
Autoanticuerpos antiespermatozoides e infertilidad

ISABEL C. HENAO, ANGELA P. CADAVID, JORGE E. OSSA

Para determinar la presencia de anticuerpos antiespermatozoides y correlacionarla con la situación reproductiva, el espermograma y la calidad del moco cervical, se estudiaron 7 parejas sanas, con hijos, y 14 infértiles. Se determinaron por las técnicas directa e indirecta de inmunoesferas los anticuerpos de los isotipos IgG e IgA en espermatozoides, suero y moco cervical. En 9 de los 14 hombres infértiles y en 1 de los 7 fértiles se encontraron anticuerpos IgG en la superficie de los espermatozoides ($p= 0.042$ y una Razón de disparidad [RD] = 10.8) y 8 de éstos también tuvieron IgA en los espermatozoides. El número de pruebas alteradas en el espermograma de los hombres infértiles fue significativamente mayor ($p= 0.0029$ y RD = 3.32). Tanto en los hombres infértiles como en los fértiles la presencia de sólo IgG en el suero parece ser un "factor de protección" contra IgG en los espermatozoides; de los 16 hombres que presentaron anticuerpos, fuera en el suero o en los espermatozoides, sólo en uno no se confirmó la anterior aseveración.

PALABRAS CLAVE

AUTOINMUNIDAD
AUTOANTICUERPOS
ANTICUERPOS ANTIESPERMATOZOIDES

INFERTILIDAD ESPERMATOZOIDES

INTRODUCCIÓN

El significado de los anticuerpos antiespermatozoides ha sido tema de investigación y controversia desde hace varios años. Se ha informado que hasta un 60% de los hombres adultos normales tienen anticuerpos antiespermatozoides en el suero (1) y un 15-30% son positivos para anticuerpos unidos a los espermatozoides (2-4); de la misma manera, en el 2% de las mujeres se encuentran anticuerpos antiespermatozoides en el moco cervical (5,6). De tal suerte que estos anticuerpos no se consideran causa absoluta de infertilidad (7), pero sí existe información en el sentido de que reducen la posibilidad de éxito reproductivo (8); también se ha demostrado que pueden interferir con la interacción de los gametos humanos *in vitro* (9-11).

ISABEL C. HENAO, Bióloga; DOCTORA ANGELA P. CADAVID, MD, MS; DOCTOR JORGE E. OSSA, MV, PhD. Profesor Titular; todos del Programa de Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Los anticuerpos antiespermatozoides se sospechan cuando se obtiene una prueba poscoito anormal a repetición (11) o si hay aglutinación de los espermatozoides (7). Existe asociación directa entre la cantidad de anticuerpos unidos a los espermatozoides y la infertilidad (9), la clase de anticuerpo y la región del espermatozoide contra la cual están dirigidos (12-13).

Se han identificado varias clases de antígenos espermáticos como los del grupo ABO, la acrosina, antígenos H-Y, la hialuronidasa, las protaminas, DNA polimerasas, etc. (14). Se han señalado varios factores asociados al desarrollo de anticuerpos contra los antígenos mencionados; hasta en un 60% de los pacientes vasectomizados se detectan anticuerpos antiespermatozoides (15) y lo mismo ocurre en casos de inflamación inducida por infección o trauma (16). Algunos hablan de una predisposición genética para el desarrollo de estos anticuerpos (17).

En el trasfondo de la controversia anterior cabe recordar que el semen representa un caso especial en el desarrollo de la tolerancia inmunológica contra lo propio (18,19). Según las explicaciones clásicas de la inmunología el establecimiento de la tolerancia tiene lugar durante la vida embrionaria, mientras que los espermatozoides, con su dotación de antígenos específicos, sólo aparecen al inicio de la adolescencia. Lo anterior significa que es necesario definir mecanismos de tolerancia más allá de la vida intrauterina. Se puede pues proponer que la problemática de los anticuerpos antiespermatozoides, en el hombre, plantea un problema tanto clínico como básico, ambos de la mayor importancia social y científica.

En la mujer la frecuencia de anticuerpos antiespermatozoides es muy escasa (4,5). Esto se explica por la presencia de factores inmunosupresores en los fluidos vaginales y seminales que alterarían la función de los linfocitos e inhibirían la lisis mediada por el complemento y la expresión de antígenos en la superficie del espermatozoide (18). Tanto en la mujer como en el hombre los anticuerpos pueden tener origen local o sistémico y se acepta que la IgG sería principalmente sérica y la IgA de origen local (7,18).

