- 58- MENGE, A.C. BLACK, C.S.: Effects of antisera on human sperm penetration of zona-free hamster ova. *Fertil. Steril.* 32: 214-219, 1979.
- 59- MENGE, A.C., MEDLEY, N.E., MANGIONE, C.M. DIETRICH, J.W.: The incidence and influence of antisperm antibodies in infertile human couples on sperm cervical mucus interactions and subsequent fertility. *Fertil. Steril.* 38: 439-450, 1982.
- 60- METZ, C.B.: Role of specific sperm antigens in fertilization. *Fed. Proc.* 32: 2057-2058, 1973.
- 61- MOGHISSI, K.: Significance and prognostic value of post coital test. In: "The uterine cervix in reproduction", p. 231-238. V. Insler and G. Bettendorf, (eds.), Geo. Thieme, Stuttgart, 1977.
- 62- MOGHISSI, K.S., SACCO, A.G. BORIN, K.: Immunologic infertility. I. Cervical mucus antibodies and postcoital test. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 136: 941-960, 1980.
- 63- PEXIEDER, T., BOILLAT, E., JANECEK, P.: Antisperm antibodies and *in vitro* fertilization failure. *J. Vit. Fertil. Emb. Trans.* 2: 229-232, 1985.
- 64- REBBE, H., HANSEN, K.B. Immunofluorescent studies on human spermatozoa. IV. Comparison of the occurrence of antigens in spermatozoa from fertile and infertile men and the results of semen analysis. *Int. J. Fertil.* 18: 101-105, 1973.
- 65- RIZOV, B., RAYCHEV, R., KOZHUHAROV, B. and KOZHUHAROVA, M.: Immunological reactions in cases of endocervicitis. In: "Immunology of reproduction" p. 211-245, K. Bratanov, R.G. Edwards, V.H. Vulchanov, V. Dikov and B. Somlev, (eds.), Bulgarian Acad. Sci. Press, Sofia, 1973.
- 66- ROSE, N.R., HJORT, T., RUMKE, P., HARPER, M.J.K. VYAZOV, O.: Techniques for the detection of iso- and autoantibodies to human spermatozoa. *Clin. Exp. Immunol.* 23: 175-200, 1976.
- 67- RUEHSEN, M. de M., BLIZZARD, R.M., GARCIA-BUNUEL, R.

- JONES, G.S.: Autoimmunity and ovarian failure. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 112: 693-703, 1972.
- 68- RUMKE, P.: The presence of sperm antibodies in the serum of two patients with oligozoospermia. *Vox Sang.* 4: 135-140, 1954.
- 69- RUMKE, P. HELLINGA, G.: Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am. J. Clin. Pathol.* 32: 357-362, 1959.
- 70- RUMKE, P., van AMSTEL, N., MESSER, E.N. BEZEMER, P.D.: Prognosis of men with autospermagglutinins in the serum and unsuccessful treatment with testosterone. In: "Immunology of Reproduction" P. 319-149, K. Bratanov, R.G. Edwardes, V.H. Vulchanov, V. Dikov and B. Somlev, (eds.), Bulgarian Acad. Sci. Press, Sofia, 1973.
- 71- RUMKE, P., van AMSTEL, N., MESSER, E.N. BEZEMER, P.D.: Prognosis of fertility of men with spermagglutinins in the serum. *Fertility and Sterility* 25: 393-401, 1974.
- 72- RUSSO, J., METZ, C.B.: The ultrastructural lesions induced by antibody and complement in rabbit spermatozoa. *Biol. Reprod.* 10: 293-308, 1974.
- 73- SCHOYSMAN, R.: Treatment of male infertility due to autoagglutination of spermatozoa. In: "Proceedings of the VI th. World Conference on Fertility and Sterility", p. 112-124, I. Halbrecht, (ed.), Israel Academy Press, Tel. Aviv, 1970.
- 74- SHIVERS, C.A.: The zona pellucida as a possible target in immunocontraception. In: "Immunological Influence on human Fertility", p. 25-39, B. Boettcher, (ed.), Sydney Academic Press, Sydney, 1977.
- 75- SHIVERS, C.A.: Immunological interference with fertilization. In: "VII Karolinska Symposium on Immunological Approaches to Fertility Control". *Acta Endocrinol. (Suppl. 194)*, 78: 223-247, 1975.
- 76- SHIVERS, C.A. DUNBAR, B.S.: Autoantibodies to zona pellucida: a possible cause for infertility in women. *Science* 197: 1082-1084, 1977.
- 77- SHULMAN, S.: Antigenicity and autoimmunity in sexual reproduction: a review. *Clin. Exp. Immunol.* 9: 267-288, 1971.
- 78- SHULMAN, S.: Antibodies to spermatozoa. IV. Human Spermagglutinating activity in different tests with variation in semen source. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 117: 233-235, 1975.
- 79- SHULMAN, S.: Treatment of immune male infertility with methyl-

prednisolone. Lancet 2: 1243-1246, 1976.

