

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or scholar, seated and holding a book. The figure is surrounded by various symbols, including a cross at the top, a lion on the right, and a castle on the left. The Latin motto "SIBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA" is inscribed around the top inner edge of the seal. Below the central figure, the words "PLUS" and "ULTRA" are visible on either side of a central shield. The bottom part of the seal contains the text "CAETERAS INTER COCQUEMATELLENSIS".

**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTIESPERMA EN PAREJAS
INFÉRTILES**

Informe de tesis

Presentado por

ADA PATRICIA JEREZ SANDOVAL

Para optar el título de

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, ABRIL DE 2009

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or scholar, seated and holding a book. The figure is surrounded by various symbols, including a lion, a castle, and a cross. The Latin motto "ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACIEMALENSIS INTER CETERAS" is inscribed around the perimeter of the seal.

**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTIESPERMA EN PAREJAS
INFÉRTILES”**

ADA PATRICIA JEREZ SANDOVAL

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, ABRIL DE 2009

ACTO QUE DEDICO

**A:
Dios**

Por ser mi luz y guía en el sendero de mi vida, porque es mi fortaleza en los momentos más difíciles, quien con sus bendiciones me dice que me ama a cada instante y por permitirme llegar a este momento tan especial que esperé con tanta fe y alegría.

Mis padres: Leonel Jerez Letona y Ada Elizabeth Sandoval León

Por el amor y apoyo incondicional que me han brindado en buenas y malas, por el maravilloso ejemplo que me dan de seguir adelante a pesar de los obstáculos que se puedan presentar en la vida y por enseñarme principios morales que han guiado mi vida por el bien

Mis hermanos: Carolina, Arturo y Rebeca

Por compartir conmigo su amor, amistad, y por darme ánimos para seguir adelante.

Mis sobrinos: Sabina, Abigail, Samuel, Diego, Mariana y Belen

Por llenar mi vida de alegría y por enseñarme a ver la vida con su ternura e inocencia.

Mis abuelos:

Manuel María Sandoval (†)

Elsa Concepción León viuda de Sandoval

Leonel Jerez Escobar (†)

Edna Augusta Letona de Jerez

Por brindarme su apoyo, amor, por sus sabios consejos y por darme el ejemplo de ser una persona honesta, responsable, amorosa y trabajadora. Los amo con todo mi corazón.

Mis tíos, tías, primos y primas:

Por compartir conmigo momentos maravillosos que jamás olvidare en donde sobresale el amor, el apoyo, la amistad, la confianza y la alegría que nos une como familia.

Mi novio Noé, Mis Pastores de la Iglesia, Mis amigas Rosibel, Claudita, Wendy, Patiruca, Ana Lucía, Mis compañeros de Promoción:

Por compartir conmigo su amistad, cariño, apoyo y por las experiencias inolvidables y maravillosas compartidas con cada uno de ustedes. Con muchísimo cariño.

AGRADECIMIENTOS

Universidad de San Carlos de Guatemala.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Escuela de Química Biológica.

Departamento de Citohistología.

Licda. Margarita Paz de Ramírez.

Licda. Nancy del Cid.

Dr. Jorge Escobedo.

Dr. Armando Chafchalaf.

MSc. Gerardo Arroyo.

Ph.D. Patricia Saravia.

MSc. Mario González.

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urízar	Vocal II
Lic. Luis Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Andrea Alejandra Alvarado Álvarez	Vocal IV
Br. Aníbal Rodrigo Sevillanos Cambronero	Vocal V

INDICE

CONTENIDO	PAGINAS
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION.....	3
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1 DEFINICION.....	6
3.2 EPIDEMIOLOGIA.....	7
3.3 INFERTILIDAD Y EDAD.....	5
3.4 CAUSAS DE INFERTILIDAD.....	8
3.4.1 Anomalías testiculares.....	9
3.4.2 Factores coitales.....	9
3.4.3 Anomalías del semen.....	9
Recolección de la muestra.....	10
Examen macroscópico de la muestra.....	11
Examen microscópico de la muestra.....	12
3.4.4 Trastornos ovulatorios.....	16
Métodos para comprobar la ovulación.....	17
3.4.5 Factores tubarios y peritoneales.....	19
Continuación.....	20
3.4.6 Factor cervical.....	20
3.4.7 Anomalías uterinas.....	22
3.5 FACTOR INMUNOLOGICO.....	23
3.5.1 Tipos de anticuerpos.....	24
3.5.2 Etiología de anticuerpos.....	24
3.5.3 Forma de detección.....	24
3.5.4 Los anticuerpos como causa de infertilidad.....	25
3.6 MÉTODOS.....	27
Aglutinación de espermatozoides.....	27
Inmovilización de espermatozoides.....	28
Inmunofluorescencia indirecta.....	28
Pruebas para determinar anticuerpos.....	28
3.7 TRATAMIENTO DE INFERTILIDAD POR ANTICUERPOS ANTI-ESPERMATOZOIDES.....	31
4. JUSTIFICACION.....	32
5. OBJETIVOS.....	33
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
7. RESULTADOS.....	36
8. DISCUSION.....	40
9. CONCLUSIONES.....	42
10. RECOMENDACIONES.....	43
11. REFERENCIAS.....	44

1. RESUMEN

La infertilidad es definida como el estado de ausencia de embarazo tras un año de mantener relaciones sexuales sin protección. Este trastorno puede ser clasificado como infertilidad primaria, en la que no han ocurrido embarazos previos, o como infertilidad secundaria, en la que ha ocurrido un embarazo previo, aunque no necesariamente con un producto nacido vivo.

La infertilidad afecta a una proporción de 10 a 15 por ciento de las parejas en edad reproductiva, siendo su causa atribuida al factor masculino o al femenino.

La infertilidad es debida a diversos factores, que incluyen uno de origen inmunológico que consiste principalmente en el desarrollo de anticuerpos antiespermatozoides. Estos anticuerpos son producidos en ciertas personas como una reacción inmune y puede ocurrir tanto en hombres como en mujeres, ya que los espermatozoides son inmunogénicos y autoantigénico. La reacción de los anticuerpos contra los espermatozoides puede reducir la fertilidad, por lo que su detección es importante para la decisión en la conducta terapéutica de las parejas con problema de infertilidad.

El presente estudio tuvo por objeto establecer la presencia del factor inmunológico en parejas infértiles, y en él se realizó la detección de anticuerpos antiespermatozoides en parejas que sufren infertilidad inexplicable por medio de la prueba de inmunofluorescencia indirecta, que es una prueba fácil, rápida y cómoda para ambos cónyuges.

Esta prueba resulta ser la más confiable en nuestro país, en vista de sus ventajas como la de ser una técnica cualitativa y cuantitativa y capaz de detectar anticuerpos de clase IgG, IgM e IgA, sin embargo tiene las desventajas como la de no permitir evaluar varias muestras a la vez y de no distinguir entre anticuerpos citotóxicos y aglutinantes. Otra limitante es la

necesidad de contar con un microscopio de luz ultravioleta para la observación de anticuerpos.

Se estudiaron las parejas que acudieron a una clínica de infertilidad en el lapso de dieciocho meses y se analizaron tanto la muestra de semen como las muestras séricas de cada cónyuge, además de obtener datos clínicos en cada caso, tales como: edad, frecuencia de gestas, abortos y partos, historia de tratamiento y estudios previos. Se evaluaron también las muestras de líquido seminal (eyaculados), determinando el recuento de espermatozoides, su movilidad y morfología. En estas se obtuvo 42.1 por ciento de recuentos por debajo de lo normal (oligospermia) y 52.6 por ciento de baja movilidad (astenospermia). La edad más afectada por problemas de infertilidad en la muestra estudiada corresponde de 30 a 41 años en mujeres y de 36 a 41 años en hombres.

Se encontró presencia de anticuerpos anti-espermatozoides en el varón de una de las parejas estudiadas.

Se recomienda realizar este tipo de estudio inmunológico a un mayor número de pacientes para lograr hacer inferencias a nivel de población general, así como también evaluar el uso de otros métodos para la detección de anticuerpos antiesperma que superen las desventajas que presenta el método de inmunofluorescencia indirecta.

2. INTRODUCCION

La fertilidad desempeña un papel principal en la conservación de la especie humana. Así mismo todo fracaso en la concepción implica un problema a nivel mundial. A este fracaso se le denomina infertilidad la cual surge por la suma de varios factores existentes en uno o ambos cónyuges.

La infertilidad se define como ausencia de embarazo tras un año de práctica sexual sin protección, y una pareja infértil es aquella en la que después de un año de mantener relaciones sexuales normales sin usar ningún tipo de método anticonceptivo, no logra concebir. Este trastorno se puede clasificar como primario, cuando no ha habido embarazo previo o secundario en el cual ha ocurrido un embarazo previo aunque no necesariamente con un producto nacido vivo.

La infertilidad afecta a una proporción de 10 a 15 por ciento de las parejas en edad reproductiva. Sus causas pueden ser de distinto tipo: anomalías del semen (factor masculino), trastornos ovulatorios, factor tubárico y peritoneal, anomalías de interacción entre moco cervical y espermatozoides, anomalías uterinas, alteraciones inmunológicas e infecciones en las diferentes estructuras del sistema reproductor de la mujer (factor femenino).

Actualmente se tiene conocimiento de que la infertilidad puede deberse en gran medida a factores inmunológicos, principalmente por el desarrollo de anticuerpos antiespermatozoides, los cuales son producidos en ciertas personas como autoinmunidad, lo cual puede ocurrir tanto en hombres como en mujeres, ya que los espermatozoides son inmunogénicos y autoantigénicos por lo que una reacción de anticuerpo contra los espermatozoides es posible que reduzca la fertilidad, lo que hace importante su detección confiable.