Si la autoinmunidad está asociada con algunas causas conocidas como varicocele o torsión de los cordones espermáticos, la remoción de la causa primaria puede conducir a la solución del problema. Cuando no existe una causa evidente, la terapia recomendada se basa en la disminución del nivel de

anticuerpos, lo cual puede lograrse con corticoides o mediante el uso de condón durante un período, en el caso de que los anticuerpos ocurran en la mujer. Adicionalmente, se pueden ofrecer protocolos de reproducción asistida mediante lavado de los espermatozoides e inseminación artificial (19,20).

Finalmente, es importante recordar que la detección de anticuerpos antiespermatozoides en hombres y mujeres, en condiciones naturales, abre la posibilidad de la anticoncepción inmunológica basada en vacunas antiespermatozoides. En este sentido se tienen varios antígenos específicos como candidatos para tal efecto (21-28).

El objetivo de este trabajo fue comparar la frecuencia de anticuerpos antiespermatozoides en suero, moco cervical y espermatozoides, de parejas sanas con hijos y parejas infértiles, por las técnicas directa e indirecta de inmunoesferas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes y controles

Se seleccionaron siete parejas sanas, con hijos, y 14 que consultaron por posible infertilidad sin lograr embarazo después de un año o más de relaciones sexuales sin protección (20). A cada pareja se le explicó el objetivo del estudio y se le solicitó su participación voluntaria en el mismo. Con el fin de caracterizar a cada uno de los miembros de las parejas se realizó una encuesta que incluyó las variables edad, alcoholismo, tabaquismo, dietas, tipo de ropa interior, estrés, actividad física e intelectual, ejercicios o deportes extenuantes, ocupación, exposición a calor, sustancias químicas o radiaciones, historia medicoquirúrgica, diagnósticos o tratamientos previos, infecciones venéreas, parotiditis, orquitis, prostatitis, enfermedades crónicas, traumatismos testiculares, herniorrafias, ingesta de medicamentos, historia ginecológica como el ritmo menstrual y sus características, sangrados anormales, fecha de las dos últimas menstruaciones, leucorrea, frecuencia de las relaciones sexuales, empleo de lubricantes, duchas postcoito, alteraciones en la erección o eyaculación, dispareunia, prácticas homosexuales, fertilidad con otra pareja y uso previo de anticonceptivos, defectos anatómicos e historia de factores hereditarios asociados con esterilidad.

Muestras

De cada uno de los miembros de las parejas se obtuvieron muestras de suero y se conservaron a -70°C hasta su uso. Los sueros se inactivaron a 56°C durante media hora, antes de realizar la prueba indirecta de inmunoesferas.

Semen

Cada uno de los hombres contribuyó con 2 a 3 muestras de semen, obtenidas por masturbación, a las cuales se les realizó un espermograma, acorde con las instrucciones de la OMS. Las muestras llegaron al laboratorio en un plazo máximo de 60 minutos después de la eyaculación y se procesaron inmediatamente.

Se consideraron anormales los siguientes hallazgos: Volumen de semen inferior a 2 ml; concentración de espermatozoides menor de 40×10^6 células/ml; presencia de leucocitos superior a 1×10^6 /ml.

Motilidad: Más del 25% de espermatozoides inmóviles.

Morfología: Más del 30% de espermatozoides con forma anormal.

Viabilidad: Menos del 50% de espermatozoides vivos.

Moco cervical

Se obtuvieron muestras preovulatorias de moco cervical de cada una de las mujeres, utilizando un espéculo estéril no lubricado. Se procedió a realizar un análisis de las características del mismo según los criterios recomendados por la OMS. La muestra se fijó con formalina y se conservó a -20°C por un período no superior a tres días, para luego ser procesada con el método indirecto de inmunoesferas.

Prueba directa de inmunoesferas

Se utilizaron microesferas de poliacrilamida (CGS; Bio-Rad Laboratories Inc., Diagnostics Division, Hercules, CA, USA) unidas covalentemente a anticuerpos de conejo contra inmunoglobulinas humanas IgG e IgA, según protocolo de la OMS (26). Se determinaron la proporción de espermatozoides móviles con esferas unidas a su superficie y el patrón

de localización predominante: Cabeza, pieza media o cola. La prueba se consideró negativa cuando se encontraron menos del 20% de los espermatozoides con esferas adheridas.

