



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL

**EVOLUÇÃO E PERFIL DOS ANTICORPOS ANTIESPERMATOZÓIDES NOS
PRIMEIROS 180 DIAS EM INDIVÍDUOS VASECTOMIZADOS**

FLÁVIO BARBOSA MOREIRA DA ROCHA

FORTALEZA
Julho, 2005

FLÁVIO BARBOSA MOREIRA DA ROCHA

**EVOLUÇÃO E PERFIL DOS ANTICORPOS ANTIESPERMATOZÓIDES NOS
PRIMEIROS 180 DIAS EM INDIVÍDUOS VASECTOMIZADOS**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Patologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador:

Prof.: Dr. Talapala Govindaswamy Naidu

FORTALEZA

Julho - 2005

R 573 e Rocha, Flávio Barbosa Moreira da
 Evolução e perfil dos anticorpos antiespermatozóides
 nos primeiros 180 dias em indivíduos vasectomizados /
 Flávio Barbosa Moreira da Rocha.- Fortaleza, 2005.
 96. : il.
 Orientador: Prof. Dr. Talapala Govindaswamy Naidu.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do
 Ceará. Faculdade de Medicina.
 1. Vasectomia. 2. Imunoglobulinas. 3. Infertilidade
 masculina. I. Govindaswamy, T. (Orient.) II. Título.

CDD 617.463

FLÁVIO BARBOSA MOREIRA DA ROCHA

EVOLUÇÃO E PERFIL DOS ANTICORPOS ANTIESPERMATOZÓIDES NOS
PRIMEIROS 180 DIAS EM INDIVÍDUOS VASECTOMIZADOS

Dissertação submetida à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Patologia do
Departamento de Patologia e Medicina
Legal da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Patologia.

Aprovada em 11/07/2005

BANCA EXAMINADORA

Prof.: Dr. Talapala Govindaswamy Naidu (Orientador)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof.: Dr. Ivo Castelo Branco Coelho
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof.: Dr. Lucio Flávio Gonzaga Silva
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof.: Dr. Max Victor Carioca Freitas
Universidade Federal do Ceará - UFC

À minha esposa Olívia e às minhas filhas Lara e Lívia, pelo amor, carinho e compreensão durante todo o período de elaboração deste trabalho, quando não pude dar-lhes a atenção merecida.

Ao meu pai Edilson (*in memoriam*) e minha mãe Inês, pelo exemplo de vida e pela educação a mim proporcionada.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Deus, por sua presença luminosa em minha vida.

Ao Prof. Dr. Talapala Govindaswamy Naidu,
pelo brilhantismo intelectual e pela incansável
dedicação na orientação deste trabalho
científico.

Ao Prof. Marcus Davis Machado Braga, meu amigo e irmão, pelo estímulo constante e valiosa colaboração em todos os momentos da elaboração desta pesquisa.

AGRADECIMENTOS

- Ao Centro de Reprodução Assistida do Ceará (CONCEPTUS), por ter cedido o espaço e o suporte laboratorial necessários para a realização deste trabalho.
- Às biólogas, Ana Beatriz Graça Duarte e Daniele Oliveira de Araújo, pelo profissionalismo na orientação das análises laboratoriais.
- Aos professores do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, pelos ensinamentos a mim transmitidos.
- Ao Prof. Dr. Ivo Castelo Branco Coelho, ao Prof. Dr. Lucio Flávio Gonzaga Silva e ao Prof. Dr. Max Victor Carioca Freitas, que prontamente aceitaram o convite para participarem da Banca Examinadora.
- À Paula Palácio secretária do Departamento, que sempre atenta e cuidadosa me acompanhou em todas as etapas do curso.
- À bibliotecária Norma de Carvalho Linhares pela competência na orientação das normas de citação das referências bibliográficas
- Ao meu sobrinho Vitor Moreira da Rocha Ponte, pela disponibilidade e orientação na elaboração dos gráficos e tabelas desta dissertação.
- Às enfermeiras e psicólogos do Ambulatório de Cirurgia Geral da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pelo profissionalismo na seleção dos voluntários à vasectomia, como também às auxiliares de enfermagem que estiveram presentes na realização dos procedimentos cirúrgicos.

- Aos colegas de mestrado, pelo companheirismo e solidariedade.

- Ao acadêmico de medicina, Emanuel Capistrano Costa Júnior, pela assistência e auxílio, na realização das vasectomias.

- A toda minha família e amigos, que estiveram presentes e solidários na realização deste trabalho.

RESUMO

A vasectomia, como método de contracepção, poderá ser revertida em situações especiais, através dos procedimentos cirúrgicos; porém, o desenvolvimento de respostas humorais auto-ímmunes pós-vasectomia, em alguns, poderá ser um impeditivo para restaurar a fertilidade. Neste contexto, investigações sobre a incidência e evolução das respostas auto-ímmunes em vasectomizados poderão oferecer subsídios, tanto para a compreensão da infertilidade auto-ímmune associada à vasectomia, quanto para avaliação do sucesso nos esforços para restauração da fertilidade nestes indivíduos. Foram selecionados 20 voluntários com desejo manifesto de se submeterem à vasectomia; encaminhados, na sua maioria, pela Maternidade Escola Assis Chateaubriand. As vasectomias foram realizadas pelo autor da pesquisa, no Ambulatório de Cirurgia da Faculdade de Medicina. Amostras de sangue e sêmen foram colhidas antes e 30, 90 e 180 dias após a vasectomia, e a presença das IgG e IgA, avaliada no Centro de Reprodução Assistida do Ceará (CONCEPTUS), através do Immunobead Test (IBT), com o método direto para amostras pré-cirúrgicas de sêmen e o método indireto para as amostras seminais posteriores e as de soro. Os anticorpos foram detectados nos soro e/ou sêmen, nas positivities de $>0\%$ (todas as reações positivas) e $\geq 20\%$ de espermatozoides ligados às imunoglobulinas. Foram estudadas: i) avaliações comparativas das incidências das IgG e/ou IgA, ii) evoluções dos títulos dos anticorpos em função do tempo, e iii) análises dos sítios de ligação dos anticorpos nos espermatozoides de voluntários. Nenhuma das amostras pré-vasectomia revelou presença de anticorpos antiespermatozoides; porém IgG e IGA estavam presentes no soro e sêmen simultaneamente nas amostras pós-vasectomia da maioria dos indivíduos, revelando crescimento progressivo de 30 até 180 dias. A presença conjunta dos anticorpos sempre se mostrou predominante. Na positividade de $>0\%$, 25% dos vasectomizados eram positivos em 30 dias, com IgG ou IgA presentes, individualmente, em poucos. Em 90 dias, 60% dos vasectomizados revelou presença dos anticorpos, o que aumentou para 85% em 180 dias. A positividade de $\geq 20\%$ não foi encontrada em nenhum dos indivíduos. Em exames de soro, isoladamente, a positividade de $\geq 20\%$ aumentou de um indivíduo em 30 dias, para três em 90 dias, e para quatro (25%) em 180 dias. No sêmen, esta positividade não foi detectada em

nenhum indivíduo. Avaliações dos títulos de anticorpos (% de espermatozoides ligados aos anticorpos), revelaram que as IgG e IgA aumentaram progressivamente com tempo, tanto no soro quanto no sêmen, com a IgG sempre na dianteira; atingindo, aos 180 dias, os valores médios de 7,90% (mediana – 5%) e 6,35% (mediana - 4,50%); respectivamente para IgG e IgA. A peça intermediária (PI) e cauda do espermatozoide, nesta ordem, foram os principais sítios de ligação das IgG e IgA. Esses resultados mostram que um número significativo de até 85% dos vasectomizados desenvolve as IgG e IgA antiespermatozoides nos primeiros 180 dias; com a positividade crescente que alcança $\geq 20\%$ em alguns; o que poderá, em tese, comprometer as tentativas futuras de restauração da fertilidade nestes indivíduos.

EVOLUTION AND PROFILE OF THE ANTISPERM ANTIBODIES DURING THE FIRST 180 DAYS OF THE VASECTOMIZED INDIVIDUALS.

Flávio Barbosa Moreira da Rocha

Department of Pathology and Legal Medicine; Federal University of Ceará

ABSTRACT

The contraceptive method of vasectomy can be reversed, in certain circumstances, through surgical procedures; but the incidence of autoimmune antisperm humoral responses in some vasectomized individuals may impede attempts to restore fertility. In this context, investigations on the incidence and evolution of autoimmune responses in vasectomized individuals may contribute for the understanding of autoimmune infertility associated with vasectomy, as also for the assessment of viability of restorative surgeries for fertility. Twenty individuals who have requested voluntary vasectomy for contraception, most referred by the Assis Chateaubriand School of Maternity of the Federal University of Ceará, were selected for the study. Surgical vasectomy was performed by the author, in the Ambulatory ward of the Faculty of Medicine. Blood and semen samples were collected from the individuals prior to, and 30, 90 and 180 days after vasectomy. Antisperm IgG and IgA were evaluated in the Center for Assisted Reproduction of Ceará (CONCEPTUS), by "Immunobead" technique (IBT), using the direct method for the detection of antibodies in pre-vasectomy seminal samples, and the indirect IBT for evaluation of antibodies in semen samples after vasectomy, and for sera. Antibody presence was measured as $>0\%$ (all positive results) and $\geq 20\%$ of spermatozoa bound to antibodies. The parameters studied were: i) comparative evaluations of the incidences of IgG and/or IgA in serum and/or semen; ii) evolution of the titers of these antibodies with time; and iii) the sites of binding of the antibodies in the spermatozoa of volunteers. All the pre-vasectomy serum and semen samples were devoid of antisperm antibodies; however, IgG and/or IgA were present in post-vasectomy serum and semen samples in a majority of individuals, in increasing numbers from 30 to 180 days. The simultaneous presence of IgG and IgA was always predominant. At $>0\%$ positivity, 25% of the individuals were positive in 30 days, with IgG or IgA

individually present in very few. In 90 days, 60% of the vasectomized were positive, rising to 85% in 180 days. No positive reactivity was detected for $\geq 20\%$. Evaluation of antibodies in serum individually showed that positive results at $\geq 20\%$ increased from one (30 days) to three in 90days, and to four in 180 days. In semen, this positivity was not detected. The evaluation of antibody titers (% of spermatozoa bound to antibodies) revealed increase of IgG and IgA with time both in serum and semen, with the former always ahead of IgA, and reaching mean values at 180 days of 7,9% (median – 5%) and 6,35% (4,5%); respectively for IgG and IgA. The midpiece and the tail of spermatozoa were the principal binding sites, in that order, for both IgG and IgA. These results show that up to 85% of individuals develop antisperm antibodies in 180 days after vasectomy, with a steadily increasing level of positivity reaching $\geq 20\%$ in some; which may potentially compromise efforts to restore fertility in them.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente com positividade > 0%.....	35
Figura 2:	Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente com positividade ≥ 20%.....	36
Figura 3:	Evolução pós-vasectomia das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente.....	36
Figura 4:	Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro com positividade > 0%.....	38
Figura 5:	Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro com positividade ≥ 20%.....	38
Figura 6:	Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no sêmen com positividade > 0%.....	40
Figura 7:	Microimunoesferas aderidas à cauda do espermatozóide.....	42
Figura 8:	Microimunoesferas aderidas à peça intermediária do espermatozóide.....	43
Figura 9:	Microimunoesferas aderidas à cabeça do espermatozóide.....	43
Figura 10:	Incidência dos três tipos de ligação das imunoglobulinas do tipo IgG antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente à positividade >0%.....	45
Figura 11:	Incidência dos três tipos de ligação das imunoglobulinas do tipo IgG antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente à positividade >0%.....	45
Figura 12:	Incidência dos três tipos de ligação das imunoglobulinas do tipo IgG antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente à positividade ≥ 20%.....	46
Figura 13:	Incidência dos três tipos de ligação das imunoglobulinas do tipo IgA antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente à positividade >0%.....	47
Figura 14:	Incidência dos três tipos de ligação das imunoglobulinas do tipo IgA antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente à positividade >0%.....	47
Figura 15:	Incidência dos três tipos de ligação das imunoglobulinas do tipo IgA antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente à positividade ≥ 20%.....	48
Figura 16:	Evolução pós-vasectomia dos perfis de ligação dos anticorpos.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente.....	35
Tabela 2:	Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro.....	37
Tabela 3:	Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no sêmen.....	39
Tabela 4:	Incidência dos perfis de ligação das imunoglobulinas do tipo IgG dos vasectomizados (n=20), nos espermatozóides de voluntários sadios.....	41
Tabela 5:	Incidência dos perfis de ligação das imunoglobulinas do tipo IgA dos vasectomizados (n=20), nos espermatozóides de voluntários sadios.....	42
Tabela 6:	Ocorrência dos diferentes locais de ligação dos anticorpos antiespermatozóides.....	74
Tabela 7:	Ocorrência das imunoglobulinas IgG e IgA no soro e sêmen simultaneamente	75