El presente estudio pretendió determinar la presencia sérica de anticuerpos antiespermatozoides por inmunofluorescencia indirecta, en parejas que sufren de infertilidad inexplicable.

Para ello se estudiaron todas las parejas infértiles que asistieron a una clínica de infertilidad privada durante un período de seis meses.

Se obtuvo de cada uno de los cónyuges una muestra de sangre para obtener suero y también una muestra de semen del varón con el consentimiento previo de ambo conyuges, para realizar a cada muestra la prueba de inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos antiespermatozoides.

3. ANTECEDENTES

3.1 DEFINICION

La infertilidad se define como el estado de ausencia de embarazo tras un año de mantener relaciones sexuales sin protección. Este trastorno se puede clasificar como infertilidad primaria, casos en que no han ocurrido embarazos previos, e infertilidad secundaria, en la que ha ocurrido un embarazo previo, aunque no necesariamente de un producto nacido vivo. Se llama fecundabilidad a la probabilidad de lograr el embarazo dentro de un solo ciclo menstrual, y fertilidad es la probabilidad de lograr un hijo nacido vivo dentro de un solo ciclo. La fecundabilidad de una pareja normal se ha estimado en una proporción de 20 a 25 por ciento. Con base a esta estimación, cerca de 90 por ciento de las parejas deben concebir después de 1 año de mantener relaciones sexuales (1,2).

La infertilidad afecta a una proporción de 10 al 15 por ciento de las parejas en edad reproductiva (2). A pesar de la prevalencia relativamente estable, el empleo de servicios de infertilidad se ha incrementado en grado importante en los últimos años. Entre 1968 y 1984 se incrementó casi tres veces el número de consultas por infertilidad, hasta alcanzar el nivel actual de 1.6 millones de consultas cada año en Estados Unidos. Son varios los motivos de este incremento: la cobertura reciente de los medios de difusión pública sobre las tecnologías de reproducción asistida y otros tratamientos para favorecer la fertilidad que han incrementado la percepción del problema y su tratamiento. Por último, los cambios sociológicos han producido atraso en el matrimonio con aplazamiento consecuente de la concepción de hijos. A pesar del incremento en la percepción de los tratamientos disponibles, sólo 43 por ciento de las parejas estériles solicitan tratamiento y sólo 24 por ciento lo buscan de tipo especializado. Menos de 2 por ciento recurren a la fecundación *in vitro* o a otras tecnologías de reproducción asistida. Las mujeres que probablemente obtendrán tratamiento especializado son de 30 años de edad o más, raza blanca, casadas y de un estrato socioeconómico relativamente elevado (3).

3.2 EPIDEMIOLOGIA

Si una pareja es normalmente fértil y si tienen relaciones sexuales con razonable regularidad, se producirá un embarazo dentro del primer año de matrimonio en el 90 por ciento de los casos. Por esta razón una pareja es considerada infértil después de este lapso determinado y requerirá investigaciones y tratamientos (4).

Aunque el empleo de los servicios de tratamiento para la infertilidad se ha incrementado durante los últimos decenios, la prevalencia de la infertilidad se ha conservado virtualmente igual. En 1990, cerca de una de cada tres mujeres informó que habían transcurrido 12 meses consecutivos de coito no protegido sin embarazo en algún momento de su vida (3).

En 1998 se llevó a cabo un estudio en el Centro de Reproducción Humana de Guatemala en donde se encontró que en el 73 por ciento de casos la causa de la infertilidad fue de origen primario y el 27 por ciento secundario a otra patología (2). Según estudios de Claude y Charles se conoce que casi 2.5 millones de matrimonios en Estados Unidos sufren de infecundidad (5).

Se estima que la infertilidad afecta a más del 20 % de las parejas en edad reproductiva.

Investigaciones cuidadosas de las causas de infertilidad han demostrado que en un 25 por ciento de las situaciones el problema se encuentra en la mujer y aproximadamente en la misma proporción de casos en el hombre, de los cuales el 50 por ciento debido a una espermatogénesis anormal. En el 50% restante se hallan presentes factores que afectan a ambos, los estimados de su prevalencia no son exactos ya que varían de región en región (4, 6,7).

La infertilidad se ha relacionado con diversas variables demográficas, entre ellas edad y estado socioeconómico. El retraso en la procreación ha producido como consecuencia de intentos de concebir un porcentaje más elevado de mujeres de los grupos de edad reproductiva más avanzada. La prevalencia de la infertilidad no difiere en grado importante entre los grupos raciales y étnicos. Aunque las pacientes que solicitan tratamiento por infertilidad

son, de manera predominante, de estado socioeconómico elevado, la infertilidad es más frecuente entre los grupos de estado socioeconómico relativamente bajo (3).

Es probable que la familiaridad incrementada con los servicios de infertilidad y el acceso a los mismos entre las pacientes de estrato socioeconómico más elevado y mejor educadas explique su mayor empleo de estos servicios médicos (3).

Una de cada cinco parejas en edad reproductiva es infértil y aproximadamente el 15 % de ellas tiene una causa inexplicable (8,9).

3.3 INFERTILIDAD Y EDAD

Se ha comprobado con claridad la relación entre la edad de la mujer y su fecundabilidad reducida. Esta disminución de la fecundabilidad se inicia al principio del cuarto decenio de la vida y se acelera al final del mismo y al principio del quinto decenio. Son infértiles cerca de 30 por ciento de las parejas en las cuales la mujer tiene 35 a 44 años de edad. Los datos de la región rural de Senegal, en la cual cada mujer da en promedio nacimiento a 7.9 niños, manifiestan disminución de las tasas de fertilidad con un máximo de 25 años de edad y una disminución después de los 35 años (3).

En un estudio de fertilidad donde se incluyó a los “huteritas”, secta comunitaria que habita en las Dakotas y en Montana que no ejerce la anticoncepción y que se caracteriza por familias numerosas, la fertilidad es máxima a los 25 años de edad, y una tercera parte de las mujeres dejan de ser fértiles al cumplir 40 años (3). La fecundabilidad de las mujeres que se someten a inseminación de donador cuyos maridos son azoospermicos brinda

introspección de los efectos que tiene la edad sobre la fertilidad de la mujer. Un grupo francés que estudió mujeres que ingresaron en programas de inseminación artificial observó que las tasas de fertilidad empezaron a disminuir después de los 30 años de edad. La tasa de embarazos después de un año de inseminaciones fue de 74 por ciento en las mujeres de 30 años o menores, de 62 por ciento en las de 30 a 35 años de edad, y de 54 por ciento en las mayores de 35 años (3).

Los datos de la U.S. National Survey of Family Growth verifican la pérdida de la fertilidad de la mujer relacionada con la edad; sin embargo, no parece estar cambiando la tasa específica de edad de la fertilidad trastornada (3).

3.4 CAUSAS DE INFERTILIDAD

Las causas principales de infertilidad son las siguientes:

1. Anomalías testiculares
2. Factores coitales
3. Anomalías de semen (factor masculino)
4. Trastornos ovulatorios
5. Lesión o bloqueo tubárico, adherencias paratubáricas o endometriosis
6. Anomalías de la interacción entre moco cervical y espermatozoides
7. Trastornos más raros, como anomalías uterinas, alteraciones inmunológicas e infecciones en las diferentes estructuras del sistema reproductor de la mujer (factor femenino) (3,10).

Existen muchas parejas infértiles en las que no es posible encontrar el factor causal de la infertilidad y que por tanto, su afección es clasificada como infertilidad de la pareja de causa desconocida. En ellas se ha encontrado con frecuencia la presencia de anticuerpos antiespermatozoides ya sean adheridos a estas células, en el plasma seminal o en el moco cervical (11).

Algunos resultados de investigaciones indican que infecciones seminales, ginecológicas, varicocele, torsión testicular y procedimientos quirúrgicos como la vasectomía y su reversión, pueden constituir algunos factores de riesgo para el desarrollo de anticuerpos antiespermatozoides (11).

3.4.1 Anomalías testiculares

Pueden ser por defectos de desarrollo testicular, por factores endocrinos que causan esterilidad debido a falta de desarrollo de tubulos seminíferos como en el síndrome de Klinefelter y supresión de la espermatogénesis en el síndrome de Cushing (1).

3.4.2 Factores coitales

La penetración vaginal del cuerpo viril puede ser incompleta por epispadias, hipospadias y obesidad extrema (1).

3.4.3 Anomalías del semen

El análisis de semen es el estudio básico de laboratorio para valorar estas anomalías. Como la prueba es barata y no invasiva, debe ser parte de toda investigación de infertilidad (3).

Las dos razones primarias para el análisis del semen son: la evaluación de casos de infertilidad y el seguimiento de pacientes con vasectomía (12).

El semen es una combinación de espermatozoides diluidos en secreciones testiculares y del epidídimo, que se mezclan en el momento de la eyaculación con las secreciones de la próstata, las vesículas seminales y las glándulas bulbouretrales (13).

El propósito de un análisis básico del semen es evaluar los parámetros descriptivos clásicos del eyaculado, lo que nos aportará una información importante, sobre la situación clínica del individuo. Los parámetros evaluados son: aspecto, olor, licuefacción, viscosidad, pH, volumen, concentración espermática, número total de espermatozoides, motilidad espermática, morfología, aglutinación y la presencia de elementos celulares, como leucocitos o células germinales (13).

Para realizar de forma rigurosa el estudio de una muestra de semen se deben seguir procedimientos lo más estandarizados posibles con el fin de evitar variaciones entre diferentes análisis (13).