Prueba indirecta de inmunoesferas en suero y moco cervical

Durante 1 hora y a 37°C se incubaron 0.2 ml de suero o moco cervical con 50 μl de semen normal negativo en la prueba de inmunoesferas directa; luego la muestra se lavó con solución Tirode y se procesó como en el método directo.

Análisis estadístico

Para el contraste de proporciones se utilizaron la prueba de Chi cuadrado o la exacta de Fisher con un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS

La edad promedio de los hombres fértiles fue 36.5 años (rango entre 28 y 45); la de los infértiles 27.5 (rango de 24 a 31); la de las mujeres fértiles fue 29 (rango entre 25 y 33) y la de las infértiles 30 (rango de 23 a 37).

En los hombres infértiles se encontraron 3 con varicocele, uno con uretritis, uno con herpes genital y dos azoospermicos que referían contacto directo con plaguicidas. En ninguna de las mujeres de las parejas infértiles se demostraron problemas útero-tubáricos u hormonales y dos de ellas habían presentado abortos espontáneos hacía más de tres años. En las parejas normales no se encontraron factores asociados con infertilidad.

El volumen medio de semen en los hombres de las parejas infértiles fue 2.44 ml y en los de las fértiles 3.74 ml. El 35.7% (5/14) de los hombres de las parejas infértiles tenían volúmenes de semen de menos de 2 ml en tanto que los controles estaban todos por encima de esta cantidad. La concentración media de espermatozoides en los hombres de las parejas infértiles fue 76.36×10^6 y en los de las fértiles 97.14×10^6 . El 28.6% (4/14) de los hombres de las parejas infértiles tenían una concentración de espermatozoides inferior a 40×10^6 células/ml y en todos los controles el recuento era igual o superior a esa cifra. El recuento medio de leucocitos en el

TABLA N° 1

PRUEBA DE INMUNOESFERAS DIRECTA E INDIRECTA EN PAREJAS INFÉRTILES

Pareja	HOMBRES				MUJERES			
	ESPERMATOZOIDES		SUERO		MOCO CERVICAL		SUERO	
	G	A	G	A	G	A	G	A
1	+	+	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	+	-	-	-	-	-
4	+	-	+	+	-	-	-	-
5	+	+	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	+	+	-	-
7	+	+	-	-	-	-	-	-
8	+	+	-	-	+	+	-	-
9	+	+	-	-	-	-	+	+
10	+	+	+	-	-	-	-	-
11	-	-	+	-	-	-	+	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-
13	+	+	-	-	-	-	+	-
14	+	-	-	+	-	-	-	-

El número se refiere a toda la pareja

Espermatozoides, suero y moco cervical fueron los fluidos en los cuales se realizó la prueba de inmunoesferas.

+: Positivo para anticuerpos antiespermatozoides.

G y A (IgG e IgA)

semen de los hombres de parejas fértiles fue 1.21×10^6 y en los de las infértiles 1.07×10^6 . Siete de los 14 hombres de parejas infértiles tenían recuentos leucocitarios superiores a 1×10^6 células/ml y 4 de los 7 controles superaban esa concentración.

El 50% (6/12) de los hombres de parejas infértiles tenían más del 25% de los espermatozoides inmóviles y este hallazgo sólo se tuvo en uno de los controles (14.3%).

No se encontraron anomalías morfológicas de los espermatozoides en ninguno de los dos grupos. Tampoco se hallaron casos con problemas de viabilidad en los espermatozoides de los hombres de parejas fértiles y sólo 1 en los infértiles.

La aglutinación de los espermatozoides fue el hallazgo más frecuente; se presentaron además alteraciones en su concentración, motilidad y viabilidad. Éstas fueron significativamente más frecuentes en los hombres de las parejas infértiles que en promedio tuvieron tres alteradas mientras en los fértiles sólo había una alterada ($p= 0.029$ y $RD= 3.32$).