- 80- SHULMAN, S.: Immune activities of the male and female reproductive tracts. In: "Immunological influence on human fertility", p. 87-102, B. Boettcher (ed.); Academic Press, Sidney, 1977.
- 81- SHULMAN, S.: Agglutinating and immobilizing antibodies to spermatozoa. In: "Spermatozoa, Antibodies and Infertility", p. 81-99, J. Cohen and W.F. Hendry (eds.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1978.
- 82- SHULMAN, S.: Future Prospects. In: "Spermatozoa, Antibodies and Infertility", p. 147-159, J. Cohen and W.F. Hendry (eds.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1978.
- 83- SHULMAN, S.: Male immunological infertility. In: "Research on fertility and sterility", p. 325-338, J. Cortes-Prieto (ed.), MTP Press, Lancaster, 1981.
- 84- SHULMAN, S. HEKMAN, A.: Antibodies to spermatozoa. I. A new macroscopic agglutination technique for their detection, using imotile sperm. Clin. Exp. Immunol. 9: 137-142, 1971.
- 85- SHULMAN, S., DAVIS, P. REYNIK, J.V.: Immune infertility and new approaches to treatment. In: "Immunological influence on human fertility", p. 281-292, B. Boettcher (ed.), Academic Press, Sidney, 1977.
- 86- SHULMAN, S., HARLIN, B., DAVIS, P. REYNIK, J.V.: Immune infertility and new approaches to treatment. Fertility and Sterility 29: 309-313, 1978.
- 87- SHULMAN, S., MININBERG, D.T. DAVIS, J.E.: Significant immunologic factors in male infertility. J. Urol. 119: 231-235, 1978.
- 88- SHULMAN, S., STONE, M.L.: Antibodies to spermatozoa. IX. Sperm-agglutination phenomenon in cervical mucus *in vitro*: a possible cause of infertility. Am. J. Obstet. Gynecol. 129: 360-367, 1977.
- 89- SHULMAN, J.F., SHULMAN, S.: Methylprednisolone treatment of immunologic infertility in the male. Fertil. Steril. 38: 591-609, 1982.
- 90- SOFFER, Y. MARCUS, Z.H., BUKOVSKY, J. CASPI, E.: Immunological factors and post-coital test in unexplained infertility. Int. J. Fertil. 21: 89-96, 1975.

- 91- STOLP, W., BACHNER, U., MULLER, SCHNEIDER, J.: Hat das Histokompatibilitäts-System eine Bedeutung für die weibliche Sterilität?. *Fortschr. Med.* 91: 1055-1058, 1973.
- 92- SUNG, J.S. SHIYUYA, H., BLACK, D.D. MUMFORD, D.M.: A radioimmunoassay for cytotoxic antibody to human spermatozoa. *Clin. Exp. Immunol.* 27: 469-482, 1977.
- 93- TAKANO, K. MILLER, J.R.: ABO Incompatibility as a cause of spontaneous abortion: evidence from abortuses. *J. Med. Genet.* 9: 144-150, 1972.
- 94- TELANG, M., REYNIK, J.V., SHULMAN, S.: Antibodies to spermatozoa. VIII. Correlation of sperm antibody activity with postcoital tests in infertile couples. *Int. J. Fertil.* 23: 200-206, 1978.
- 95- VAERMAN, J.P. FERIN, J.: Local immunological response in the vagina, cervix and endometrium. In: "Immunological Approaches to Fertility Control", p. 281-305, 7th Karoliska Symposium on Research Methods in Reproductive Endocrinology. E. Dicfalusy (ed.), Karolinska Institute, Stockholm, 1974.
- 96- VASQUEZ, A.M. KENNY, F.M.: Ovarian failure and antiovarian antibodies in association with hypoparathyroidism, moniliasis, Addison's and Hashimoto's disease. *Obstet. Gynec.* 41: 414-418, 1973.
- 97- WILKINSON, P.C., MARONI, E.S. SYMON, D.N.K.: Chemotaxis of neutrophil leucocytes and macrophages towards spermatozoa and seminal fluid. In: "Immunology of Reproduction" K. Bratanov, R.G. Edwards, V.H. Vulchanov, V. Dikov, B. Somley, (eds.), p. 300-305, Bulgarian Acad. Sci. Press, Sofia, 1973.
-