3. 4.3 .1 Recolección de la muestra

La recolección de la muestra de semen es el primer paso en esta estandarización. En primer lugar, el paciente debe recibir instrucciones muy claras sobre cómo recoger la muestra y sobre el modo de transporte adecuado, en caso necesario, hasta el laboratorio, que siempre deberá ser inferior a 45 minutos. La muestra debe ser recolectada después de 2 a 7 días de abstinencia sexual. Se debe registrar el nombre del paciente, los días de abstinencia sexual, la fecha y la hora a la que la muestra ha sido recogida, y a la que ha sido analizada (3,13).

En la evaluación inicial del paciente se realizará el análisis de dos muestras seminales con un intervalo entre ellas de más de 7 días y menos de 3 meses, para poder estudiar la variabilidad de los resultados entre ambos eyaculados (3,13).

Si la diferencia entre las dos muestras es grande, se solicitará otra para su estudio. Si las muestras presentan una motilidad inferior al 25 por ciento, se analizará la segunda muestra dejando transcurrir como máximo 30 minutos, ya que la motilidad se reduce con el tiempo. La muestra se obtendrá por masturbación directamente en un recipiente estéril de boca ancha. Hasta su análisis, se debe mantener a una temperatura entre 20 y 40 °C. Cuando la muestra de semen no se pueda obtener por masturbación, será necesario recurrir a la utilización de preservativos especiales sin latex ni espermicidas. Nunca se deberá recoger la muestra de semen por coito interrumpido, ya que se puede perder la primera parte del eyaculado y en el análisis pueden aparecer células procedentes de la vagina. Siempre debe quedarle muy claro al paciente que la muestra de semen debe estar completa para su correcto análisis (3,13).

3.4.3.2 Examen macroscópico de la muestra

Licuefacción:

El eyaculado deber presentar una licuefacción completa después de un máximo de 60 minutos a temperatura ambiente después de su recolección, debiendo quedar constancia de si este hecho no se produce. Se determina con la ayuda de un palillo, introduciéndolo en la muestra y sacándolo; no debe observarse la formación de un hilo. La presencia, en ocasiones, de gránulos gelatinosos en el semen parece no tener interés clínico (12,13).

Tras la licuefacción, la muestra de semen debe tener un aspecto homogéneo, de color gris-opalescente. Un color marrón-rojizo indicaría la presencia de glóbulos rojos, mientras que una muestra menos opaca indicaría una baja concentración de espermatozoides (13).

Volumen:

El volumen del eyaculado se puede medir utilizando un tubo graduado. No se utilizarán nunca jeringuillas, ya que pueden afectar a la motilidad, ni agujas hipodérmicas, por su inseguridad. Volúmenes muy altos están asociados con infertilidad (12,13).

Viscosidad:

La viscosidad o consistencia de una muestra licuada se debe diferenciar de la coagulación. Para su estimación, se utiliza una pipeta de 5 mililitros de la que se dejará caer la muestra despacio. Si gotea, se considerará que la viscosidad es normal; por el contrario si forma fibras mayores de 2 centímetros se considerará anormal. Una viscosidad alta podría interferir con la determinación de la concentración, la motilidad y la presencia de anticuerpos antiespermatozoides en el eyaculado (12,13).

pH:

12

Se medirá utilizando tiras de pH y siempre antes de que pase una hora desde la obtención de la muestra. El pH normal del semen es ligeramente alcalino, con un rango de 7.2 a 8. Un aumento en el fluido prostático del fluido seminal puede producir un pH ácido (12,13).

3.4.3. 3 Examen microscópico de la muestra

En este se determina la concentración espermática, su motilidad, morfología espermática, la aglutinación de espermatozoides y la presencia de otro tipo de células (13).

Concentración espermática:

A pesar de que la fertilización sólo requiere de un espermatozoide, el número de espermias presentes en una muestra de semen es una medida válida de fertilidad. Los valores normales van de 40 a 160 millones de espermias por mililitro (3,12).

El conteo es efectuado por dilución de la muestra con un diluyente que inmovilice los espermatozoides (citrato de sodio o bicarbonato de sodio y formalina), en una cámara de Neubauer. Los dos métodos utilizados frecuentemente incluyen una dilución de la muestra 1:20 utilizando una pipeta de Thoma para blancos y el recuento en 5 cuadros pequeños o en dos cuadros grandes de la cámara. Cuando se usan los 5 cuadros, el número de espermias contados es multiplicado por 1 millón para calcular el número de espermias por ml, y si se cuentan en 2 cuadros, el conteo es multiplicado por 100,000 logrando el mismo resultado (3,12).

Hay que tener cuidado de no contaminar la muestra con líquido diluyente previo a la determinación de la movilidad. El recuento debe efectuarse por duplicado y el resultado se reporta como el promedio de los mismos (3,12).

Motilidad espermática:

13

Al igual que el número de espermatozoides presentes, la movilidad es importante debido a que al llegar los espermias al cérvix estos deben impulsarse por si mismos a través de las trompas de Falopio hasta el óvulo. La evaluación en el laboratorio de la movilidad es un procedimiento subjetivo que es efectuado por examen microscópico de la muestra y determinando el porcentaje de espermatozoides que muestran motilidad activa (3,12).

Se coloca una pequeña gota de semen sobre un portaobjetos precalentado a 37 °C y se cubre con un cubreobjetos cuyos bordes han sido untados por petrolato. La movilidad se evalúa con el objetivo de seco fuerte hasta contar 25 campos o 200 espermatozoides. Es esencial enfocar hasta la profundidad del frote para observar los espermias que están inmóviles en el fondo. Los espermatozoides pueden presentar cuatro grados de movimiento: motilidad progresiva rápida (grado a), movimiento lento progresivo (grado b), motilidad no progresiva (grado c) y espermatozoides inmóviles (grado d).

La estimación manual de la motilidad es subjetiva, y puede presentar un grado significativo de variación entre observadores (3,12).

Un contenido de 70-80 por ciento de espermatozoides con movimiento progresivo es normal, 60 por ciento o menos de espermatozoides con movimiento progresivo (dentro de las tres horas siguientes a la recolección) es anormal (3,12).

Morfología espermática:

Al igual que la presencia de un número normal de espermatozoides que son no móviles podría producir esterilidad, la presencia de espermatozoides que morfológicamente son incapaces de fertilizar podría dar como resultado infertilidad.

La morfología de los espermatozoides es evaluada con respecto a ciertos criterios estrictos, en los que la cabeza, el cuello, la pieza media y la cola deben ser normales para considerar a un espermatozoide como normal.

La movilidad está impedida en espermatozoides con doble cola o enrollada. Espermatozoides inmaduros (espermátidas) pueden también estar presentes y deben ser diferenciados de los glóbulos blancos; son más esféricos que los espermatozoides maduros y pueden tener o no cola. La presencia de un gran número de formas inmaduras es considerada anormal debido a que usualmente maduran en el epidídimo, previo a su liberación (12,13).

La morfología debe ser reportada a través de dos extensiones teñidas examinándolas con lente de inmersión. Se recomienda teñir con Papanicolaou; sin embargo, si este no es accesible, se pueden tener resultados aceptables utilizando hematoxilina, cristal violeta o Giemsa. Se deben de analizar al menos 200 espermatozoides y reportar el porcentaje de anormales. Una muestra que contiene menos del 30 por ciento de formas anormales es considerada normal (12,13).

Presencia de otro tipo de células:

Un eyaculado contiene invariablemente células diferentes a los espermatozoides, que se denominan genéricamente células redondas. Se trata de células epiteliales del tracto genitourinario, células prostáticas, leucocitos y células espermátogénicas. Como norma general, un eyaculado no debe contener más de 5×10^6 células redondas por mililitro, y el número de leucocitos no deber ser superior a 1×10^6 por mililitro (12,13).

Aglutinación de espermatozoides:

Cuando una muestra de semen presenta auto aglutinación espermática, se hace necesario el estudio de la presencia de anticuerpos antiespermatozoides en el eyaculado (12,13).

Normalmente, los anticuerpos presentes en el semen pertenecen a dos clases de inmunoglobulinas, IgA e IgG, y se cree que la IgA podría tener más importancia clínica que la IgG. Está establecido que una muestra es positiva para la presencia de anticuerpos antiespermatozoides cuando más del 50 por ciento de los espermatozoides presentan anticuerpos (12,13).

Los parámetros físicos del semen utilizados para describir el aspecto de una muestra del mismo, como por ejemplo coagulación, licuefacción, viscosidad, volumen y pH, son importantes, y sus anomalías debe comunicarse, independientemente de la calidad de otros parámetros estándar seminales. Por ejemplo, el procesamiento del semen, en cualquiera de las técnicas disponibles, a menudo se ve impedido por un incremento de la viscosidad. Un volumen seminal escaso (< 2 ml) rara vez representa un problema para la reproducción asistida, pero puede ser una causa de infertilidad *in vivo*, la cual sin embargo puede tratarse bien mediante inseminación intrauterina. El pH normal varía entre 7.2 y 8.0, y aunque no es un parámetro físico estricto, es importante ya que los valores anormales indicarían la presencia de infecciones crónicas o agudas, que podrían dificultar la fecundación *in vivo* o *in vitro*. En este sentido, consideramos el estudio bacteriológico, mediante cultivo general además del cultivo específico para *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*, como una parte esencial del análisis inicial del semen (13).

El estudio inmunológico, es también una parte esencial del análisis inicial del semen, para detectar los anticuerpos antiespermatozoides en la muestra. Cuando se detectan anticuerpos, si no existen otras anomalías presentes, se aconseja a los pacientes las técnicas de reproducción asistida (13).