Las tablas N°1 y 2 registran los resultados de la prueba de inmunoesferas: En 9 de los 14 hombres de parejas infértiles y en uno de los 7 controles se demostró IgG sobre los espermatozoides ($p= 0.042$ y $RD= 10.8$). La presencia de IgA en los espermatozoides también fue mayor en los infértiles (50%) que en los fértiles (12%) pero la diferencia no tuvo significancia estadística.

Fue poco frecuente el hallazgo de anticuerpos séricos antiespermatozoides. La presencia de IgG sérica antiespermatozoides se correlacionó negativamente con la IgG en espermatozoides; sólo en uno de los 16 pacientes no se confirmó la anterior correlación. También fue escasa la frecuencia de anticuerpos en moco cervical y no hubo diferencias entre los dos grupos.

El volumen, pH, filancia y celularidad del moco cervical estuvieron dentro de los patrones de la OMS.

TABLA N° 2

PRUEBA DE INMUNOESFERAS DIRECTA E INDIRECTA EN PAREJAS FÉRTILES
CONTROLES

Pareja	HOMBRES			MUJERES			
	ESPERMATOZOIDES	SUERO	SUERO	MOCO CERVICAL	MOCO CERVICAL	SUERO	SUERO
	G	A	G	A	G	A	A
1	+	+				+	
2	-		+			-	
3	-		+				
4	-		+		-		
5					+		-
6					-		-
7					-		-

El número se refiere a toda la pareja.

Espermatozoides, suero y moco cervical fueron los fluidos en los cuales se realizó la prueba de inmunoesferas

+: Positivo para anticuerpos antiespermatozoides.

G y A (IgG e IgA).

DISCUSIÓN

En este estudio se demostró que la presencia en los espermatozoides de anticuerpos IgG es 10.8 veces más frecuente en los hombres de parejas infértiles que en los fértiles y aunque no se encontraron diferencias significativas en relación a la IgA su frecuencia también fue mayor en los infértiles.

Los anticuerpos antiespermatozoides pueden tener diferentes efectos, tales como aglutinar e inmovilizar los espermatozoides en el semen o en el tracto reproductor femenino (7); interferir con el proceso de fertilización al unirse a antígenos de membrana involucrados en la interacción esperma-ooocito (29-32); afectar diferentes estados del proceso de fertilización (3,10) y provocar pérdida del embrión pre o posimplantación (7,25).

Se han presentado evidencias del efecto adverso de los anticuerpos antiespermatozoides y Dondero y col. (14) encontraron diferencias en los títulos de anticuerpos en grupos de individuos fértiles y en parejas infértiles. Sin embargo, Ward (33) sugirió que los anticuerpos presentes en plasma seminal y suero no están necesariamente relacionados con los procesos reproductivos y que su presencia no tiene correlación clínica. Adicionalmente, Alexander y An-

derson (34) encontraron en un estudio realizado con 20 parejas fértiles y 20 infértiles, que la frecuencia de anticuerpos antiesperma en suero y espermatozoides era similar en ambos grupos.

Sobre el origen y la patogénesis de los anticuerpos antiespermatozoides tampoco se conocen los elementos mayores. Algunos autores han sugerido que la IgA dirigida contra la cola está asociada con aglutinación y con una penetración pobre del moco cervical (19). La IgG, por su parte, estaría comprometida con la inhibición de la fusión esperma-ooocito en el hamster (35). Adicionalmente se ha sugerido que estos dos isotipos de inmunoglobulinas pueden actuar sinérgicamente para inhibir la fertilización (36).

En cuanto al origen de los anticuerpos antiespermatozoides se ha sugerido la presencia de antígenos de reacción cruzada con algunas bacterias (37). Otros han planteado la posibilidad de inmunización a través de soluciones de continuidad en el tracto genital (15); incluso se ha mencionado la alta inmunogenicidad de los espermatozoides por vía rectal (38).