SUMÁRIO

PARTE A – CONTRACEPÇÃO E INFERTILIDADE AUTO-IMUNE.....	1
1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....	1
1.1 Contracepção.....	1
1.2 Vasectomia.....	2
1.2.1 Definição.....	2
1.2.2 Histórico e Epidemiologia.....	2
1.2.3 Implicações Bioéticas.....	3
1.2.4 Técnicas cirúrgicas.....	3
1.2.5 Complicações.....	3
1.3 Imunogenicidade Espermática.....	5
1.3.1 Antigenicidade dos Espermatozóides.....	7
1.3.2 Anticorpos Antiespermatozóides.....	10
1.4 Perfis das Imunoglobulinas e Infertilidade.....	13
1.5 Diagnóstico dos Anticorpos Antiespermatozóides.....	16
1.6 Respostas Imunes Pós - Vasectomia.....	20
1.7 Reversão da Vasectomia.....	22
PARTE B – ESTUDO EXPERIMENTAL.....	24
1 JUSTIFICATIVA.....	24
2 OBJETIVOS.....	25
2.1 Objetivo Geral.....	25
2.2 Objetivos Específicos.....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1 Amostragem.....	26
3.2 Critérios de Inclusão dos Indivíduos.....	26
3.3 Critérios de Exclusão dos Indivíduos.....	27
3.4 Realização dos Procedimentos Cirúrgicos.....	27
3.5 Coleta do Material Biológico.....	27
3.6 Conservação das Amostras.....	28
3.6.1 Criopreservação do Sêmen.....	28

3.7 Realização dos Exames.....	29
3.7.1 Recursos materiais.....	29
3.7.2 Método do exame.....	30
4 RESULTADOS.....	33
5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	50
6 CONCLUSÕES.....	58
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
ANEXOS.....	69

PARTE A – CONTRACEPÇÃO E INFERTILIDADE AUTO-IMUNE

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

1.1. Contracepção

O planejamento familiar como base de estruturação socioeconômica das famílias modernas evoluiu lentamente ao longo dos séculos, quando em 1950 pesquisas em várias partes do mundo, começaram a aplicar conhecimentos da fisiologia da reprodução para desenvolver novos métodos contraceptivos mais seguros e efetivos. As pílulas anticoncepcionais, os dispositivos intra-uterinos e a esterilização tubária foram então difundidas e hoje são métodos de contracepção largamente utilizados entre as mulheres no mundo inteiro. Da mesma forma, o uso de preservativos, o coito interrompido e a vasectomia se estabeleceram como métodos de contracepção masculina.

A vasectomia, por ser um método fácil, acessível e seguro é realizada e difundida em quase todo o mundo. Por outro lado, a sua reversibilidade cirúrgica cada vez tem sido mais solicitada, para atender aos anseios de casais, que por motivos vários recorrem à ela, no intuito de readquirir a fertilidade.

Embora, a reversão cirúrgica da vasectomia seja um procedimento cirúrgico, não tão simples quanto à vasectomia, ela tem sido realizada com sucesso, com o aprimoramento das técnicas de microcirurgia por cirurgiões qualificados. No entanto, em algumas situações o desenvolvimento de uma resposta imune após a vasectomia, gerando anticorpos antiespermatozóides, pode dificultar ou mesmo impossibilitar o retorno da fertilidade, mesmo que se estabeleça a permeabilidade dos canais deferentes interrompida pela vasectomia (ANSBACHER, 1973).

Dentro deste aspecto imunológico, pesquisas têm sido realizadas, visando caracterizar melhor o perfil destes anticorpos e sua influência na fertilidade.

1.2 Vasectomia

1.2.1 Definição

Vasectomia, ao pé da letra, significa “retirar” (*ectomia*) o conduto deferente (*vas deferens*). Os espermatozóides são produzidos nos testículos, armazenados e amadurecidos nos epidídimos e conduzidos até a uretra pelos condutos ou canais deferentes.

A vasectomia é um procedimento cirúrgico, que consta da secção e ligadura dos canais deferentes, visando interromper o fluxo de espermatozóides vindo dos testículos para juntarem-se ao líquido seminal. Consiste de uma intervenção cirúrgica tecnicamente simples e de rápida recuperação, desde que realizada por especialistas e em condições favoráveis.

Ela pode ser indicada em casos de epididimites recorrentes e, às vezes nas prostatectomias para prevenir orquiepididimites pós-operatórias. Contudo a principal indicação da vasectomia continua sendo para a voluntária esterilização masculina (BLANDY, 1978).

1.2.2 Histórico e epidemiologia

As primeiras vasectomias realizadas, foram feitas com o propósito de provocar atrofia prostática em pacientes com hiperplasia da glândula, há 100 anos. Foi, no entanto, durante a Segunda Guerra Mundial, que a vasectomia começou a ser realizada como método de controle da natalidade. O primeiro programa oficial, para realização do procedimento, com este objetivo foi realizado na Índia em 1954. Posteriormente, em 1976, uma campanha incentivada pelo governo indiano, foi responsável pela esterilização de milhões de indianos (LEAVESLEY, 1980).

Na última década, a vasectomia tem se estabelecido em quase todo mundo como um método simples, acessível, seguro e permanente de contracepção. De acordo com estudos epidemiológicos recentes, 8% a 12% dos homens casados, entre 29 e 30 anos de idade submetem-se a este procedimento cirúrgico, estimando-se que mais de trinta milhões de casais no mundo recorreram à vasectomia como forma de controle da natalidade (NEVES; NETTO Jr., 2002).

1.2.3 Implicações bioéticas

Como a vasectomia é um método de contracepção definitivo, da mesma forma, que a ligadura tubária na mulher, este procedimento quando não regulamentado, é classificado como perda definitiva da função reprodutiva, implicando em lesão corporal gravíssima pelo artigo 129 do código penal no seu inciso terceiro. No entanto, a Lei do Planejamento Familiar-Número 9263, de 12 de janeiro de 1996, que regulamenta a cirurgia de vasectomia em situações especiais, estabelece que, para a realização da vasectomia, o candidato deverá se submeter a uma avaliação multidisciplinar por uma equipe composta por médico (a), enfermeiro (a) e psicólogo (a), a qual deverá dar ciência ao candidato quanto ao procedimento cirúrgico em si, suas possíveis complicações e a sua irreversibilidade (ANEXO A). Essa mesma equipe responde também pela avaliação clínica pré-operatória do indivíduo.

1.2.4 Técnica cirúrgica

A vasectomia é uma cirurgia ambulatorial, realizada por um médico e um auxiliar com duração de 20 a 30 minutos, sob anestesia local, e com alta após o procedimento cirúrgico. Embora o princípio da vasectomia seja o mesmo, muitas técnicas cirúrgicas têm sido documentadas e realizadas. As diferenças nas técnicas estão nas incisões escrotais, na abordagem, secção e retirada de segmentos dos canais deferentes, nas formas de lidar com os cotos dos canais seccionados, e no fechamento da pele. A técnica de Schmidt (1968) é a mais amplamente usada e consta de incisão escrotal bilateral de aproximadamente 2 cm, dissecação e excisão de aproximadamente 1 cm dos canais deferentes, ligadura dos cotos após dobrá-los sobre si mesmos usando fios resistentes (nylon 3.0) e fechamento da pele com nylon 5.0.

1.2.5 Complicações

As complicações cirúrgicas são mínimas e incluem: pequenos sangramentos (0,3% dos casos) que são reabsorvidos pelo organismo e não requerem intervenção; infecções locais de pequena monta (2,9%); epididimite

congestiva (4,8%) que é tratada com gelo local e com antiinflamatório oral; e a formação do granuloma espermático (2,2%), devido ao vazamento de espermatozóides no coto que vem do testículo, sendo geralmente tratado com analgésicos e antiinflamatórios e eventualmente com a intervenção cirúrgica nos casos rebeldes para o alívio da dor. Desta forma, as complicações são pouco freqüentes e sem gravidade (SCHMIDT, 1968).

As complicações tardias da vasectomia têm sido objeto de estudo em vários centros de pesquisa. Em alguns estudos epidemiológicos, evidenciou-se uma maior incidência de câncer da próstata em homens vasectomizados. Em outros estudos, no entanto, não houve a comprovação desta associação (GIOVANNUCCI et al., 1993). De qualquer forma, a American Urological Association - (AUA), recomenda que todos os homens vasectomizados sejam submetidos ao toque retal e à dosagem do antígeno prostático específico (PSA), anualmente após os 40 anos de idade. O desenvolvimento de câncer testicular foi observado em alguns pacientes vasectomizados; contudo, não há comprovação da relação entre a vasectomia e o desenvolvimento desta neoplasia (McDONALD, 1989). Da mesma forma doenças cardiovasculares, também têm sido objeto de estudo em pacientes vasectomizados, porém não se comprovou nenhuma relação significativa entre a vasectomia e a incidência destas enfermidades (LIU; TANG, 1985).

A oclusão bilateral dos canais deferentes, no entanto, leva às alterações testiculares e epididimárias que devem ser levadas em consideração. Numerosos estudos comprovam anormalidades histológicas testiculares, através de biópsias em pacientes vasectomizados, das quais incluem: lesões degenerativas do epitélio seminífero; perda de células germinativas; dilatação dos túbulos testiculares; espessamento das paredes tubulares; e fibrose intersticial. O dano testicular é em parte devido à pressão retrógrada vinda do epidídimo. Os radicais livres gerados com a vasectomia, também, podem ser responsáveis, em parte, pelas alterações histológicas subseqüentes à cirurgia (AYDOS et al., 1998). Contudo, embora ocorram estas alterações testiculares, não se sabe precisamente os mecanismos responsáveis pelo dano testicular (McDONALD, 2000). O aumento da pressão intraluminal epididimária, acarreta alterações histológicas do epidídimo, que se caracterizam principalmente pelo aumento do tamanho e número dos lisossomos. Embora, as funções de secreção e absorção do epidídimo não sofram grandes modificações, seu interstício mostra alterações indicativas de inflamação crônica,

com infiltração de macrófagos e linfócitos (FLICKINGER; HOWARDS; HERR, 1995). Apesar das alterações testiculares e epididimárias, a vasectomia não compromete a espermatogênese de uma forma definitiva, podendo, em muitos casos, ser restaurada com o retorno da fertilidade através das cirurgias de reversão (JOHNSON, 1980).