Los parámetros seminales estándar son: la concentración de espermatozoides, la movilidad espermática cualitativa y cuantitativa, y la proporción de espermatozoides morfológicamente normales.

Una muestra de semen será considerada normal para fecundación *in vivo* cuando, de acuerdo con el manual de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la concentración de espermatozoides sea mayor de 20 millones/mL, un porcentaje de espermatozoides móviles mayor a 50 y si se encuentra más de un 30 por ciento de espermatozoides normales. Los límites de normalidad fueron establecidos por la OMS mediante estudios de población. Estos valores normales de la OMS (para catalogar a un varón potencialmente fértil), especialmente para la morfología espermática, han ido cambiando en los últimos años, causando muchos problemas en la interpretación de los resultados del análisis del semen (13).

3.4.4 Trastornos ovulatorios

Los trastornos de la ovulación constituyen 30 a 40 por ciento de todos los casos de infertilidad femenina, estos trastornos se encuentran en general entre los que se diagnostican con más facilidad y entre las causas más tratables de infertilidad (3).

La duración normal del ciclo menstrual en las mujeres en edad reproductiva varía entre 25 y 35 días; la mayoría de ellas tienen duraciones del ciclo entre 27 a 31 días. Las mujeres que experimentan menstruación con regularidad cronológica (aproximadamente cada cuatro semanas) y síntomas moliminales, como tumefacción mamaria premenstrual y dismenorrea, casi siempre experimentan ciclos de ovulación. Como la ovulación es un prerrequisito manifiesto para la concepción, como parte de la valoración básica de la pareja infértil debe comprobarse que ocurre (3,14).

Los diagnósticos iniciales pueden ser anovulación (ausencia completa de la ovulación) u oligoovulación (ovulación infrecuente). El diagnóstico diferencial abarca anomalías hipotalámicas e hipofisarias, enfermedad tiroidea, trastornos suprarrenales y oligoovulación hiperandrogénica (3,14)

TEMPERATURA CORPORAL BASAL: Es el método más fácil y menos costoso, consiste en que la paciente se tome la temperatura y la anote cada mañana en una gráfica de temperatura corporal basal (TCB). La paciente debe determinarse la temperatura por vía oral antes de levantarse, comer o beber. La paciente se registra la temperatura todos los días, y además anota las horas en las que efectúa el coito. Por lo general el ovario secreta progesterona en cantidad importante sólo después de la ovulación. La progesterona es una hormona termógena; la secreción de progesterona produce aumento de la temperatura cerca de la cuarta parte de un grado centígrado sobre la línea de referencia en la fase folicular, que por lo general se encuentra en los límites de 36.1 a 36.7 °C. La diferencia entre las dos fases del ciclo produce el patrón bifásico característico que indica que ha ocurrido la ovulación (3,15).

PROGESTERONA SÉRICA DE LA MITAD DE LA FASE LÚTEA: Las elevaciones de las concentraciones séricas de progesterona constituyen pruebas indirectas de ovulación. Su límite inferior durante la fase lútea varía según los laboratorios, pero la concentración mayor de 3 ng/ml confirma la ovulación. La medición debe efectuarse conforme se va volviendo máxima la secreción de progesterona hacia la mitad de la fase lútea (de manera característica, entre los días 21 y 23 de un ciclo ideal de 28 días). Típicamente las concentraciones ovulatorias pasan con gran ventaja de 3 ng/ml. Las concentraciones bajas no son necesariamente diagnósticas de anovulación, pero las apropiadas durante la fase lútea confirman la ovulación previa (3,14).

VIGILANCIA DE LA HORMONA LUTEINIZANTE: La comprobación de la fase rápida de secreción de LH es un método reproducible para predecir la ovulación. Esta ocurre 34 a 36 horas después de iniciarse la descarga mencionada de LH, y cerca de 10 a 12 horas después de alcanzar su máximo. Como la LH es una hormona que se descarga de manera pulsátil, puede ser difícil identificar una verdadera elevación.

Basta con una elevación de dos a tres veces de las concentraciones séricas de LH sobre la cifra de referencia para comprobar que ésta ha experimentado descarga (1,3).

BIOPSIA ENDOMETRIAL: La presencia de endometrio secretor confirma la ovulación. Como este procedimiento es más penetrante que los otros y puede producir molestias a ciertas pacientes, su función principal en la valoración de la infertilidad no es comprobar la ovulación, sino diagnosticar los defectos de la fase lútea (3).

VIGILANCIA ULTRASÓNICA: La ovulación se puede comprobar al efectuar vigilancia del desarrollo del folículo dominante mediante ultrasonido hasta que sobreviene la ovulación. Esta última se caracteriza por disminución del tamaño folicular y aparición de líquido en el fondo de saco. Se recomienda que su empleo se confine a la vigilancia de la inducción de la ovulación en las pacientes sometidas a tecnologías de reproducción asistida (3).

DEFECTO DE LA FASE LUTEA: Probablemente son pocos los aspectos que producen controversias más grandes en el campo de la infertilidad que los que rodean a la existencia, el diagnóstico y el tratamiento de defecto de la fase lútea (DFL), o fase lútea inadecuada. Aunque definida de manera variable, la mayoría de los investigadores concuerdan en que el DFL se produce cuando dos biopsias endometriales ponen de manifiesto retraso de más de dos días posteriores al día del ciclo real en el desarrollo histológico del endometrio, según los criterios de Noyes y colaboradores (3,14).

En los casos en los que el DFL se supone como causa de la infertilidad, se cree que la secreción insuficiente de progesterona produce un desarrollo endometrial secretor deficiente que se manifiesta como retraso de la maduración del endometrio. En conjunto, todas estas circunstancias podrían ser la causa, hipotéticamente, de falla de la implantación o de un aborto muy temprano, incluso antes que falte un período menstrual.

Las causas subyacentes de DFL pueden ser desarrollo folicular insuficiente, secreción insuficiente de FSH, secreción anormal de LH o efecto anormal de la progesterona sobre el endometrio. Por añadidura, el DFL puede ser un acompañante de hiperprolactinemia y ocurrir en mujeres en los extremos de la edad reproductiva cuyos ciclos menstruales fluctúan de conformidad con sus edades (3,15).

3.4.5 Factores tubarios y peritoneales

La oclusión total o parcial de la luz tubaria obedece casi siempre a una infección, pero son poco comunes los casos congénitos de atresia o de falsas vías.

Los factores tubarios y peritoneales constituyen 30 a 40 por ciento de los casos de infertilidad femenina.

Los factores tubarios consisten en lesión u obstrucción de las trompas de Falopio, que suelen relacionarse con enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) previa u operaciones pélvicas o tubarias efectuadas con anterioridad. Los factores peritoneales consisten en adherencias peritubarias y periováricas, que son por lo general resultado de EIP u operaciones quirúrgicas, y endometriosis. El riesgo de infertilidad después de una sola crisis de EIP es elevado. Se ha informado que la incidencia de infertilidad tubaria es de 12, 23 y 54 por ciento después de una, dos o tres crisis de EIP, respectivamente. Cerca de 50 por ciento de las pacientes con lesión tubaria comprobada carecen de factores de riesgo identificables por enfermedad tubaria. Se presume que la mayoría de éstas experimentan infecciones subclínicas por *Chlamydia trachomatis* (1, 3,16).

La prueba inicial para comprobar la permeabilidad tubaria es la histerosalpingografía (HSG) y debe efectuarse entre los días 6 y 11 del ciclo. La histerosalpingografía a menudo produce dolor de tipo cólico; mediante profilaxis con un fármaco antiinflamatorio no esteroide puede volverse mínimo el malestar.

La laparoscopia es el “estándar de oro” para el diagnóstico de las enfermedades tubarias y peritoneales. Permite visualizar todos los órganos pélvicos e identificar los fibroides uterinos intramurales y subserosos, las adherencias peritubarias, periováricas, y la endometriosis. La laparoscopia permite valorar con cuidado la estructura de las trompas y, en particular visualizar las fimbrias. Además ofrece la oportunidad de tratar lo mismo que de identificar las anomalías: la óptica, la amplificación y la instrumentación mejoradas permiten en la actualidad el tratamiento quirúrgico de la obstrucción tubaria, las adherencias pélvicas y la endometriosis al momento de establecer el diagnóstico.

La faloposcopia puede definir el aspecto tubario normal, y ha identificado patrones mucosos tubarios anormales, espasmo de las bocas tubarias y presencia de desechos intraluminales como causas de obstrucción tubaria. Esta técnica, empleada en conjunto con métodos radiológicos para tratar la obstrucción tubaria proximal, parece muy promisorio como procedimiento menos penetrante que puede facilitar el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad por factor tubario (3,15).

3.4.6 Factor cervical

El factor cervical es la causa de infertilidad en no más del 5 por ciento de los casos. La prueba clásica para valorar la función potencial del factor cervical en la infertilidad es la prueba poscoital (PPC). La PPC se ha diseñado para que permita valorar la calidad del moco cervical, la presencia y el número de espermatozoides móviles en las vías reproductivas de la mujer después del coito, y la interacción entre éstos y el moco cervical. La PPC no ofrece información suficiente sobre la cuenta de espermatozoides, su movilidad o su morfología para permitir valorar bien la calidad del semen (3).