El número de pacientes y controles en este estudio no es suficientemente grande para poder aseverar sin restricciones que la presencia de sólo IgG

antiesperma en el suero representa "un factor de protección" contra IgG en los espermatozoides; sin embargo, esta observación que parece no tener antecedentes en la literatura resulta muy interesante sobre todo por sus implicaciones en la comprensión del fenómeno. Si se acepta que la autoinmunidad es una condición normal, y no patológica como se interpretó durante mucho tiempo, podría proponerse que la injuria que conduce a la presentación patológica de anticuerpos antiespermatozoides puede, de alguna manera, alterar no solamente la cantidad sino la distribución de dichos anticuerpos. En otras palabras una lesión (varicocele, uretritis, vasectomía, trauma) que eventualmente conduzca a la infertilidad asociada con anticuerpos, lleva a un secuestro de esos anticuerpos plasmáticos que se localizan entonces en las estructuras genitales. Es importante notar que la presencia de IgA en el suero no tuvo la misma relación; por el contrario, se asoció positivamente con la presencia de anticuerpos en los espermatozoides.

En resumen, la prueba directa de inmunoesferas en semen es útil para discriminar pacientes fértiles e infértiles y su uso, asociado con el del espermograma, es importante en la asistencia clínica de los pacientes con sospecha de infertilidad.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Antioquia, al Programa de Reproducción y al Biólogo Marco Antonio Gil. Esta investigación contó con el apoyo financiero del Comité para el desarrollo de la investigación, CODI, de la Universidad de Antioquia.

SUMMARY

ANTISPERM AUTOANTIBODIES AND INFERTILITY

Fourteen human infertile couples were studied along with seven fertile control couples in order to determine the presence of antisperm autoantibodies and to correlate results with their clinical reproductive status, spermogram parameters and the quality of cervical mucus. Immunoglobulins of IgG and IgA isotypes were evaluated on spermatozoa by the direct immunobead technique and in serum and cervical

mucus by the indirect method. The following differences were found: Nine of 14 male patients but only 1 of 7 male controls had IgG on spermatozoa ($p=0.042$ and $OR=10.8$). Seven out of 14 male patients and 1 of 7 controls were positive for IgA on spermatozoa ($p=0.12$). Infertile males had a higher frequency of abnormal spermogram parameters as compared to controls ($p=0.0029$ and $OR=3.32$). Interestingly, the presence of only IgG in serum appeared to be a "protective factor" against IgG on sperm; only one out of the 16 positive males contradicted this observation.

BIBLIOGRAFÍA

1. PETERSAJ. Sperm antibodies. *Am J Reprod Immunol* 1992; 27: 156-162.
2. RUMKE P. Autoantibodies against spermatozoa in infertile men. *J Reprod Fertil* 1995; 21: 169.
3. LIU DY, CLARKE GN, BAKER HWG. Inhibition of human sperm-zona pellucida and sperm-olema binding by anti-sperm antibodies. *Fertil Steril* 1991; 55: 440-442.
4. TESARIK J. Male factor in human infertility. *Frontiers Endocrinol* 1995; 8: 1-14.
5. SALTZMAN WM, RADOMSKY ML, WHALEY KJ, et al. Antibody diffusion in human cervical mucus. *Biophys J* 1994; 66: 508-515.
6. EGGERT-KRUSE W, BOCKEM-HELLWIG S, DOLL A, et al. Antisperm antibodies in cervical mucus in an unselected subfertile population. *Hum Reprod* 1993; 8: 1025-1031.
7. LEHMANN D, TEMMINCK B, DA RUGNA D, et al. Role of immunological factors in male infertility. Immunohistochemical and serological evidence. *Lab Invest* 1987; 57: 21-28.
8. CLARKE GN. Sperm antibodies and human fertilization. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1988; 17: 65-71.
9. ZOUARI R, DE ALMEIDA M, RODRIGUES D, et al. Localization of antibodies on spermatozoa and sperm movement characteristics are good predictors of in vitro fertilization success in cases of male autoimmune infertility. *Fertil Steril* 1993; 59: 606-612.
10. SUKCHAROEN N, KEITH J. The effect of the antisperm auto-antibody-bound sperm on in vitro fertilization outcome. *Andrology* 1995; 27: 281-289.
11. RAJAH SV, PARSLOW JM, HOWELL RJ, et al. The effects on in-vitro fertilization of autoantibodies to spermatozoa in subfertile men. *Hum Reprod* 1993; 8: 1079-1080.
12. JAGER S, KREMER J, VAN SLOCHTEREN-DRAAISMA T. Presence of sperm agglutinating antibodies in fertile men and inhibition of in vitro sperm penetration into cervical mucus. *Int J Androl* 1979; 2: 117-130.
13. STEEN Y, FORSSMAN L, LONNERSTEDT E, et al. Antisperm IgA antibodies against the equatorial segment of the human spermatozoon are associated with impaired sperm penetration and subfertility. *Int Fertil* 1994; 39: 52-56.