Nos pacientes vasectomizados, a ocorrência de uma resposta imunológica humoral aos antígenos espermáticos é relativamente freqüente e o desenvolvimento de infertilidade auto-imune pode ocorrer em alguns casos, mesmo que se proceda a cirurgia de reversão da vasectomia. Este quadro de infertilidade é conseqüente da ação combinada de anticorpos que imobilizam e/ou aglutinam os espermatozóides, bloqueando sua migração no muco cervical e sua interação com o oócito, como também, prejudicando a implantação embrionária e o desenvolvimento do embrião (KOIDE et al., 2000). No entanto, o papel da imunidade celular no epitélio e interstício do trato reprodutivo não tem seu mecanismo de ação e seu efeito deletério bem esclarecido (McDONALD, 2000).

1.3. Imunogenicidade Espermática

Os espermatozóides são naturalmente imunogênicos para o sistema imune do próprio organismo, pelo fato de serem produzidos muito tempo depois do desenvolvimento do sistema linfóide e por serem mantidos nas gônadas sem encontro com os elementos circulantes do sistema imune. O sistema imunológico em desenvolvimento é normalmente impedido de reagir contra o próprio organismo, mediante o estabelecimento de um estado de supressão nos clones autorreativos que interagem com as moléculas imunogênicas de estruturas embrionárias, na fase de diferenciação funcional dos linfócitos T e B. Conhecido por “tolerância central” e considerado fundamental para coibir a atuação auto-imune patogênica do sistema imune, este estado de regulação não é estabelecido contra os espermatozóides, por eles não existirem durante a vida embrionária. Esta tolerância é estabelecida no sistema imune por volta do sexto mês da vida fetal até o quarto mês de nascimento (DEMESHEK, 1966), e a espermatogênese ocorre na puberdade.

Adicionalmente, um outro sistema de regulação também é estabelecido nos linfócitos T e B nos momentos de ativação destes por antígenos, para que eles não venham a desenvolver respostas lesivas ao organismo, em particular quando

sofrem contato com antígenos do próprio organismo. Este estado, denominado de “tolerância periférica”, também não é desenvolvido contra os espermatozóides, devido à sua produção e conservação nas gônadas, durante toda a vida de atividade sexual, sem interação com os elementos circulantes do sistema imune. Por essas razões, os antígenos espermáticos, se apresentados aos linfócitos T e B do próprio organismo, normalmente induzem respostas imunes, com produção de anticorpos antiespermatozóides. O contato entre o esperma e o sistema imune, parece resultar na geração seletiva de anticorpos contra os antígenos dos espermatozóides, não havendo, aparentemente, respostas a outros auto-antígenos presentes na composição normal do plasma seminal (CREWE et al., 1977).

A resposta auto-imune é então explicada, quando os antígenos espermáticos em situações anormais são expostos ao sistema imunológico. Além destes, os antígenos dos epitélios germinativos, que aparecem nos últimos estágios da espermatogênese tornam-se antigênicos, podendo também, em situações especiais induzir respostas auto-imunes.

Em indivíduos normais, a barreira hematotesticular, representada pelas “tight junctions” entre as células de Sertoli, mantém tais antígenos seqüestrados, sem contato com as células do sistema imunológico, portanto, incapazes de sensibilizarem o sistema imune. A auto-imunidade para os espermatozóides ocorre, numa pequena proporção de indivíduos, quando há lesão desta barreira, especialmente nos casos de lesões obstrutivas, enquadrando-se aqui os homens submetidos à vasectomia, nas lesões inflamatórias e nos traumas genitais (DONDERO et al., 1984; ZANCHETTA et al., 1984). Em pacientes com história de infecções genitais prévias, pode haver também, auto-imunidade espermática (PRADIGNAT, 1999). Identificou-se também, um aumento da presença de anticorpos antiespermatozóides no soro de pacientes com múltiplas biópsias testiculares (HJORT et al., 1974). Nestas situações, o comprometimento da barreira hematotesticular, pode provocar extravasamento dos espermatozóides, com a conseqüente absorção e apresentação dos antígenos aos linfócitos e o desenvolvimento de respostas imunológicas (LENBRUGER; LOJA, 1977). Além disso, existem dados comprovando aumento da incidência de anticorpos antiespermatozóides em homens homossexuais (WITKIN et al., 1983; WOLFF et al., 1985).

A isoimunogenicidade ocorre em mulheres que, sendo sensibilizadas por

antígenos seminais, produzem anticorpos que reagem com os espermatozóides no trato genital feminino. Anticorpos antiespermatozóides do tipo IgG e IgA podem ser detectados no muco cervical e secreções uterinas, o que pode dificultar a migração espermática (BEHRMANN, 1971). Embora, possam existir anticorpos antiespermatozóides no endométrio, estes não parecem influenciar no transporte espermático ou fertilização, contudo podem ter efeitos negativos para a implantação embrionária (BEHRMANN, 1966).

1.3.1 Antigenicidade dos espermatozóides

Landsteiner (1899), Metchnikoff (1899) e Metalnikoff (1900), foram os primeiros cientistas a descobrirem a antigenicidade espermática.

A isoantigenicidade espermática humana foi descoberta, quando se verificou a presença de anticorpos séricos antiespermatozóides, em mulheres com quadro de infertilidade (MEAKER,1922). A autoantigenicidade, foi constatada, quando verificou-se que anticorpos no soro de homens inférteis aglutinavam e imibizavam seus próprios espermatozóides (WILSON, 1954 e RÜMKE,1954). Tais estudos, também, revelaram que anticorpos antiespermatozóides séricos, em alguns homens, reagiam com os espermatozóides contidos nos túbulos seminíferos, indicando que os antígenos eram de origem testicular. Em outros estudos, verificou-se que, os anticorpos séricos antiespermatozóides reagiam com os espermatozóides no plasma seminal, indicando que, nestes casos, os antígenos se conjugavam aos espermatozóides no líquido seminal, sendo esses, chamados de antígenos recobridores dos espermatozóides (*sperm-coating antigens* -SCA), (WEIL, 1965).

A maior quantidade de antígenos seminais, provém da próstata e das vesículas seminais. Os antígenos testiculares e epididimários são encontrados em menor quantidade. Desta forma, o plasma seminal de homens vasectomizados, possui uma similaridade antigênica com o de homens não vasectomizados, mostrando que o testículo e o epidídimo, contribuem com poucos antígenos para a sua composição. A única situação patológica, em que a composição antigênica do plasma pode apresentar uma alteração significativa, é a agenesia bilateral dos canais deferentes e da vesícula seminal, quando os antígenos seminais estão ausentes (HEKMAN; RÜMKE, 1969).

Através de imunofluorescência, foram descobertos diferentes locais dos

antígenos nos espermatozóides; ou seja, na cabeça, na região equatorial, na região pós-nuclear, na peça intermediária, na cauda (HJORT; HANSEN, 1971) e na ponta da cauda (COELINGH BENNINK; MENGE, 1974).

Vários fatores antigênicos foram identificados nos espermatozóides, principalmente na região do acrossoma e nas suas membranas de revestimento. Estes antígenos são enzimas, proteínas estruturais, glicoproteínas e glicolípídeos. A superfície espermática é altamente organizada na regionalização destes antígenos, fato este comprovado pelas várias formas de aglutinação provocada pelos anticorpos. No acrossoma localizam-se as enzimas hialuronidase, proteinases acrossômicas (acrossina), glicoproteína-S acrossômica, proteína-p acrossômica, neurominidase, enzima penetração-corona, proteína espermática nuclear humana (NASP), antígeno espermatotóxico T e o antígeno de imobilização da membrana acrossômica. Na peça intermediária existe um antígeno de imobilização e na cauda a desidrogenase láctica X (LDH-X). Estes antígenos exercem papel importante na fecundação do óvulo (GOLDEBERG, 1973) e são responsáveis pelo fenômeno de autoimunização no homem (COCHRAN, 1974).

Adicionalmente, antígenos pertencentes ao sistema Complexo Principal de Histocompatibilidade (HLA) de histocompatibilidade e ao sistema ABO de grupos sanguíneos estão presentes nos espermatozóides e parecem contribuir para a isoimunização da mulher (BEHRMANN et al., 1960). Muitos destes antígenos são anexados aos espermatozóides durante a sua passagem epididimária.

No plasma seminal foram descritas muitas substâncias antigênicas, destacando-se a fosfatase ácida prostática e a lactoferrina da vesícula seminal; esta última, sendo considerada a fração antigênica mais importante do plasma seminal, e o principal antígeno recobridor de espermatozóide, não podendo, no entanto, ser qualificado como um antígeno específico do plasma seminal, pois se encontra presente também em outras secreções como leite e saliva (MASSON et al., 1966).

Assim, o esperma formado pela população de espermatozóides e pelo plasma seminal, apresenta elementos antigênicos distintos, oriundos de fontes diferentes. Existem evidências indicando que a reação imunitária dirigida contra os espermatozóides, seja a principal responsável pela autoimunização e que, nos casos de isoimunização participam tanto antígenos dos espermatozóides como os do plasma seminal (COCHRAN, 1974).

Estudos experimentais verificam que, para a obtenção de anticorpos

antiespermatozóides, é necessário adicionar algum adjuvante no sêmen; o que pode significar, que os antígenos dos espermatozóides são fracamente imunogênicos e somente grandes quantidades deles induzem a auto-imunidade (KATSH, 1960).

Alguns estudos foram realizados para se estudar melhor a especificidade antigênica dos espermatozóides. Uma reação cruzada entre o testículo e cérebro de porcos foi descrita, com sucesso na indução de uma orquite com a injeção de um homogenato de cérebro (KATSH; BISHOP, 1958). Da mesma forma, uma orquite foi induzida com injeção de homogenato de glândula parótida em porcos (NAGANO; OKUMARA, 1973). Embora, o antígeno acrossômico do espermatozóide revele alguma reação cruzada com componentes da glândula adrenal do homem, a real existência de antígenos espermáticos capazes de provocar significantes reações cruzadas parece não existir, sugerindo que, os anticorpos antiespermatozóides são órgãos específicos.

Os antígenos, que induzem resposta imune em homens vasectomizados, na sua maioria, são aqueles que se incorporam aos espermatozóides durante a sua passagem epididimária. Quanto à sua natureza, sabe-se que, eles têm peso molecular de 72 kDa (BOHRING; KRAUSE, 2001), se localizam na superfície do espermatozóide e têm uma origem pós-testicular. A totalidade destes antígenos é ainda desconhecida. Alguns antígenos conhecidamente envolvidos neste processo são: a proteína espermática nuclear humana autoantigênica (NASP), uma proteína testicular com 787 aminoácidos que induz a formação de anticorpos na maioria dos homens vasectomizados (BATOVA et al., 2000); e a desidrogenase láctica (LDH-C4; LDH-X), responsável pela formação de anticorpos antiespermatozóides em 10% dos homens inférteis, sendo que, nos homens vasectomizados este índice sobe para 20% dos casos (SHELTON; GOLDBERG, 1985).