La PPC debe efectuarse justo antes de la ovulación, porque su interpretación apropiada requiere que se examine el moco cervical en un momento en que hay exposición suficiente a los estrógenos. Las concentraciones séricas de estrógenos alcanzan su máximo justo antes de la ovulación, lo que brinda una estimulación óptima a las glándulas cervicales productoras de moco y sensibles a estas hormonas. Esta prueba debe efectuarse uno o dos días antes del momento esperado de la ovulación. La descarga de LH urinaria de la paciente puede ser de utilidad para programar la prueba en los casos de ciclos irregulares. Un aspecto controvertido se relaciona con el momento del coito antes de la investigación del moco cervical. Aunque el intervalo óptimo puede ser menor de dos horas entre el coito y la PPC, puede efectuarse una prueba adecuada en plazo de 24 horas después del coito. Aunque los datos con que se cuenta no son definitivos, suele lograrse información suficiente con el coito después de dos días de abstinencia, o aproximadamente dos a 12 horas antes de la ejecución de prueba poscoital. Debe recordarse a las parejas que no empleen lubricantes que puedan contener agentes espermicidas. La PPC se efectúa con facilidad. Se retira una pequeña cantidad de moco cervical por medio de pinzas ovals largas que tengan pequeñas aberturas en la punta. Alternativamente, se emplean una jeringa con angiocatéter o una jeringa de tuberculina para extraer el moco desde el conducto endocervical. Este moco se coloca en una laminilla de vidrio y se cubre con un cubreobjetos, y puede dejarse fuera de éste un pequeño filamento de moco para que se seque y permita valorar el fenómeno de cristalización en hoja de helecho. Muchos especialistas en infertilidad también toman una muestra de “reserva vaginal” del fondo de saco vaginal posterior para comprobar la presencia de espermatozoides en la vagina. En el moco se observan con rapidez, formación de hojas de helecho y claridad. También se deben valorar con mucho cuidado la presencia, el número y la movilidad de los espermatozoides por campo de alto poder mediante revisión de varios campos microscópicos (3, 14,15).

El moco normal estimulado por estrógenos deber estirarse a una distancia de 8 a 10 centímetros cuando se tira desde el cuello con pinzas (o cuando se levanta el cubreobjetos desde la laminilla portaobjetos), manifestará un patrón muy característico de hoja de helecho semejante al observado cuando se examina líquido amniótico, y debe ser claro y acuoso. Las características del moco cervical cambian bajo la influencia de la progesterona después de la ovulación; en ese momento se ve grueso, opaco, y no cristaliza en la forma de hoja de helecho (3,14).

Deberá contarse el número de espermatozoides móviles por campo de alto poder; sin embargo, el número considerado normal no se ha establecido. Algunos autores sugieren que virtualmente cualquier número de espermatozoides móviles observado en la PPC es normal, en tanto que otros aconsejan emplear un límite de prueba normal de 20 espermatozoides por campo de alto poder (3, 14,15).

La PPC puede revelar muy mala interacción entre el moco y los espermatozoides o descubrir anomalías de su concentración o movilidad; estos últimos datos deben confirmarse mediante análisis del semen. La observación de un espermatozoide que sacude la cola, de aquellos que experimentan sacudidas o uniformemente muertos sugiere la presencia de anticuerpos antiespermatozoides y justifica la valoración más a fondo (3,14).

Ha quedado en duda la función de esta prueba única, aunque su valor parece máximo como mecanismo de investigación de los anticuerpos antiespermatozoides o del moco cervical de mala clase a causa de factores hormonales, anatómicos o infecciosos (3, 14,15).

3.4.7 Anomalías uterinas

Aunque las anomalías uterinas se relacionan generalmente con pérdida recurrente del embarazo más que con infertilidad, ciertas anomalías anatómicas del útero se han propuesto como causas de este problema (3).

Los fibroides uterinos, en especial los leiomiomas submucosos, pueden acompañar de pérdida del embarazo. Algunos investigadores han especulado que la localización de los fibroides dentro de la cavidad endometrial puede interferir con el transporte o la implantación de los espermatozoides. La hemorragia anormal que acompaña a estos fibroides puede no permitir la preparación apropiada del endometrio para la implantación con buenos resultados. La relación entre los fibroides intramurales y submucosos con la infertilidad es, probablemente, aún más tenue que con la pérdida del embarazo. Sin embargo, los fibroides son una causa poco frecuente de infertilidad, y la miomectomía abdominal puede producir incluso infertilidad por formación de adherencias postoperatorias. Malformaciones uterinas congénitas como útero unicorno, tabique uterino y útero didelfo se acompañan más a menudo de aborto espontáneo que de infertilidad (3).

En la valoración de los factores uterinos se emplea la HSG para visualizar los contornos de la cavidad endometrial. Se ponen claramente de manifiesto pólipos endometriales, fibroides submucosos, anomalías congénitas y sinequias intrauterinas. Debe recurrirse a la histeroscopia para definir más claramente las anomalías identificadas por la HSG y tratarlas de la manera adecuada (3).

3. 5 FACTOR INMUNOLOGICO

La inyección de espermatozoides de un animal a otro puede desencadenar una reacción de anticuerpo. Los espermatozoides pueden ser también autoantigénicos; por tanto, una reacción de anticuerpo contra los espermatozoides es posible que reduzca la fertilidad (3).

El semen tiene una constitución genética extraña para la mujer, por lo que, al menos teóricamente, puede ser causa de isoimmunización. Además existe la posibilidad de producción de autoinmunización por sustancias específicas propias del aparato genital, tanto en la mujer como en el varón (14).

Se han identificado anticuerpos antiespermatozoides en varones y mujeres, y se sabe que éstos son de las clases IgG o IgM. Las moléculas de IgG producidas por vía general pueden encontrarse en el suero lo mismo que en el moco exocervical y en el semen. Los anticuerpos aglutinantes de la clase IgA se encuentran de manera característica en el moco cervical y el plasma seminal. Los anticuerpos IgM de mayor tamaño tienen dificultades para atravesar la mucosa de las vías genitales y por tanto, se encuentran exclusivamente en el suero (17).

3.5.2 Etiología de anticuerpos

No se ha definido con claridad la etiología de los anticuerpos antiespermatozoides y puede ser multifactorial. Durante el coito, la mujer queda expuesta repetidamente a millones de espermatozoides, pero sólo en casos muy raros manifiesta una reacción inmunitaria. En las mujeres que experimentan esta reacción, el desarrollo de anticuerpos antiespermatozoides se puede relacionar con el traumatismo que se genera al epitelio vaginal durante el coito. En los varones la barrera hematotesticular protege normalmente al suero contra las exposiciones de los espermatozoides o sus antígenos. Los trastornos que producen roturas en esta barrera podrían activar al sistema inmunológico. Se han implicado como causas de formación de anticuerpos antiespermatozoides traumatismo o torsión testiculares, reversión de la vasectomía e infección de las vías genitales (3).

3.5.3 Forma de detección

La valoración de la importancia de los anticuerpos se complica por la variedad de localizaciones en la cuales éstos se fijan sobre las células espermáticas. Por ejemplo, los anticuerpos que se fijan a la cabeza del espermatozoide pueden interferir con la fijación de éste en la zona pelúcida,

en tanto que los anticuerpos que se fijan a la cola pueden reducir la movilidad espermática. Por tanto, los anticuerpos antiespermatozoides pueden interferir con la fecundación al trastornar el transporte de espermatozoides, obstruir la interacción de los gametos o promover su fagocitosis (3, 25,26).

Otro aspecto motivo de confusiones en la valoración de la infertilidad inmunológica es la miríada de pruebas disponibles para la identificación de los anticuerpos antiespermatozoides. Las pruebas de aglutinación de espermatozoides (de Kibrick o de Franklin- Dukes) y las pruebas de inmovilización dependientes del complemento han quedado sustituidas por las pruebas de esférulas inmunológicas o de aglutinación mixtas (3, 25,26).

La prueba de las esférulas inmunológicas recurre a esférulas de poliácridamida cubiertas con anticuerpos anti IgG, anti IgA o anti IgM. Se exponen los espermatozoides lavados a las esférulas marcadas y se valora su fijación. La prueba ofrece información específica tanto sobre la clase de inmunoglobulina del anticuerpo antiespermatozoide como sobre el sitio de fijación en el espermatozoide afectado. En la reacción de aglutinación mixta se mezclan eritrocitos humanos sensibilizados mediante IgG humana con el semen del paciente. La presencia de espermatozoides cubiertos con anticuerpos ocasionará formación de aglutinados mixtos con los eritrocitos. La comparación de estos dos métodos pone de manifiesto buena relación de los resultados; sin embargo, la última prueba es más fácil de efectuar (3, 25,26).

3.5.4 Los anticuerpos como causa de infertilidad

Se sabe que se encuentran anticuerpos antiespermatozoides circulantes en el suero de 1 a 12 por ciento de mujeres fértiles y de 10 a 20 por ciento de mujeres con esterilidad inexplicable. En el varón, los anticuerpos contra espermatozoides se pueden detectar tanto en el plasma seminal como en el suero, y la mitad de los individuos que se sujetan a vasectomía forma anticuerpos antiespermatozoides después del procedimiento (17).

Según Franklin y cols en 1964, encontraron anticuerpos circulantes en el suero del 48 por ciento de mujeres infértiles sin causa aparente, aunque también se encontraron en el 13 por ciento de las parejas fecundas. Estos anticuerpos en presencia de complemento disminuyen la movilidad e inmovilizan los espermatozoides. También se ha podido demostrar la presencia de anticuerpos que inmovilizan los espermatozoides, en el 19 por ciento de las secreciones del tracto genital de las mujeres que tienen infertilidad de causa desconocida, aunque también se ha encontrado en el 8 por ciento de todas infértiles e incluso en alguna mujer embarazada (14).