14. DONDERO F, LENZI A, GANDINI L, et al. Immunological infertility in humans. *Exp Clin Immunogenet* 1993; 10: 65-72.
15. FLICKINGERT CJ, HOWARDS SS, BUSH LA, et al. Temporal recognition of sperm autoantigens by IgM and IgG autoantibodies after vasectomy and vasovasostomy. *J Reprod Immunol* 1994; 27: 135-150.
16. WOLFF H. The biological significance of white blood cells in semen. *Fertil Steril* 1995; 63: 1143-1157.
17. POLLANEN P, COOPER TG. Immunology of the testicular efferent ducts. *J Reprod Immunol* 1994; 26: 167-216.
18. SHIBAHARA H, SHIGETA M, TOJI H, et al. Sperm immobilizing antibodies interfere with sperm migration from the uterine cavity through the fallopian tubes. *AJRI* 1995; 34: 120-124.
19. NAZ RK, MENGE AC. Antisperm antibodies: origin, regulation, and sperm reactivity in human infertility. *Fertil Steril* 1994; 61: 1001-1013.
20. COMHAIRE F, ZALATA A, MAHMOUD A, et al. Diagnostic and therapeutic approach to moderate and severe male subfertility in 1995. *Hum Reprod* 1995; 10: 144-150.
21. VAN DEN EEDE B. Investigation and treatment of infertile couples: ESHRE Guidelines for good clinical and laboratory practice. *Hum Reprod* 1995; 10: 1246-1271.
22. AUER J, PIGNOT-PAINTRAND I, DE ALMEIDA M. Identification of human sperm surface glycoproteins by sperm membrane-specific autoantibodies. *Hum Reprod* 1995; 10: 551-557.
23. CLARK GF, PATANKAR MS, HINSCH KD, et al. New concepts in human sperm-zona pellucida interaction. *Hum Reprod* 1995; 10: Suppl 1: 31-37.
24. BEDFORD MJ. The contraceptive potential of fertilization: a physiological perspective. *Hum Reprod* 1994; 9: 842-858.
25. ALEXANDER NJ. Future contraceptives. *Sci Am* Sept. 1995; 136-141.
26. Organización Mundial de la Salud. Manual de laboratorio para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. 1992
27. WASSARMAN PM. Gamete interactions during mammalian fertilization. *Theriogenology* 1994; 41: 31-44.
28. GARBERS D. Molecular basis of fertilization. *Annu Rev Biochem* 1989; 58: 719-741.
29. KURPISZ M. Molecular basis for sperm-oocyte interaction. *Fol Histochem Citol* 1993; 31: 103-108.
30. WASSARMAN PM. Fertilization in mammals. *Sci Am* 1988; 235: 52-59.
31. MARQUANT GB, DE ALMEIDA M. Role of guinea-pig sperm autoantigens in capacitation and the acrosome reaction. *J Reprod Fertil* 1986; 77: 337-345.
32. O'RAND MG. Inhibition of fertility and sperm-zona binding by antiserum to the rabbit sperm membrane auto-antigen RSA-1. *Biol Reprod* 1981; 25: 621-628.
33. WARD WS. Deoxyribonucleic acid loop domain tertiary structure in mammalian spermatozoa. *Biol Reprod* 1993; 48: 1193-1201.
34. ALEXANDER N, ANDERSON D. Immunology of semen. *Fertil Steril* 1987; 47: 192-204.
35. YANAGIMACHI R, YANAGIMACHI H, ROGERS BJ. The use of zona free animal ova as a test-system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol Reprod* 1976; 15: 471-476.
36. BELING CG, WESKLER ME. Suppression of mixed lymphocyte reactivity by human chorionic gonadotrophin. *Clin Exp Immunol* 1974; 18: 537-541.
37. OGRA PL, OGRA SS. Local antibody response to polio vaccine in the human genital tract. *J Immunol* 1973; 110: 1307-1311.
38. PARR EL, PARR MB. The effect of sperm immunization in the gastrointestinal tract on anti-sperm antibody production and fertility in female mice. *J Reprod Immunol* 1986; 9: 49-56