No sistema HLA, sabe-se que, os antígenos A28 e Bw22 estão associados com a formação de anticorpos imobilizantes em alguns pacientes vasectomizados (LAW et al., 1979). Os antígenos Ac1 e Ac2 da região acrossômica do espermatozóide, também, parecem ser importantes indutores de anticorpos antiespermatozóides. Como o antígeno Ac1 tem reação cruzada com microorganismos e antígenos da glândula adrenal, os anticorpos anti-Ac1 são geralmente encontrados no soro de homens antes da vasectomia, possivelmente induzidos pelos componentes da adrenal. Ao contrário, o antígeno Ac2 não apresenta tal reação cruzada e os anticorpos anti-Ac2 aparecem mais

freqüentemente em homens, posterior à vasectomia. Desta forma, os anticorpos anti-Ac2, são melhores indicadores da resposta imune humoral contra o espermatozoide, e devem ser investigados nestas situações (TUNG, 1976).

Os antígenos espermáticos internos, expostos quando há fragmentação dos espermatozoides, parecem não induzir a formação de anticorpos com significado biológico importante.

Uma melhor caracterização bioquímica dos antígenos espermáticos, realmente, responsáveis pela indução da reação imune é necessária para que haja uma melhor compreensão dos mecanismos, pelos quais, os anticorpos antiespermatozoides prejudicam a função espermática e o processo de fertilização (BOHRING ; KRAUSE, 2001). O mapeamento antigênico dos espermatozoides através do desenvolvimento das técnicas de produção de anticorpos monoclonais, poderá em um futuro próximo, caracterizar melhor os antígenos que estão envolvidos na resposta imune (METTLER et al., 1984).

1.3.2 Anticorpos Antiespermatozoides

A possibilidade de formação de anticorpos, contra os espermatozoides, foi inicialmente demonstrada nos trabalhos experimentais de Landsteiner (1899), Metchnikoff (1899) e Metalnikoff (1900). Embora Meaker (1922) já tivesse constatado que o soro de duas mulheres inférteis aglutinava e imobilizava os espermatozoides de seus maridos, ficou para Wilson (1954) e Rümke (1954), independentemente, comprovarem que anticorpos no soro de homens inférteis aglutinavam e/ou imobilizavam os seus próprios espermatozoides. Em testes experimentais, esses pesquisadores, também, comprovaram que os anticorpos de homens inférteis, aglutinavam e imobilizavam espermatozoides de homens férteis voluntários; excluindo, dessa forma, a possível influência de fatores não relacionados à infertilidade, como as alterações do pH e infecções, que também podem promover a aglutinação e imobilização inespecífica dos espermatozoides.

A auto-imunização que surge no homem, ocorre em duas seqüências de fenômenos, aferente e eferente, responsáveis, respectivamente, pela sensibilização do organismo e pela agressão aos elementos germinativos do testículo e ao espermatozoide. A destruição da barreira hematotesticular, com a conseqüente liberação dos antígenos e sua captação pelas células apresentadoras de antígenos, resulta na

sensibilização dos linfócitos T e B dos centros imunocompetentes, que passam a produzir anticorpos humorais que agredem os espermatozóides e o epitélio germinativo do testículo (COCHRAN, 1974). Enquanto, a resposta humoral é facilmente comprovada tanto por meios experimentais quanto clinicamente, a resposta imunocelular tem sido observada de forma clara apenas quando extratos testiculares são injetados parenteralmente (LAURENCE et al., 1965). Assim a resposta celular embora presente, é mais difícil de ser comprovada e estudada.

A imunidade mediada por células, parece exercer alguma influência no comprometimento temporário da espermatogênese, que pode ocorrer após a vasectomia, ao passo que a imunidade humoral reage com os espermatozóides impedindo a sua função (MADAR et al., 2002).

A auto-imunização espermática é normalmente prevenida ou “freada” no organismo, por substâncias imunossupressoras que devem ser superadas para que possa ocorrer a reação auto-imune. Podemos citar aqui, o fator imunossupressor testicular “TGF- β -símile” e os produtos do plasma seminal com atividades imunossupressoras tais como: a “proteína A-símile”, proteína de ligação ao receptor Fc da IgG, a uteroglobulina, a transglutaminase, os complexos zinco-protéicos, o zinco livre, as nucleases e proteases, as prostaglandinas (PGE₂), e as poliaminas espermina e espermidina (CHIU; CHAMLEY, 2002).

Os fenômenos de aglutinação e/ou imobilização espermática são indicadores sensitivos de uma ou mais reações antígeno-anticorpo, afetando a função espermática, o que constitui subsídios para explicar a infertilidade de causa imunológica. A primária reação imunoquímica do anticorpo é a interação do seu sítio de ligação (região Fab) com a região específica complementar do antígeno. Quando mais de um espermatozóide são ligados pelo mesmo anticorpo, esta repetida reação cruzada secundária gera o fenômeno de aglutinação. A reação terciária ocorre, quando há ativação do complemento, com o fragmento C1q ligando-se à porção Fc do anticorpo. Na reação primária, pela ligação do antígeno ao anticorpo, há uma perda da função biológica do antígeno, e neste evento participam tanto a IgA como a IgG. Quanto à reação secundária aglutinante somente as formas poliméricas destes anticorpos possuem esta atividade, pois possuem dois ou mais sítios de combinação com o antígeno, com grande flexibilidade de ligar-se a diferentes superfícies antigênicas. Aqui tem especial importância aglutinante a forma polimérica secretada de IgA (TOMASI; BIENENSTOCK, 1968). Na ativação do complemento, o

fenômeno de imobilização é devido à lesão da membrana espermática e somente a IgG é capaz de induzir esta reação terciária. Contudo, pela presença de fatores anti-complemento no fluido seminal, o fenômeno de imobilização espermática é pouco freqüente.

Especula-se que os anticorpos antiespermatozóides podem diminuir a fertilidade por vários mecanismos, que incluem: a inibição do espermatozóide no muco cervical; a diminuição do grau de ligação do espermatozóide à zona pelúcida e da fusão espermatozóide-ócito; a facilitação da fagocitose do espermatozóide; a diminuição da clivagem do zigoto; e a diminuição da taxa de implantação e redução da sobrevivência do embrião. Estas alterações ocorrem, tanto com a simples fixação dos anticorpos na superfície do espermatozóide, quanto pela ativação do sistema complemento (HENSLEIGH et al., 1996).

Os anticorpos circulantes, provavelmente, alcançam os espermatozóides através do epidídimo, fato este, comprovado pela quantidade maior de imunoglobulinas nas secreções epididimárias do que nas secreções dos túbulos seminíferos (KOSKIMIES et al., 1971).

A prevalência dos anticorpos antiespermatozóides na população geral é de 0 a 2%. A incidência destes em homens inférteis é de 6%, sendo este fato relacionado com situações que provocam o comprometimento da barreira hematotesticular, como trauma, infecções e obstruções, como também devido ao descontrole das atividades imunossupressivas do trato genital masculino (McLACHAN, 2002). Nos pacientes vasectomizados, em 60% dos casos, há desenvolvimento de anticorpos antiespermatozóides (ALEXANDER et al., 1976; ANSBACHER, 1973).

Quanto ao potencial destes anticorpos antiespermatozóides em induzir infertilidade, sabe-se que devido à sua capacidade de aglutinar e/ou imobilizar os espermatozóides, eles podem ser responsáveis por muitos casos de infertilidade inexplicada, como por exemplo, nos casos de reversão da vasectomia em que não se obteve sucesso (FOURNIER-DELPECH; GUERIN, 1992). No entanto, o papel dos anticorpos antiespermatozóides na infertilidade é controverso e necessita de maiores estudos para uma melhor caracterização. Eles podem levar a um quadro de subfertilidade, mas um prejuízo total na fertilidade ocorre mais raramente (DONDERO et al., 1979; MARSHBURN; KUTTEH, 1994). Taylor e Collins (1992), relatam que qualquer relação entre a presença de anticorpos antiespermatozóides e

impedimento de concepção deve ser considerado hipotético. De acordo com Heidenreich (1994), o papel destes anticorpos na infertilidade masculina continua gerando controvérsias e deve ser objeto de estudo para conclusões definitivas.

1.4 Perfis das Imunoglobulinas e Infertilidade

Das imunoglobulinas antiespermatozóides, as IgG e IgA são de especial importância. Segundo Kutteh et al. (1995), elas podem ser detectadas sistemicamente (soro sanguíneo e linfa) e em secreções locais (líquido seminal e cervico-vaginal). As imunoglobulinas mais predominantes no sangue e linfa são do isótipo IgG, enquanto as das secreções externas são predominantemente IgA (MARSHBURN; KUTTEH, 1994; MAZUMDAR; LEVINE, 1998). A presença das imunoglobulinas IgG e IgA no plasma seminal tem sido constatada por vários pesquisadores (FRIBERG, 1974; HERRMANN; HERMANN, 1969; RÜMKE, 1974). Em geral, a IgM é pouco freqüente e quando detectada ocorre em muito baixas concentrações no trato reprodutivo masculino (FRIBERG, 1974; RÜMKE, 1974; TAUBER et al., 1975).

Quando os títulos de imunoglobulinas antiespermatozóides no soro e sêmen são examinados e comparados, os séricos são usualmente mais altos do que os seminais (RÜMKE, 1970; RÜMKE ; HELLINGA, 1959). De acordo com Friberg (1974), somente homens com títulos séricos acima de 1:64, apresentam imunoglobulinas também no sêmen. Estes homens, apresentam freqüentemente espermatozóides no ejaculado, com pronunciada aglutinação e reduzida capacidade de penetração no muco cervical.

A concentração seminal de IgG é baixa (7 a 22mg/100mL), correspondendo a 1% da concentração sérica. Sua presença no sêmen é dependente da concentração sérica e ocorre através de transudação da circulação sanguínea (RÜMKE, 1974).

A concentração seminal de IgA também é relativamente baixa (0 a 6 mg/100mL), quando comparada com a concentração em outras secreções seromucosas; o que corresponde a 1% a 3% da concentração sérica (FRIBERG, 1974; RÜMKE, 1974; TAUBER et al., 1975). Da mesma forma que a IgG, a IgA sérica poderá alcançar o plasma seminal através da circulação sanguínea por transudação. Segundo Tauber et al. (1975), a concentração relativamente maior de

IgA em relação à IgG no sêmen é devida a uma secreção local de IgA. Rümke (1972), baseado em trabalhos sobre difusão de outras proteínas séricas, como a transferrina e albumina para o fluido seminal, considera que a maioria dos anticorpos presente no sêmen é oriunda do soro; porém também sugere que a IgA poderá ter produção local, principalmente em casos em que há uma concentração muito grande (acima de 1:64) no plasma seminal. Em raras ocasiões, especula-se que poderá haver exclusivamente uma produção local, porém em situações mais freqüentes estas imunoglobulinas são encontradas apenas no soro (FRIBERG, 1974).

A maioria dos homens que desenvolve uma resposta imune contra os espermatozóides, tem ambas IgA e IgG antiespermatozóides. Em alguns, somente IgG é constatada, mas a IgA sozinha raramente ocorre. Homens que desenvolvem apenas IgG, não sofrem comprometimento importante de sua função espermática, ao passo que homens que desenvolvem tanto IgG como IgA revelam decréscimo na fertilidade. Em homens inférteis, existe uma concentração maior de IgA, se comparada com a concentração em homens vasectomizados, ocorrendo então um comprometimento maior da penetração espermática no muco cervical nesse grupo de indivíduos (PARSLOW et al., 1985). Pacientes com altos títulos de IgA no sêmen, são pacientes com intensas respostas imunes, e portanto, têm também altos títulos de anticorpos no soro. Aparentemente os anticorpos do tipo IgA produzidos localmente alcançam o esperma antes que a IgG sérica produzida em grande quantidade alcance o sêmen (HJORT, 1998). De acordo com Aitken (1977), é a presença de imunoglobulina IgA no sêmen que parece ser importante em determinar o grau de declínio da fertilidade em pacientes que apresentam imunidade contra espermatozóides.