Se supone que los anticuerpos específicos perturban la movilidad de los espermatozoides y sus posibilidades de fecundación. Así se acepta que el moco cervical contiene anticuerpos que se unen a los espermatozoides y alteran su movilidad. También se ha señalado que los anticuerpos específicos, en presencia del complemento, pueden lesionar el acrosoma y originar una liberación anticipada de enzimas, que posteriormente serán necesarias para la fecundación, aunque algunos autores destacan que la concentración de complemento es muy baja en las secreciones del aparato genital femenino en condiciones fisiológicas. Se acepta que probablemente las secreciones uterinas pueden contener anticuerpos antiespermatozoides, mientras que, en la secreción tubárica, la concentración es muy baja, sobre todo durante la ovulación (Schumacher, 1986). En el 3 por ciento aproximadamente de los varones infértiles se encuentran anticuerpos antiespermatozoides específicos circulantes contra espermatozoos. Se trata de autoaglutininas para sus propios espermatozoos, que se producen por un proceso de autoinmunización. Los anticuerpos antiespermatozoides y testiculares pueden producir el cuadro llamado orquitis alérgica experimental o espermatogénesis auto inmune, que se origina fundamentalmente a través de un proceso de inmunidad celular, pero en el que interviene también la inmunidad humoral.

Sin embargo, los anticuerpos antiespermatozoides circulantes no siempre originan lesiones testiculares; de hecho, los anticuerpos antiespermatozoides son frecuentes en los varones vasectomizados y en ellos no suelen producirse lesiones testiculares. A menudo, en estos individuos que tienen anticuerpos en el suero se produce aglutinación espontánea de los espermatozoos en el semen fresco (14, 27,28).

En la actualidad no es clara la función que pueden tener los anticuerpos antiespermatozoides en la valoración de la infertilidad. Los médicos pueden dar importancia a las pruebas de anticuerpos en casos seleccionados en los cuales se comprueban los factores de riesgo de anticuerpos antiespermatozoides o no pueden aclarar la causa de la infertilidad (3, 29,30).

3.6 MÉTODOS

Los métodos más utilizados para la detección de anticuerpos antiesperma, están basados en la aglutinación o inmovilización del esperma, estos procedimientos constituyen el grupo de los métodos clásicos, aunque existen otros métodos de interés en los cuales se incluyen la citotoxicidad y la inmunofluorescencia pero son menos utilizados (18).

3.6.1 Aglutinación de espermatozoides

La aglutinación de los espermatozoides significa que los espermatozoides móviles se adhieren entre ellos cabeza con cabeza, pieza intermedia con pieza intermedia, cola con cola. A la adherencia de espermatozoides inmóviles o móviles con filamentos de moco, con células que no son espermatozoides o con detritos no se le considera aglutinación y no se le debe anotar como tal (19).

La presencia de aglutinación sugiere la existencia de una causa inmunológica de la infertilidad, pero no es evidencia suficiente para probarla.

La aglutinación se determina en 10 campos microscópicos elegidos al azar. El número promedio de espermatozoides aglutinados entre sí se estima con un error menor al 5 por ciento. El porcentaje de espermatozoides aglutinados puede ser un dato de importancia. Sin embargo, aun la presencia de unos pocos espermatozoides aglutinados debe ser informada (20).

3.6.2 Inmovilización de espermatozoides

El hecho de que algunos anticuerpos contra espermatozoides pueden causar su inmovilización, le da a este método su desarrollo para detectar anticuerpos antiesperma, debido a que es un buen procedimiento para investigar problemas de infertilidad. El método se basa en comparar la proporción de células móviles y la no móviles estableciendo una relación de porcentaje (18,22).

3.6.3 Inmunofluorescencia indirecta

Método que se utiliza para detectar anticuerpos antiesperma, este utiliza un substrato de espermatozoides que se mezcla con suero, al cual se le agrega posteriormente un conjugado fluorescente contra anticuerpos, pudiéndose detectar anticuerpos de clase IgG, IgM e IgA, con esta técnica puede detectarse no solo el tipo de inmunoglobulina en el suero sino también a que porción del espermatozoide está dirigida, pero no distingue entre anticuerpos citotóxicos y anticuerpos aglutinantes (18,22).

3.6.4 Pruebas para determinar anticuerpos antiesperma

Las pruebas para determinar anticuerpos antiesperma se hacen tanto en plasma seminal como en el suero, los métodos que existen son: Aglutinación en gelatina (GAT) conocido también como método de Kibrick, aglutinación en tubo capilar (CTAT), aglutinación tubo-laminilla (TSAT), aglutinación en placa (TAT), inmunofluorescencia indirecta (IFI), prueba de complemento-dependiente, test de reacción mixta antiglobulina (21).

- En el test de aglutinación en gelatina y aglutinación en tubo capilar, los espermatozoides suspendidos en gelatina son impregnados con diluciones progresivas de suero hemático o de plasma seminal. La presencia de espermaglutininas es revelada después de dos horas de incubación, bajo la forma de focos de aglutinación suspendidas en el medio clarificado. El procedimiento consiste en utilizar semen a una concentración de cuarenta millones de células por mililitro mezclado con una solución de gelatina al 10 por ciento. Esta solución se mezcla con el suero a estudiar y se incuba en tubo a 37 °C de una a dos horas después de lo cual se observa para determinar la aparición de grumos visibles, luego se diluyen para determinar el título de anticuerpos y para que sean consideradas positivas deberán ser mayores de 1:8 (21,22).
- El test de aglutinación tubo-laminilla o método de Franklin Dukes consiste en la preparación de semen en una concentración de 50 millones de células por mililitro que se mezcla con la proporción de suero después de incubar a 37 °C, durante dos a tres horas, se toman algunas gotas y se ponen en una lámina para observar al microscopio. Las células espermáticas son contadas en 12 campos microscópicos con el objetivo de seco fuerte, anotando los móviles y los inmóviles o aglutinados. El número total de células aglutinadas se divide por el total de las células dando una proporción en porcentaje lo que provee un índice así como una expresión cuantitativa de la actividad de los anticuerpos. Un porcentaje menor de 10 es considerado no significativo, en otras palabras se considera que un suero es positivo sólo si da una cifra de más de 10 por ciento (18,22).
- El test de aglutinación en placa, es la técnica inmunoandrológica más ampliamente usada para la búsqueda de espermaglutininas. Este test se hace en microcámara y la lectura se obtiene con el microscopio invertido y en inmersión (21).

- El test dependiente de complemento (test de inmovilización espermática) no ha tenido hasta ahora excesiva aceptación, puesto que no añade mucha información a aquella obtenida con el test de aglutinación en placa (21).
- El test de reacción mixta (MAR test) que utiliza el semen de la muestra con hematíes Rh positivos sensibilizados con anticuerpos incompletos anti-D en un ambiente que contiene antisuero anti-IgG humano. Se lleva a cabo sobre un portaobjetos en donde se colocan 10 μ l de semen fresco sin lavar, 10 μ l de partículas de latex recubiertas de IgG o de glóbulos rojos de carnero recubiertos de IgG y 10 μ l de antisuero anti IgG humano (20,21).

Las gotas de semen y de partículas revestidas de IgG se mezclan primero y luego se mezcla la gota de antisuero usando un cubreobjeto grande, que entonces se aplica sobre la mezcla. El preparado fresco se observa bajo el microscopio a 400 X o 600X con luz intensa o en contraste de fase después de dos a tres minutos y de nuevo a los 10 minutos. Si no hay anticuerpos se observará que los espermatozoides nadan libremente entre las partículas, las cuales se adhieren entre ellas en grupos, lo cual significa que el preparado es eficaz (20,21).

Si existen anticuerpos contra los espermatozoides, los espermatozoides móviles tendrán partículas de látex adheridas. Al principio se ven los espermatozoides móviles que se mueven de un lado a otro con unas pocas y hasta con muchas partículas adheridas, pero eventualmente estos aglutinados se tornan tan masivos que los espermatozoides sólo pueden moverse en un sitio si están adheridos a las partículas. Se calcula el porcentaje de espermatozoides móviles que tienen partículas adheridas luego de contar al menos 100 espermatozoides móviles.

Por su simplicidad y rapidez de ejecución puede ser hecho rutinariamente como la primera detección inmunoandrológica (20,21).

- Por último en el test de inmunofluorescencia indirecta se incuba la muestra de suero del paciente, como fuente de anticuerpos, con espermatozoides fijados sobre un laminilla de reacción. En presencia de anticuerpos en la muestra, se formarán complejos inmunitarios que después se identifican con un conjugado fluorescente de antiglobulina humana unida a un fluorocromo (isotiocianato de fluoresceína). De esta manera se revela la presencia de anticuerpos circulantes contra antígenos de los espermatozoides, mediante la observación bajo un microscopio de luz ultravioleta (23).

3.7 TRATAMIENTO DE LA INFERTILIDAD POR ANTICUERPOS ANTIESPERMATOZOIDES

El tratamiento de la infertilidad por origen inmunitario es difícil. Se ha aconsejado que para hacer descender el título de anticuerpos debe recurrirse a la abstinencia sexual o bien el uso del preservativo durante un período promedio de 2 a 6 meses (8,14).

También se ha recomendado el tratamiento con corticosteroides, bien administrando altas dosis entre 96 y 40 miligramos de prednisona diarios durante 10 días o bien empleando dosis bajas de 5 miligramos de prednisona diarios durante un largo período, a ambos cónyuges, al varón o a la mujer, según quien posea anticuerpos antiespermatozoides. Algunos autores recomiendan administrar 15 miligramos de prednisona diariamente durante 21 y 28 días obteniendo muy buenos resultados (8, 14, 22).