Existem vários mecanismos propostos para explicar, como as imunoglobulinas antiespermatozóides interferem na fertilidade, mas a maioria deles explica que elas interferem na fertilização do oócito e no desenvolvimento embrionário (HASS, 1996).

A forma pela qual a IgA interfere na fertilidade, foi demonstrada por um grupo de cientistas (JAGER et al., 1980). Constatou-se que, a migração dos espermatozóides no muco cervical é fortemente prejudicada, quando ligados à IgA; devido provavelmente, à ligação da porção Fc da IgA às moléculas do muco cervical, impedindo a progressão espermática. Nesta situação, os espermatozóides apresentam o que se chama de "*shaking phenomenon*", ou seja, os

espermatozóides apresentam vigorosos movimentos da cauda, sem, no entanto progredirem no muco cervical. O mesmo não parece ocorrer quando a IgG se liga ao espermatozóide. Isto significa, que os anticorpos IgA ligados à membrana espermática, impedem a penetração do gameta, e nesta situação, a classe de anticorpo é mais importante que a especificidade antigênica do mesmo.

Outra explicação imunológica postulada é o mecanismo pelo qual os anticorpos antiespermatozóides se ligam aos mesmos receptores dos óvulos onde, os espermatozóides se acoplam para efetuar a fecundação. Este efeito inibitório competitivo pode ser causado tanto pela IgA quanto pela IgG antiespermatozóide (BRONSON et al., 1982).

Mediante estudos experimentais, Friberg (1974), observou, que a aglutinação espermática no sêmen é causada pelos anticorpos da classe IgA. No entanto, em alguns casos, parte desta atividade aglutinante parece ser devida à IgG.

O local de ligação do anticorpo no espermatozóide, parece muito influenciar no estabelecimento da infertilidade. Geralmente, os anticorpos ligados à cauda interferem no transporte do espermatozóide no trato reprodutivo feminino, enquanto os direcionados à cabeça, comprometem a interação do gameta com o oócito, sem interferir na motilidade espermática (BRONSON et al., 1982; CLARKE et al., 1985; DE ALMEIDA et al., 1989). Embora em ambos os casos possa haver um prejuízo na fertilidade, os anticorpos direcionados à cabeça têm um impacto maior na fertilidade (TSUKUI et al., 1988).

Do ponto de vista prático, o reconhecimento do complexo antígeno-anticorpo, informa a possibilidade da existência de anticorpos contra os espermatozóides, entretanto, deve-se deixar claro que as informações obtidas *in vitro*, possuem limitações próprias dos experimentos biológicos executados nessas condições e que seus resultados devem ser analisados com sagacidade.

Além disso, não se deve esquecer que os espermatozóides percorrem um longo caminho antes de entrarem em contato com os oócitos e, nesse trajeto, diversos fatores, que estão presentes no fluido seminal, nas secreções cervicais, uterinas, tubárias e no fluido folicular ovariano, teriam condições de facilitar, ou impedir, o desenvolvimento de uma reação imunológica contra os espermatozóides.

1.5 Diagnóstico de Anticorpos Antiespermatozóides

A detecção de anticorpos antiespermatozóides pode ser realizada no plasma seminal, soro e muco cervical, através de vários testes laboratoriais, e é um componente importante da avaliação dos casais inférteis nos grandes centros especializados de medicina reprodutiva. A questão da escolha do método a ser utilizado, foi abordado em vários trabalhos (MARSHBURN; KUTTEH, 1994; HELMERHORST et al., 1999). Estes métodos de detecção podem ser divididos em três categorias: (i) aglutinação dos espermatozóides; (ii) imobilização dos espermatozóides; e (iii) identificação específica da classe do anticorpo ligado ao espermatozóide.

Os anticorpos antiespermatozóides aglutinantes, podem ser avaliados pelo método modificado de Franklin-Dukes, baseado na reação entre uma solução de esperma de um doador com o soro do paciente. O teste é considerado positivo quando mais de 10% dos espermatozóides apresentarem aglutinação. Os diferentes padrões de aglutinação, que podem ser observados no sêmen humano são: cabeça-cabeça, cauda-cauda, ponta cauda-ponta cauda, misto (cabeça-cabeça e cauda-cauda) e entrelaçado (cabeça e cauda entrelaçadas), sendo a ligação cauda-cauda a forma mais comum (WILSON, 1954; RÜMKE; HELINGA, 1959).

Em geral há ampla discussão, sobre o significado dos testes de aglutinação dos espermatozóides, com alguns autores colocando certas restrições ao seu uso sugerindo cuidados nas interpretações baseadas neste teste. Uma das razões citadas é a aglutinação inespecífica dos espermatozóides por bactérias, fungos, esteróides (progesterona, testosterona) ou agentes químicos no sêmen (BOETTCHER et al., 1970 ; JONES, 1980).

O método de imobilização dos espermatozóides é simples e com reprodutividade aceitável. A reação é dependente da ativação do complemento, durante a interação dos anticorpos com os antígenos da superfície dos espermatozóides.

A reação imunológica de imobilização, poderá ser avaliada pelo método de Isojima modificado. Neste método, mistura-se o sêmen de doador em solução com o soro do paciente, utilizando-se, como controle, um igual volume da solução de sêmen incubada com soro fisiológico nas mesmas condições. Um total de no mínimo, 100 espermatozóides é então avaliado para a determinação da

porcentagem de imóveis. O teste de imobilização é considerado positivo, quando mais de 50% dos espermatozoides ficarem imóveis, em relação ao controle.

Existe uma correlação entre a presença de anticorpos aglutinantes e imobilizantes. Em geral, os títulos de anticorpos imobilizantes são menores que os de anticorpos aglutinantes. Por serem bastante sensitivos, os testes de aglutinação e imobilização foram os mais comuns dos métodos empregados, por muito tempo, para o diagnóstico de infertilidade imune, especialmente em mulheres (ROSE et al., 1976). Porém, estes informam apenas a existência ou não de anticorpos no compartimento estudado, sem identificação da classe de imunoglobulina, ou do local de ligação do anticorpo nos espermatozoides.

O método das microimunoesferas, também, chamado de “*Immunobead Test*” (IBT), introduzido por Bronson et al. (1981, 1982) permite não só uma avaliação da classe de imunoglobulina, como também o local específico de ligação no espermatozoide. Esse método usa microesferas de poliacrilamida revestidas com antiglobulinas humanas IgG, IgM e IgA para detecção dos anticorpos presentes na superfície dos espermatozoides. Esse ensaio utiliza, como rotina, o soro aquecido a 56⁰C, o que desintegra as proteínas do complemento, e desta forma evita alterações da motilidade ou qualquer lesão da membrana celular dos espermatozoides resultantes da ativação destes.

O método das microimunoesferas pode ser direto (determinação de anticorpos contra os espermatozoides no esperma) ou indireto (determinação de anticorpos contra os espermatozoides em qualquer fluido biológico).

No método direto, uma suspensão de espermatozoides que foram submetidos à capacitação espermática é adicionada à diferentes soluções de microimunoesferas (IgG, IgA, IgM), separadamente que podem ou não aderir aos espermatozoides, dependendo da presença ou não de anticorpos anti-espermatozoides. A leitura final dos resultados do método, consta da determinação da porcentagem de captação específica dos espermatozoides nos três principais sítios de ligação: cabeça, peça intermediária e cauda.

Pelo método indireto, espermatozoides capacitados de doadores são incubados com soro ou plasma seminal do paciente, e após um processo cuidadoso de lavagem, adiciona-se a solução de microimunoesferas. A amostra é então examinada microscopicamente, e os “*immunobeads*” são vistos aderidos aos espermatozoides, quando a amostra contém o anticorpo antiespermatozoide da

classe específica, da mesma forma que o método direto. O percentual de espermatozóides ligados e a região anatômica aderida são interpretados da mesma forma que o método direto.

Um problema de difícil solução, nos métodos que detectam a existência de anticorpos antiespermatozóides é a definição do valor normal ou anormal. BRONSON et al. (1982) citam como níveis normais de captação de imunoglobulinas no soro pelo método de microimunesferas aqueles abaixo de 13%. Shulman et al. (1985) inferiores a 10%, porém apenas contam os espermatozóides com duas ou mais microimunesferas. Clarke et al. (1984) estabelecem como captação anormal (positiva) aquela com níveis superiores a 10%. O manual da World Health Organization – WHO (1992), estabelece que o IBT é considerado positivo quando 20% ou mais dos espermatozóides estão ligados às microimunesferas. Enfim, apesar das tentativas de definição da faixa de normalidade, esses limites são vagos e podem não só depender do compartimento no qual o ensaio foi executado (esperma, muco cervical, soro etc.) como também do tipo de imunoglobulina detectado. Além disso, o método, limita-se também pelo fato de não quantificar as moléculas de anticorpos aderidas aos espermatozóides, devido ao tamanho das microesferas que impedem esta avaliação (BRONSON et al., 1984).

Apesar destas restrições, este método é um ensaio seguro. Franco Jr. et al. (1989) demonstraram que o IBT indireto, possui uma reprodutibilidade intra-ensaio correta, porém existe uma variabilidade interensaio não desprezível.

O teste de reação mista de antiglobulina (MAR) descrito por Jager et al. (1978) detecta a presença de anticorpos antiespermatozóides do tipo IgG no sêmen (teste direto) ou no soro, plasma seminal e muco cervical (teste indireto). Desde que, os anticorpos IgA quase nunca ocorrem na ausência de anticorpos IgG, testar a presença destes últimos é suficiente como método rotineiro de triagem.

No teste direto, realiza-se uma mistura do sêmen não tratado, com partículas de látex revestidas com IgG humana, adicionando-se posteriormente um anti-soro contra IgG humana. A formação de aglutinação entre as partículas e espermatozóides móveis indica a presença de anticorpos antiespermatozóides do tipo IgG no esperma.

No teste indireto, os espermatozóides de um doador (teste direto negativo) são incubados com soro inativado do paciente. Caso ocorra a presença de anticorpos antiespermatozóides no soro, estes irão sensibilizar os espermatozóides

do doador, que então serão identificados com a aplicação do teste direto (HINTING e t al., 1988).

Um fator importante que limita o valor desse método é o tipo de imunoglobulina detectado, pois se detecta apenas IgG, excluindo-se a IgA que é a principal imunoglobulina das secreções.

Embora não haja um consenso o *Immunobead Test* (IBT) e o Teste da Reação Mista de Antiglobulina (MAR TEST), são os testes mais freqüentemente usados (KRAPEZ et al., 1998), porém, o IBT é mais completo, pois detecta o isótipo da imunoglobulina (IgA ou IgG), o percentual de espermatozóides ligados, como também o local de ligação do anticorpo na superfície espermática (BRONSON et al., 1984).

Ambos os testes são rápidos e fáceis de serem realizados, mas requerem espermatozóides com boa motilidade para assegurar a adesão das partículas ou das microimunoesferas nas suas superfícies. Eles são excelentes como testes de triagem; se a reação é negativa ou fracamente positiva o paciente dificilmente terá infertilidade causada por anticorpos antiespermatozóides, e não serão necessários novos testes. Por outro lado, se todos ou a maioria dos espermatozóides tiverem imunoglobulinas nas suas membranas, as conseqüências sobre a fertilidade são mais difíceis de serem avaliadas, primeiro porque estes testes não podem distinguir entre espermatozóides com poucas moléculas de imunoglobulinas, e espermatozóides totalmente saturados com imunoglobulinas nos seus sítios antigênicos disponíveis. Esta limitação deve-se ao fato do tamanho das microimunoesferas, que sendo relativamente grandes, impedem a quantificação dos anticorpos ligados nos espermatozóides. O número de moléculas de imunoglobulinas é importante tanto no impedimento da migração do espermatozóide através do muco cervical, como também na interação espermatozóide-oócito. Assim, a determinação sérica e seminal assume uma importância, pois altos títulos séricos, ou um excesso de anticorpos livres no plasma seminal, sugere um nível elevado de moléculas.