4. JUSTIFICACION

Generalmente el estudio de la pareja infértil se limita a la investigación de causas orgánicas entre las que se incluyen la producción de ovulación, producción anormal de esperma, calidad del moco cervical, así como factores peritoneales anormales.

Actualmente se sabe que la infertilidad puede deberse a factores inmunológicos, por lo que es importante incluir en la investigación de las parejas infértiles, pruebas para la detección de anticuerpos antiespermatozoides. Para ello es necesario introducir una prueba fácil, rápida y cómoda para ambos cónyuges.

El presente trabajo pretendió introducir este dato en el estudio de todas las parejas infértiles que asistieron a una clínica especializada en un periodo determinado. Los resultados obtenidos aportarían, por un lado, información epidemiológica para estimar la frecuencia de tanto hombres como mujeres que desarrollaron anticuerpos contra los espermatozoides y por otro lado, una explicación sobre la causa de la infertilidad en aquellas parejas cuyo problema no tenía otra etiología evidente, por lo que el médico tratante podría proponer una conducta terapéutica apropiada.

La presencia de anticuerpos anti- espermatozoides en parejas infértiles actualmente es tratada por medio de dos métodos muy sencillos dentro de los cuales se incluyen: el uso de preservativos durante un período de 2 a 6 meses y el tratamiento con corticosteroides en altas o bajas dosis. Por lo tanto, la detección de los mismos facilita el diagnóstico médico y orienta el adecuado tratamiento.

5. OBJETIVOS

5.1 General:

- Determinar la frecuencia de parejas infértiles con anticuerpos anti-espermatozoides que acuden a una clínica de infertilidad.

5.2 Específicos:

5.2.1 Implementar el método de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la determinación de anticuerpos IgM e IgG en suero de pacientes infértiles.

5.2.2 Relacionar la presencia de anticuerpos anti-espermatozoides como causa de infertilidad.

5.2.3 Determinar el porcentaje de hombres y mujeres que presenten anticuerpos antiesperma en la población a estudiar.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

A. UNIVERSO Y MUESTRA

1. Universo: Hombres y mujeres infértiles que asistieron a una clínica de infertilidad, durante dieciocho meses.

2. Muestra: 19 parejas infértiles a quienes se tomó muestra de sangre para obtener suero de cada uno de los cónyuges y una muestra de semen del varón.

B. MATERIALES

1. Equipo

- a) Laminillas de reacción
- b) Microscopio óptico
- c) Cámara de Neubauer
- d) Microscopio de luz ultravioleta.

2. Reactivos

- a) Diluyente de citrato de sodio
- b) Conjugado fluorescente de antiglobulina humana unida a un fluorocromo (Conjugado IgG).

C. MÉTODOLÓGIA UTILIZADA EN EL ESTUDIO

a. Procedimiento

1. Para la toma de muestra

Esta se llevó a cabo por medio de un consentimiento informado que consistió en una carta de autorización de la pareja en la cual, se permitió la utilización de sus muestras para fines prácticos del estudio, además la misma les hizo saber que los resultados obtenidos de sus muestras, se entregarían de manera confidencial.

También se llevó a cabo una ficha clínica de control que consistió en una serie de datos generales de cada uno de los cónyuges como la edad, el nombre, tiempo de casados y otros.

2.1 Se determinaron las características físicas como:

- Volumen
- pH
- Viscosidad
- Licuefacción

2.2 Estimación de la movilidad en la que se llevara a cabo:

- Cuantificación
- Tipificación

2.3 Cuantificación de espermatozoides

2.4 Descripción de la morfología

3. Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)

3.1 Se incubó de la muestra de suero (anticuerpos), con espermatozoides (antígeno) fijados sobre un laminilla de reacción.

3.2 En presencia de anticuerpos, se formaron complejos inmunitarios (Ag-Ac) que después se identificaron con un conjugado fluorescente de antiglobulina humana unida a un fluorocromo (conjugado IgG).

3.3 Los complejos inmunes se observaron bajo un microscopio de luz ultravioleta.

b. Diseño de la investigación

1. Muestra y diseño de muestreo: Se tomaron todas las parejas infértiles que fueron evaluadas por otros factores tanto masculinos como femeninos no encontrando la causa de su infertilidad y que asistieron a la clínica durante un período de un año y 6 meses.

El muestreo fue por conveniencia y no probabilístico, debido a la baja cantidad de parejas de interés a la investigación.

2. Análisis de resultados: Se hizo estadística descriptiva (tablas y graficas) y se reportó la proporción o frecuencia de anticuerpos antiesperma por pareja y por género, además se tomaron en cuenta otros hallazgos de interés epidemiológico como edad, tiempo de casados, estudios realizados en la pareja como espermograma, histerosalpingograma, laparoscopia, dosificación hormonal y prueba post-coital.

7. RESULTADOS

La determinación de anticuerpos antiesperma se realizó por medio del método de inmunofluorescencia indirecta. De esta manera se encontró que la presencia de anticuerpos antiesperma fue positiva en una dilución 1:4 en un varón, correspondiendo al 5.26 por ciento de las parejas del estudio (tabla No. 1).

Se determinó la distribución de la muestra (hombres y mujeres) de acuerdo a la edad (tabla No. 2). La tabla numero 3 presenta los resultados del recuento de espermatozoides en los varones del estudio. Los resultados de morfología y movilidad se observan en tablas 4 y 5 respectivamente. En el grupo de mujeres se estableció frecuencia de gestas abortos y partos y se presentan en las tablas 6 a 8.

La frecuencia del tiempo de casados y de parejas que confirmaron haber estado con tratamiento actual o pasado para infertilidad se presentan en tablas 9 y 10.

La frecuencia de mujeres con uno o más análisis adicionales como laparoscopia, examen post-coital, dosificación hormonal e histerosalpingograma se observan en tabla número 11.

Tabla No. 1 Frecuencia de pacientes con anticuerpos anti-esperma encontrados por medio del método de Inmunofluorescencia indirecta

	Mujeres(n=19)		Hombres(n=19)	
	Frecuencia	%	Frecuencia	%
anticuerpos antiesperma				
Positivos	0	0	1	5.26
Negativos	19	100.0	18	94.74

FUENTE: datos experimentales

Tabla no. 2 Frecuencia de edad en hombres y mujeres que participaron en el estudio

Intervalo de edad (años)	frecuencia hombres (n=19)	frecuencia mujeres (n= 19)
19- 24	0	1
25-29	0	2
30-35	5	8
36-41	9	6
42-47	5	2

FUENTE: datos experimentales

Tabla no. 3 Recuento de espermatozoides en las muestras de semen estudiadas

Recuento de espermas (rango por mililitro)	frecuencia (n=19)	%
0-31,000,000/ml	8	42.1
40-160,000,000 /ml	10	52.6
≥ 161,000,000 /ml	1	5.3

Recuento normal de espermatozoides = 40-160,000,000/ml (Manual de laboratorio de la OMS(20))

FUENTE: datos experimentales

Tabla no. 4 Morfología normal de espermatozoides encontrada en las muestras de semen estudiadas

Porcentaje de morfología normal de espermatozoides	frecuencia (n=19)	%
0- 69 %	1	5.3
70-80 %	3	15.8
≥ 81%	15	78.9

Porcentaje de morfología normal de espermas : 70-80% (Manual de laboratorio de la OMS(20))

FUENTE: datos experimentales

Tabla no. 5 Movilidad de espermatozoides en las muestras de semen estudiadas

Movilidad	frecuencia (n=19)	%
0- 50 %	10	52.6
51- 69 %	0	0
≥ 70%	9	47.4

Semen normal: 51-69% (Manual de laboratorio de la OMS(20))

FUENTE: datos experimentales

Tabla no. 6 Numero de gestas previas, abortos previos y partos previos en las mujeres estudiadas

	Gestas previas	Abortos previos	Partos previos
Frecuencia	8	3	6
Porcentaje (%)	42.1	15.8	31.6

FUENTE: datos experimentales

Tabla no. 7 Tiempo en años de actividad sexual de la pareja sin protección

Tiempo en años de casados	frecuencia (n=19)	%
1 - 4	6	31.6
5 - 8	8	42.1
9 - 12	2	10.5
13 - 16	3	15.8

FUENTE: datos experimentales

Tabla no. 8 Frecuencia de mujeres que refirieron historia de tratamiento para infertilidad

Tratamiento	frecuencia (n=19)	%
Si	5	26.3
No	14	73.7

FUENTE: datos experimentales

Tabla no. 9 Frecuencia de mujeres con uno o más antecedentes de otros análisis entre estos laparoscopia, prueba post-coital, dosificación hormonal e histerosalpingograma

Otros análisis (n=18)		laparoscopia	Prueba post-coital	Dosificación hormonal	Histerosalpingograma
Si(%)	no(%)	numero de casos			
5(26.3)	14(73.7)	2	2	2	4

FUENTE: datos experimentales

8. DISCUSIÓN

En la muestra estudiada se detectó la presencia de anticuerpos anti-esperma en una de las parejas estudiadas (5.26 por ciento), encontrándose en el cónyuge varón (tabla 1). Esta es una cifra mayor a la reportada en otros estudios, en los que se reporta que aproximadamente el 3 por ciento de los varones infértiles presentan anticuerpos antiesperma. Sin embargo el porcentaje obtenido en este estudio no puede generalizarse debido al número pequeño de la muestra (14,27,28). No se encontró presencia de anticuerpos antiesperma en mujeres, dato que no se esperaba ya que según otros estudios realizados la presencia de estos anticuerpos en mujeres puede ser hasta 20 por ciento (17).