Para determinar a quantidade de moléculas de IgG e IgA no espermatozóide, a citometria de fluxo é uma técnica promissora (RÄSANEN et al., 1992; KE et al., 1995).

1.6 Respostas Imunes Pós-Vasectomia

Os primeiros indícios de que a vasectomia poderia levar a uma resposta imune contra os espermatozóides, vieram através dos estudos de Rümke e Helinga (1959) e Phadke e Padukone (1964), quando observaram a presença de aglutininas espermáticas em um elevado percentual de indivíduos com azoospermia obstrutiva.

Nos homens submetidos à vasectomia observou-se alterações histológicas testiculares importantes e aumentada atividade auto-imune, sem contudo haver relação entre estes dois fatos, sugerindo-se que o mecanismo fisiopatológico da formação de anticorpos antiespermatozóides não esteja diretamente relacionado às transformações gonadais (JAROW, 1994). Entretanto, Chehval et al. (2002) relatam que embora não se conheça com precisão o mecanismo que causam as alterações histológicas testiculares, elas surgem após a formação dos anticorpos.

Após a vasectomia, a espermatogênese fica prejudicada apenas temporariamente, sendo restaurada, em condições normais, em poucos meses após a cirurgia (JOHNSON, 1972). Contudo ocorre uma contínua reabsorção de espermatozóides com geração de anticorpos imobilizantes e aglutinantes que embora prejudiquem a função espermática, não parecem exercer efeitos adversos sobre a espermatogênese. Segundo Gupta et al. (1975), estudos histológicos demonstram um quadro de espermatogênese aparentemente normal, mesmo em indivíduos com altos títulos de anticorpos.

Acredita-se, que a vasectomia induz respostas imunológicas inicialmente, a partir do epidídimo. A distensão progressiva do epidídimo, provocada pelo acúmulo de espermatozóides leva a uma ruptura dos ductos epididimários, com extravasamento dos espermatozóides para o interstício, o que causa alterações histológicas indicativas de inflamação crônica, com infiltração de macrófagos, linfócitos e células plasmáticas, culminando-se na formação de granulomas (FLICKINGER et al., 1995).

O granuloma espermático responde, portanto pelo local onde há a fagocitose dos espermatozóides pelos macrófagos, e conseqüente apresentação de seus produtos antigênicos aos linfócitos T e B nos linfonodos regionais, induzindo-se as respostas imunes (LUCAS, 1978). Também foi demonstrado que, em indivíduos vasectomizados, a fagocitose epididimária intraluminal pode resultar na destruição

dos espermatozóides mortos, sem reunir condições no entanto, para a indução da resposta imune humoral (PHADKE, 1964).

Embora a auto-imunidade pós-vasectomia possa ser manifestada através da imunidade celular, pouco se sabe sobre suas implicações clínicas. A imunidade humoral, no entanto vem sendo exaustivamente estudada, pela relativa facilidade de detecção e caracterização dos anticorpos antiespermatozóides em laboratório, tanto no sêmen quanto no soro dos pacientes vasectomizados.

Uma grande área de pesquisa em vasectomia visa a produção pós-operatória de anticorpos antiespermatozóides. Aproximadamente 60% dos homens submetidos à vasectomia apresentam anticorpos antiespermatozóides até dois anos após a vasectomia com pico máximo aos 18 meses (ANSBACHER, 1974; SHULMAN et al., 1972). A formação dos anticorpos antiespermatozóides é evidenciada de seis semanas até seis meses (SHULMAN et al., 1972; Van LIS et al., 1974). Ansbacher (1973) relata que tais anticorpos, podem ser detectados com < 6 semanas.

Os títulos séricos de anticorpos tendem a crescer continuamente após a vasectomia, indicando um contínuo estímulo antigênico, independentemente da idade, do grupo sanguíneo e de complicações pós-operatórias (GUPTA et al., 1975). De acordo com Alexander (1976), os anticorpos surgem, após a cirurgia e a sua presença persiste por vários anos, tendo sido constatada mesmo após 10 anos do procedimento cirúrgico. Esses anticorpos apresentam predominantemente, a atividade aglutinante do tipo cauda-cauda (GUPTA, et al., 1975). Se estas diferenças do tempo do início da formação de anticorpos antiespermatozóides em indivíduos vasectomizados têm relação com a técnica cirúrgica empregada ou da sensibilidade imunológica de cada indivíduo, não existem ainda estudos que possam dar maiores esclarecimentos.

Segundo Thomas Jr. et al. (1981), apesar do surgimento dos anticorpos antiespermatozóides em vasectomizados, a maioria deles readquirem a fertilidade, quando se procede a reversão cirurgia da vasectomia. Alguns estudos revelam uma diminuição do potencial de fertilidade na presença de altos títulos de imunoglobulinas no soro de homens vasectomizados (ROYLE et al., 1981; LINNET et al., 1981; MEINERTZ, et al., 1990). Meinertz et al. (1990), relatam que o retorno à fertilidade após a reversão cirúrgica da vasectomia ocorre com certa freqüência quando os anticorpos são do tipo IgG, porém é mais difícil de acontecer com a

resposta imune humoral do tipo IgA. Apesar da conhecida ação aglutinante e imobilizante sobre os espermatozoides, há controvérsias sobre a real influência dos auto-anticorpos no impedimento da fertilidade, quando se realiza a reversão da vasectomia.

Nos homens vasectomizados, em 22% dos casos há também formação de anticorpos contra a protamina, que é uma proteína nuclear do espermatozoide, havendo uma relação direta da sua formação e a presença de granuloma na vasectomia (SAMUEL et al., 1978).

Embora, a maioria dos homens vasectomizados desenvolva anticorpos antiespermatozoides, existe um percentual expressivo de indivíduos que não elabora uma resposta imune. Isto pode ser devido a vários fatores, dentre eles: o desenvolvimento de um estado de tolerância imune decorrente da reabsorção dos antígenos; estímulos antigênicos insuficientes para induzir a formação de anticorpos; e o bloqueio dos anticorpos antiespermatozoides por outros tipos de anticorpos (RÜMKE, 1970).

1.7 Reversão da Vasectomia

Sendo a vasectomia um método simples e seguro de controle de natalidade, cada vez mais casais procuram este recurso cirúrgico como meio de contracepção. Por outro lado, cresce também o número de casais que procuram a sua reversão, com o intuito de restabelecer a fertilidade.

De acordo com o estudo de Belker et al. (1991), 2/3 dos indivíduos norte-americanos que se submeteram à reversão da vasectomia eram divorciados que desejaram ter filhos em nova união. Outras razões incluíram morte de um filho, mudanças em crenças religiosas e desejos de aumentar o número de filhos.

Duas técnicas cirúrgicas são usadas para a reversão: a vasovasostomia e a vasoepididimostomia. Ambas exigem o uso de microscópio. Para a maioria dos casos a vasovasostomia é o procedimento mais indicado, restaurando o fluxo de espermatozoides através da anastomose dos cotos do ducto deferente seccionado na vasectomia. A vasoepididimostomia, é usada nos casos de obstrução do epidídimo por causas inflamatórias.

O sucesso da cirurgia de reversão da vasectomia depende de vários fatores, tais como: o tempo entre as duas cirurgias; o aumento da ocorrência de

obstruções epididimárias que se estabelece após a vasectomia; a presença do granuloma espermático; o local da anastomose na vasoepididimostomia; e a presença de espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas pelas células seminais (SILBER, 1978 ; BELKER et al.; 1991).

Outro fator considerado importante que pode interferir no retorno à fertilidade após a vasectomia, é a presença de anticorpos antiespermatozóides. Como foi abordada anteriormente, a presença de auto-imunidade contra espermatozóides ocorre em 60% dos pacientes submetidos à vasectomia, mas a maioria deles é fértil após a reversão. Embora a presença de anticorpos não seja uma indicação definitiva de subsequente infertilidade, em alguns casos pode ser responsável pela persistente infertilidade após a reversão (KAY et al., 1993).

Em um estudo realizado (VRIJHOF; DELAERE, 1994), constatou-se que pacientes com altos níveis séricos de anticorpos antiespermatozóides obtiveram um índice de gravidez de apenas 23%, enquanto os homens sem esses anticorpos no sangue, o índice de gravidez foi de 80%. Assim, recomenda-se que a pesquisa destes anticorpos deve ser realizada, quando persiste infertilidade após a reversão. Kay et al. (1993) sugerem que os pacientes devem ser advertidos da possibilidade de uma infertilidade auto-imune pós-reversão, sempre que o título sérico de anticorpos antiespermatozóides forem >160.

Linnert, et al. (1982), observam que a reversão da vasectomia pode, também potencializar a produção de imunoglobulinas nos epitélios germinativos e epididimários, havendo um aumento principalmente de IgA secretada, o que poderá agravar, paradoxalmente, o quadro de infertilidade.

PARTE B – ESTUDO EXPERIMENTAL

1. JUSTIFICATIVA

Devido a crescente procura de pacientes vasectomizados aos centros médicos especializados para restabelecimento da fertilidade, torna-se imperativo saber, se as possíveis respostas auto-imunes incidentes em indivíduos submetidos à vasectomia podem contribuir para um quadro de “infertilidade imunológica”, o que poderá, em princípio, inviabilizar as tentativas cirúrgicas para a reversão do efeito patológico da vasectomia. Neste sentido, estudos que objetivam obter conhecimentos sobre a evolução e os perfis dos anticorpos antiespermatozóides, poderão proporcionar subsídios aos médicos especialistas, para avaliar as possibilidades de sucesso nas cirurgias de reversão.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

No presente estudo, propõe-se realizar avaliações laboratoriais pela presença dos anticorpos antiespermatozóides em indivíduos submetidos à vasectomia, com os objetivos de caracterizar a magnitude da resposta imune humoral desenvolvida e a cinética da evolução dessas imunoglobulinas; para uma melhor compreensão da possível infertilidade auto-imune associada à vasectomia.

2.2 Objetivos Específicos

- Detecção de anticorpos antiespermatozóides no sangue e no sêmen dos indivíduos antes da vasectomia.
- Detecção de anticorpos antiespermatozóides no sangue e no sêmen de indivíduos durante o período de até 180 dias pós-vasectomia, aos intervalos de 30, 90 e 180 dias;
- Caracterizar os isótipos (classes) das imunoglobulinas e a cinética de evolução delas, em função do tempo pós-cirúrgico;
- Estudar os sítios anatômicos de ligação das imunoglobulinas nos espermatozóides de voluntários sadios;
- Realizar avaliações comparativas sobre o perfil dos anticorpos no sangue e no sêmen dos vasectomizados; e
- Analisar os possíveis efeitos dos anticorpos antiespermatozóides sobre a fertilidade dos indivíduos vasectomizados, caso se submetam aos procedimentos cirúrgicos de reversão da vasectomia.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostragem

A população estudada foi composta por 20 homens, de idades entre 25 a 38 anos, com dois ou mais filhos e de saúde aparentemente normal, atendidos no ambulatório de cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, encaminhados na sua maioria pela Maternidade Escola Assis Chateaubriand através do Programa de Controle da Natalidade, com desejo manifesto de se submeterem à vasectomia, como meio de contracepção definitivo

3.2 Critérios de Inclusão dos Indivíduos

Um total de 25 (vinte e cinco) indivíduos, foram inicialmente submetidos a uma avaliação multiprofissional, composta por uma equipe de médico, enfermeira e psicólogo; conforme regem as leis que disciplinam a prática deste procedimento cirúrgico de contracepção.

Nesta avaliação, foram realizados exames clínico-laboratoriais para diagnosticar qualquer enfermidade que contra-indicasse o procedimento cirúrgico, como também patologias genito-urinárias prévias, que pudessem gerar respostas auto-imunes.

Os interessados científicaram-se sobre o procedimento cirúrgico em si, das suas possíveis complicações, das dificuldades da posterior reversão, dos efeitos do procedimento, e das alternativas de contracepção disponíveis.

Após os devidos esclarecimentos sobre a metodologia e os objetivos da pesquisa científica planejados, obteve-se os Termos de Consentimento Esclarecido, individual, tanto para realização da vasectomia quanto para a participação voluntária dos mesmos no estudo (Anexos B e C).

3.3 Critérios de Exclusão dos Indivíduos

Na seleção dos indivíduos, dois deles, foram excluídos, por não se enquadrarem na faixa etária permitida para realização da vasectomia. Posteriormente, após a realização das vasectomias, três indivíduos, desistiram de participar dos exames necessários da pesquisa, sendo dois na ocasião da primeira coleta e outro na segunda coleta.

3.4 Realização dos Procedimentos Cirúrgicos

As vasectomias foram realizadas no Ambulatório de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, por uma equipe chefiada pelo cirurgião Flávio Barbosa Moreira da Rocha (autor da pesquisa).

Todos os indivíduos tiveram suas cirurgias agendadas previamente, obedecendo ao tempo exigido entre as consultas e o procedimento cirúrgico.

Após as cirurgias eles tiveram alta hospitalar imediata, com acompanhamento ambulatorial na clínica privada do autor da pesquisa, não tendo havido nenhuma complicação cirúrgica importante.

3.5 Coleta do Material Biológico

As coletas de sangue e esperma foram realizadas no laboratório do Centro de Reprodução Assistida do Ceará (CONCEPTUS), sito à Rua Coronel Linhares nº. 950, sala 1206, Aldeota, Fortaleza, Ceará.

As amostras de sangue (5 mL), foram coletadas por uma técnica de laboratório experiente, através de punção venosa periférica, utilizando tubos de vacuotainers hemograde (sem coagulante) estéreis e descartáveis. As amostras de esperma foram colhidas através de masturbação, obedecendo um período de abstinência sexual de 3 (três) dias, em frascos apropriados esterilizados e descartáveis, em ambiente e condições favoráveis.

As coletas foram realizadas antes das vasectomias, e posteriormente com 30, 90 e 180 dias após as cirurgias, conforme o cronograma estabelecido (Anexo D).

3.6 Conservação das Amostras

Após as coletas, as amostras de sangue foram deixadas na temperatura ambiente por cerca de 30 a 45 minutos, centrifugadas à 800 g por 15 minutos, procedendo-se, a seguir, a remoção do soro que foi conservado em freezer a -70°C , até o momento dos ensaios.

As amostras de esperma colhidas antes das vasectomias, foram inicialmente examinadas macroscopicamente, observando-se o período de liquefação, o aspecto, o volume e a viscosidade de cada um delas. A seguir, na avaliação microscópica com volumes de $10\mu\text{L}$, foram feitas determinações estimativas da concentração, motilidade, aglutinação, morfologia e presença de elementos celulares além dos gametas. As amostras foram então submetidas ao processo de criopreservação e conservadas em *container* de nitrogênio líquido à -196°C para posterior análises. Das amostras colhidas no período de 30 (trinta) dias após a vasectomia, foram também retirados volumes de $10\mu\text{L}$ para avaliação do sucesso da cirurgia. Estas amostras, e as amostras subseqüentes colhidas aos 90 e 180 dias pós-vasectomia, foram conservadas à -70°C , até a realização dos exames.

A criopreservação das amostras colhidas antes da vasectomia foi necessária para que se conservassem os espermatozóides, para a realização do teste das microimunoesferas pelo método direto. Posteriormente à cirurgia, devido à ausência dos gametas, as amostras foram mantidas na temperatura de -70°C , para a conservação das imunoglobulinas que estivessem presentes. Nestas amostras o teste das microimunoesferas foi realizado pelo método indireto, utilizando-se o esperma de doadores sadios selecionados, que previamente, assinaram Termo de Consentimento Esclarecido.

3.6.1 Criopreservação do sêmen

A criopreservação de sêmen foi feita em nitrogênio líquido, à temperatura de -196°C . Os danos celulares causados pelo processo de criopreservação e descongelamento, que são a desidratação e a formação de cristais de gelo intracelular, foram evitados pelo uso do reagente "Test Yolk Buffer", um meio crioprotetor de alta osmolaridade, à base de glicerol, gema de ovo, dextrose e sulfato de gentamicina, que penetra na célula durante o congelamento e sai da mesma

durante o descongelamento, sem causar danos celulares.

A criopreservação das amostras selecionadas, foi realizada conforme a técnica usada em laboratórios de reprodução assistida, e consistiu das seguintes etapas: I) coleta do esperma; II) espera do tempo necessário para liquefação da amostra; III) exames para definir a qualidade da amostra; IV) diluição do sêmen na proporção de 1:1 com o crioprotetor; V) armazenamento em palhetas e lacre das mesmas com selante (álcool polivinílico), sendo outras amostras armazenadas em criotubos; VI) congelamento lento no programa seis no Freeze-Control (Cryolog-Modelo CL8000) por 40 minutos; e VII) armazenamento das amostras em botijão com nitrogênio líquido à -196°C , até a realização das análises.

3.7 Realização dos Exames

3.7.1 Recursos materiais

- Vacuotainers de 5ml.
- Garrotes.
- Tubos cônicos para centrífuga.
- Centrífuga de bancada (Fanem – Modelo 206 R).
- Tubos com tampa para armazenamento dos soros.
- Geladeira.
- Freezer à -70°C .
- Etiquetas de identificação.
- Banho Maria (Fanem).
- Pipetas automáticas de 10, 200 e $1000\mu\text{L}$.
- Ponteiras plásticas descartáveis.
- Frascos descartáveis para coleta de esperma.
- Lâminas e lamínulas.
- Microscópio óptico com contraste de fase (Olympus Ch30).

- Câmera de Makler.
- Criotubos de 2mL.
- Palhetas de 0,25ml.
- Nitrogênio líquido à -196 °C.
- Botijões para nitrogênio líquido.
- Suportes de metal para os criotubos e palhetas (racks).
- Congelador automático. Freeze Control (Cryolab. Modelo CL8-000).
- Crioprotetor: Test York Buffer (TYB-G), com glicerol a 12%, gema de ovo a 20%, 10mg de sulfato de gentamicina/ml e 11mM de dextrose.
- Immunobead Anti-IgG (Irvine Scientific).
- Immunobead Anti-IgA (Irvine Scientific).
- Meio de cultura: Solução de Dulbecco-tampão fosfato (PBS), com BSA. Composição: 0,1 g/L de CaCl₂, 0,2 g/L de KCl, 0,2 g/L de KH₂PO₄, 0,1g/L de MgCl₂. 6H₂O, 8,0 g/L de NaCl e 2,16 g/L de Na₂HPO₄.7H₂O, acrescida de 4g/L de albumina de soro bovino (BSA)
- Água bidestilada.
- Álcool absoluto.
- Luvas descartáveis.
- Câmera fotográfica digital.
- Computador e Impressora (Samsung).

3.7.2 Método do Exame

As avaliações dos anticorpos antiespermatozóides das amostras de soro e sêmen, foram realizadas pelo *Immunobead Test* (IBT), também conhecido por Método das Microimunesferas, de BRONSON et al., (1982). Este método foi escolhido, por permitir avaliar não só a classe da imunoglobulina, como também o local específico de sua ligação no espermatozóide.

A forma direta foi utilizada para análise do esperma, contendo espermatozóides (pré-vasectomia), e a forma indireta para o sêmen sem espermatozóides (pós-vasectomia) e para as amostras de soro dos indivíduos.

Nos testes realizados, usamos *immunobeads* conjugados, individualmente, com anti-IgG ou anti-IgA. A anti-IgM não foi utilizada, pelo fato

de que muito raramente se detecta anticorpos antiespermatozóides do tipo IgM no sêmen, como foi citado anteriormente. Os *immunobeads* são conservados na forma liofilizada em frascos com 50 mg, os quais foram reconstituídos com 5mL do meio de cultura, para a obtenção de uma solução final com concentração de 10 mg/mL. O mesmo meio de cultura também foi usado para ressuspender os *pellets* espermáticos.

As soluções obtidas foram então conservadas no refrigerador à 4°C, até o momento do uso.

O método direto consistiu das seguintes etapas: I) adição de alíquotas de 0,2 mL das microimunoesferas com cada uma das antiglobulinas reconstituídas, à 10 mL do meio de cultura em tubos de base cônica; II) centrifugação à 800g, por 5 minutos; III) ressuspensão do sedimento formado com 0,2 mL do meio de cultura; IV) acréscimo de 0,2 mL de sêmen com concentração ≥ 50 milhões/mL à 10mL do meio de cultura, em tubos de base cônica e centrifugação por 5-10 minutos; V) ressuspensão do *pellet* espermático com 10mL do meio de cultura e re-centrifugação por cerca de 5 a 10 minutos; VI) nova ressuspensão do *pellet* espermático para a sua alíquota volumétrica inicial de 0,2 mL, no meio de cultura; VII) adição de 5 μ L da suspensão de espermatozóides à 5 μ L de immunobead com anti-IgG e anti-IgA, em lâminas separadas; VIII) mistura das soluções, cobertura das lâminas com lamínula e incubação por 10 minutos; e IX) avaliação microscópica das lâminas sob contraste de fase.

As etapas de realização do método indireto foram: I) lavagem dos espermatozóides dos doadores normais, como descrito acima nas etapas IV, V e VI do método direto; II) diluição de 10 μ L do fluido a ser testado (líquido seminal ou soro), com 40 μ L do meio de cultura e adição de 50 μ L da suspensão de espermatozóides lavados; III) incubação à 37°C por 60 minutos; IV) centrifugação dos tubos à 500g por 5-10 minutos; V) ressuspensão do *pellet* espermático em 10 ml do meio de cultura, seguida pela nova centrifugação por 5-10 minutos; VI) nova ressuspensão do *pellet* espermático para a sua alíquota volumétrica original no meio de cultura; VII) adição de 5 μ L da suspensão de espermatozóides à 5 μ L de cada tipo de immunobead (Anti-IgG e Anti-IgA) em lâminas diferentes; VIII) mistura das soluções, cobertura das lâminas com lamínulas e incubação por 10 minutos; e IX) avaliação microscópica das lâminas sob contraste de fase.

No estudo das lâminas, fez-se uma contagem da percentagem de espermatozóides móveis aderidos aos *immunobeads*. Contou-se pelo menos 100 espermatozóides móveis por preparação, registrando-se a classe da imunoglobulina (IgG ou IgA) e o local de aderência dos mesmos aos espermatozóides (cabeça, peça intermediária ou cauda). Os resultados foram contabilizados das seguintes formas: a) todos os testes positivos, a quaisquer títulos; b) testes positivos, com títulos $\geq 20\%$.