Al respecto, queda aún la duda si la población guatemalteca difiere de otros grupos que han sido estudiados más extensamente y de los cuales existen varias publicaciones. Esto podría ser corroborado en un programa de más largo plazo, en el que sería necesario hacer un seguimiento a un número mayor de parejas y por un tiempo más prolongado.

Por otro lado, habría que considerar si el método, aunque específico, podría adolecer de baja sensibilidad. Por lo tanto, sería recomendable establecer un procedimiento no complicado, pero que permita la concentración de los anticuerpos séricos que pueden estar en bajos títulos, previamente a la corrida de la inmunofluorescencia, en estudios posteriores.

La edad más afectada por problemas de infertilidad en mujeres corresponde al rango de 30 a 41 años, y en los varones de 36 a 41 años (tabla no.2) la cual es una distribución igual a la de los datos del resto del mundo (3).

Se observó que 52.6 por ciento de las muestras de semen de los varones estudiados tuvo un recuento normal de espermatozoides y 42.1 por ciento presentó oligospermia (recuento de espermatozoides disminuido), 52.6 por

ciento presento movilidad por debajo del rango normal (astenospermia), mientras que 78.9 por ciento tenía una morfología normal (tablas 3-5).

En la población femenina se observó que el 57.9 por ciento refirió no haber tenido gestas previas, 84.2 por ciento reportó no haber tenido abortos y 68.4 por ciento no refirió partos previos, datos que permiten clasificarlas como población infértil después de más de un año de mantener relaciones sexuales sin protección (1,2). La mayoría de las parejas reportaron un tiempo de casados en un rango de 1 a 8 años de relaciones sin concepción (tabla 6).

En cuanto al tratamiento previo, el 73.7 por ciento de las mujeres refirió no haber estado en tratamiento para infertilidad y el mismo número reportó no haberse realizado análisis adicionales como laparoscopia, prueba post-coital, dosificación hormonal e histerosalpingograma.

La determinación de anticuerpos anti-espermatozoides en las parejas estudiadas fue un análisis más a la pareja infértil con el fin de contribuir a explicar y resolver su problema de una manera práctica, fácil, rápida y cómoda para ambos cónyuges. En la pareja en la que ésta fue positiva, por ejemplo, la presencia de anticuerpos fue la única explicación a su infertilidad, aunque se sabe que muchas veces este problema es multicausal y no debe considerarse como un dato aislado.

9. CONCLUSIONES

1. Se encontró presencia de anticuerpos antiesperma en un varón (5.26%) de las diecinueve parejas infértiles estudiadas.
2. Las mujeres afectadas por infertilidad en la muestra estudiada corresponde a la edad entre 30 y 41 años, y los hombres de este estudio con problema de infertilidad se encuentran en un rango de edad de 36 a 41 años.
3. El recuento de espermatozoides fue normal en más de la mitad de las muestras de semen estudiadas.
4. La morfología de los espermatozoides fue normal en más de la mitad de las muestras estudiadas y la movilidad fue normal en menos de la mitad de las mismas.

10. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio similar en una población más grande, con el fin de poder hacer inferencias a nivel de población general.
2. Evaluar técnicas fáciles y de bajo costo que permitan concentrar los anticuerpos presentes en el suero para mejorar la sensibilidad de la prueba de inmunofluorescencia.
3. Evaluar otras metodologías de detección de anticuerpos antiespermatozoides que permitan evaluar varias muestras a la vez y que no requieran equipo especializado

11. REFERENCIAS

1. Benson R C. Manual De Ginecología Y Obstetricia. 7.ed. México: Manual Moderno, 1985. p.665-674.
2. Sosa A. Causas y Tratamiento de la Infertilidad. Tesis (Medico y Cirujano). Guatemala: Universidad de San Carlos, 1999. p. 1-7.
3. Berek J S. Ginecología de Novak. 12.ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1997. p.915-950.
4. Derek LL J. Guía Ginecológica para la vida "Everywoman". Buenos Aires: Editorial intermedica, 1973. p 63
5. Scott J. Tratado De Obstetricia y Ginecología de Danforth. 6. ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1994. p 847-849.
6. Rajeev S K, Reddy K V. Sperm Membrane Protein profiles of Fertile an Infertile man: Identification and characterization of fertility associated sperm antigen. Hum rep 2004; 19:234-235.
7. Chiu W W, Erikson E K L, Sole C A, Shelling A N, Chamley L W. Sprasa, a Novel Sperm protein involved in Immune-mediated Infertility. Hum rep 2004; 19: 243-244.
8. Mazumdar S, Levine A S. Antisperm Antibodies: Etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. Fert and Ster 1998; 70: 799-808.
9. Wallach E E . Reproductive medicine and surgery. Baltimore: Mosby Year book, 1995. p 459-467.
10. Wallach J. Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio. 3. ed. España: Masson S.A, 1998. p.885-887.
11. Oliveros S, Sanchez LM, Frontela MN, Machado AJ. Anticuerpos antiespermatozoides en parejas con infertilidad de causa no explicada. Rev Cubana Endocrinol 2000; 11:7-11.
12. Facultad de ciencias Químicas y Farmacia. MANUAL DE HISTOPATOLOGIA. Guatemala: Universidad de San Carlos, 2002.

13. Navarro J. Pellicer A. Reproducción humana. 2 ed. España: McGraw-Hill Interamericana, 2002. p 287-300.
14. Gonzalez J. Ginecología. 6. ed. España: Editorial Masson, 1993. p. 144-145.
15. Parker E. The seven ages of woman. Baltimore: The Johns Hopkins press, 1960. p 303-325.
16. Idahl A, Boman J, Kumlin U, Olofsson J I. Demonstration Of *Chlamydia trachomatis* IgG Antibodies in the male partner of the infertile couple is correlated with a reduce likelihood of achieving prenanacy. Hum rep 2004; 19: 1121-1122.
17. Stites D P. Inmunologia basica y clinica. 9.ed. México: Editorial Manual Moderno, 1998. p 747 – 750.
18. Rose N, Friedman H, Fahey J. Manual of clinical laboratory and inmunology. 3. Ed. Washington: American society for microbiology, 1986. p 772-777.
19. Mahmoud A, Comhaire F. Antisperm antibodies. Use of the mixed agglutination reaction (MAR) test using latex beads. Hum rep 2000; 15: 231-232.
20. Alvear M. Manual de laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. 3. ed. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana, 1996. p 9-56.
21. Isidori A. Enfoque moderno al estudio semiológico. Re La Est Fert 1987; 1: 100-106.
22. Aguilar M A. Anticuerpos antiesperma como causa de infertilidad. Tesis (Médico y Cirujano). Guatemala: Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencia Médicas, 1987. p 12-15.
23. Caldwell J. et al. Manual de inmunología clínica. México: Editorial manual moderno, 1980. p 406 – 408.
24. Wald M. Male infertility causes and cures. Sex Rep&Men 2005; 3: 83-87.
25. Lamb Dj, Lipshultz L I. Male infertility, recent advances and a look towards the future. Curr Opin Urol 2000; 10: 359-362.

26. Dohle GR. Inflammatory- associated obstructions of the male reproductive tract. *Andrología* 2003; 35: 321-324.
27. Collins JA, Burrows EA, Yeo J, Young EV. Frequency and predictive value of antisperm antibodies among infertile couples. *Hum rep* 1995; 8: 592-598.
28. Naz RK, Bhargava KK. Antibodies to sperm Surface fertilization Antigen (fa-1), their specificities and the site of interaction with sperm in the male genital tract. *Mol Rep Dev* 1990; 26: 175-183.
29. Jarvi K, Noss MB. Pyospermia and male infertility. *Can J Urol.* 1994; 1:25-30.
30. Foster RS, Rubin LR, McNulty A. Detection of Antisperm-antibodies in patients with primary testicular cancer. *Int J Androl.* 1991; 14:179-185.

ANEXOS

Anexo no. 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

NOTA INFORMATIVA

Por medio de la presente se les informa que actualmente se lleva a cabo un proyecto de investigación denominado

“DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTIESPERMA EN PAREJAS INFERTILES”

por lo que solicitamos a ustedes su autorización para usar sus muestras, tanto de sangre como de semen, para la investigación de anticuerpos antiesperma en parejas infértiles. Se les notifica que los resultados obtenidos se entregaran de forma confidencial a su médico

Si ustedes están de acuerdo a lo anterior, sírvase leer el siguiente párrafo; de lo contrario quedamos agradecidos por su atención.

Patricia Jerez Sandoval
Investigadora

Asesora
Licda. Margarita Paz

CONSENTIMIENTO

Por medio de la presente nosotros autorizamos el uso de nuestras muestras de sangre y de semen exclusivamente para la investigación y no tenemos objeción en participar en el estudio arriba mencionado.

Firmas de ambos conyuges

Anexo no. 2

Ficha clínica de control

FECHA: _____

CONYUGE MASCULINO

NOMBRE: _____

EDAD: _____ años

Recuento de espermatozoides: _____ / mililitro

Morfología: _____

Movilidad: _____

CONYUGE FEMENINO

NOMBRE: _____

EDAD: _____ años

GESTAS: _____

ABORTOS: _____

Razones _____ de
pérdidas: _____

PARTOS: _____

TIEMPO DE CASADOS: _____

Tratamiento pasado y/o actual: _____

Ada Patricia Jerez Sandoval
Autora

Licda. Margarita Paz
Asesora

MSc. Gerardo Arroyo.
Revisor

Ph.D. Patricia Saravia
Revisor

MSc. Vivian Matta
Directora de Escuela Química Biológica

Ph.D. Oscar Cobar Pinto
Decano