4. RESULTADOS

Os resultados das avaliações laboratoriais foram organizados de acordo com a seguinte sistemática:

Padrões das Respostas Humorais Avaliados			
Análises dos Anticorpos nos vasectomizados	Indivíduos com somente IgG	Indivíduos com somente IgA	Indivíduos com (IgG + IgA)
Anticorpos no soro+sêmen	Quadrado 1	Quadrado 2	Quadrado 3
Anticorpos somente no soro	Quadrado 4	Quadrado 5	Quadrado 6
Anticorpos somente no sêmen	Quadrado 7	Quadrado 8	Quadrado 9

Em cada um dos quadrados, foram avaliados os seguintes parâmetros:

- (a) - % de indivíduos com anticorpos (% de ocorrência) em 30, 90 e 180 dias
- (b) – Evolução dos anticorpos (percentual de espermatozóides ligados aos anticorpos), em 30, 90 e 180 dias.
- (c) – Perfil de ligação dos anticorpos nos espermatozóides.

Amostras de sêmen e soro obtidas antes da vasectomia não revelaram presença de imunoglobulinas antiespermatozóides, em nenhum dos 20 indivíduos incluídos no estudo.

Considerando-se todos os valores positivos (positividade >0%), a incidência de anticorpos antiespermatozóides, no soro e no sêmen simultaneamente dos vasectomizados é mostrada na Tabela 1 e Figura 1.

O quadro de incidências das IgG e/ou IgA, com 30 dias após a cirurgia, revela que a IgG e IgA conjuntamente [IgG+IgA] estavam presentes em número relativamente maior de indivíduos, que a IgG, e que a IgA isoladamente; nos seguintes valores: [IgG+IgA] em 25%, IgG em 15% e IgA em 5% dos indivíduos. Aos 90 dias, as incidências de IgA e das duas [IgG+IgA], aumentaram para 10% e 60%, respectivamente e IgG decresceu para 5%; revelando um crescimento maior de [IgG+IgA] neste período pós-cirúrgico. O crescimento das duas conjuntamente alcançou o valor máximo de 85%, aos 180 dias após a vasectomia com IgG e IgA individualmente não sendo evidenciadas (Tabela 1 e Figura 1).

Resultados positivos, com o valor de $\geq 20\%$ dos espermatozóides ligados aos anticorpos no soro e sêmen, foram constatados apenas em um indivíduo (IgA) com 90 dias, e em mais três (2 com IgG e 1 com IgA) aos 180 dias pós-vasectomia (Tabela 1 e Figura 2).

A evolução dos anticorpos antiespermatozóides IgG e IgA nos espermatozóides examinados simultaneamente nas amostras de soro e sêmen, estão representados na Figura 3 e Tabela 7 (Anexo F). Observou-se que no período examinado de 180 dias tanto IgG quanto IgA, aumentaram, ligando-se em um número crescente de espermatozóides em função do tempo, sempre com uma ascendência maior de IgG em relação à IgA, nos seguintes valores, expressos em média e mediana: 30d, IgG (média - 1,75%; mediana - 0) e IgA (média - 1,55%; mediana - 0); 90d, IgG (média - 5,10%; mediana - 4,00%) e IgA (média - 3,95%; mediana - 3,00%); e 180d, IgG (média - 7,90%; mediana - 5,00%) e IgA (média - 6,35%; mediana - 4,50%).

TABELA 1- Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente.

PERÍODO	POSITIVIDADE* > 0%			POSITIVIDADE * \geq 20%		
	IgG	IgA	Ambas	IgG	IgA	Ambas
30 Dias	3 (15%)	1 (5%)	5 (25%)	0	0	0
90 Dias	1 (5%)	2 (10%)	12 (60%)	0	1 (5%)	0
180 Dias	0	0	17 (85%)	2 (10%)	1 (5%)	0
Total n=20						

* %de Espermatozóides ligados aos anticorpos

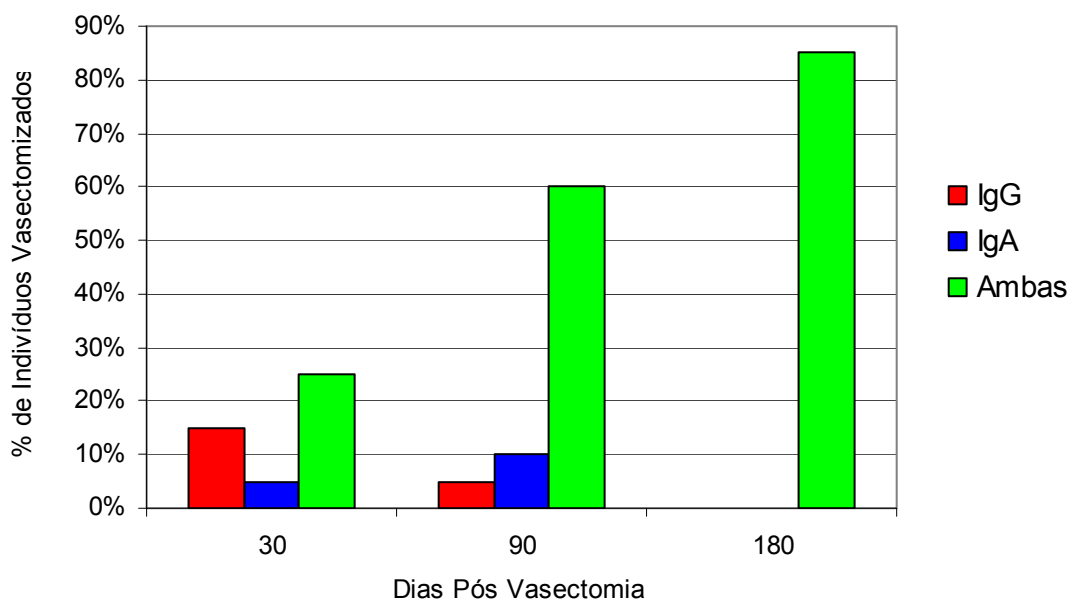


FIGURA 1 - Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente com positividade > 0%.

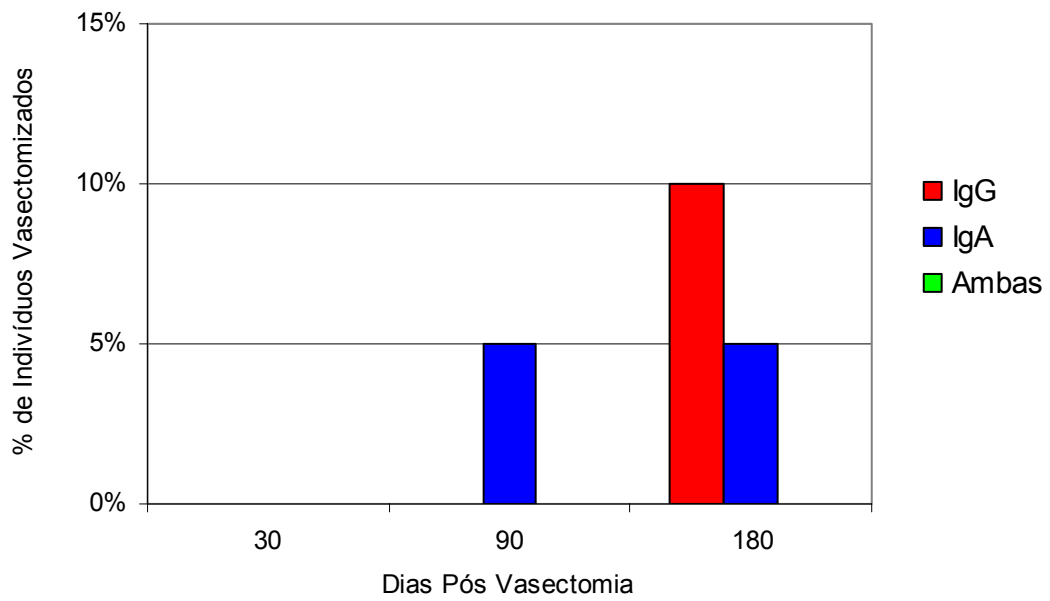


FIGURA 2 - Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente com positividade $\geq 20\%$.

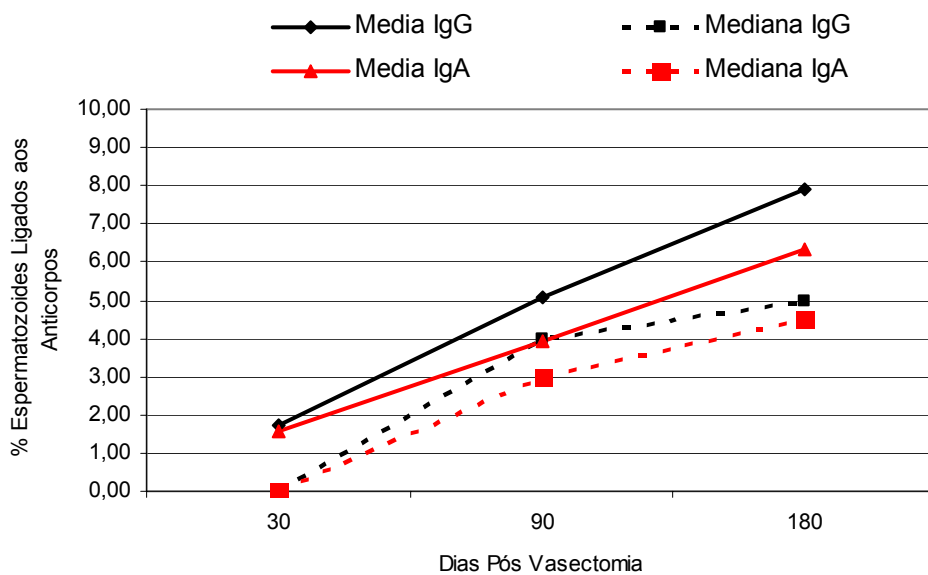


FIGURA 3 - Evolução pós-vasectomia das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente.

Com a positividade > 0%, o estudo isolado da presença das imunoglobulinas no soro, revelou uma incidência nos indivíduos vasectomizados, como está apresentada na Tabela 2 e Figura 4.

Aos 30 dias após a cirurgia, a IgG esteve presente em número relativamente maior de indivíduos que a [IgG+IgA], com os valores respectivos de 20% e 5%. IgA não foi detectada. Com 90 dias, as incidências respectivas de IgG, [IgG+IgA] e IgA foram, 5%, 5% e 10%. Aos 180 dias, os valores individuais de incidência de IgG e IgA, foram de 5%, com IgG e IgA conjuntamente não tendo sido detectadas.

Quando a positividade estudada foi $\geq 20\%$, foram constatados que com 30 dias pós-vasectomia apenas [IgA+IgG] foi positiva e em apenas 5% dos indivíduos. Aos 90 e 180 dias também apenas [IgG+IgA] estava presente, respectivamente em 15% e 20% dos indivíduos. (Tabela 2 e Figura 5).

Os valores mínimos de incidência das imunoglobulinas presentes isoladamente no soro, não justificam o estudo de suas titularidades.

TABELA 2 - Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro.

PERÍODO	POSITIVIDADE > 0%			POSITIVIDADE $\geq 20\%$		
	IgG	IgA	Ambas	IgG	IgA	Ambas
30 Dias	4 (20%)	0	1 (5%)	0	0	1 (5%)
90 Dias	1 (5%)	2 (10%)	1 (5%)	0	0	3 (15%)
180 Dias	1 (5%)	1 (5%)	0	0	0	4 (20%)
Total n=20	*%de Espermatozóides ligados aos anticorpos					

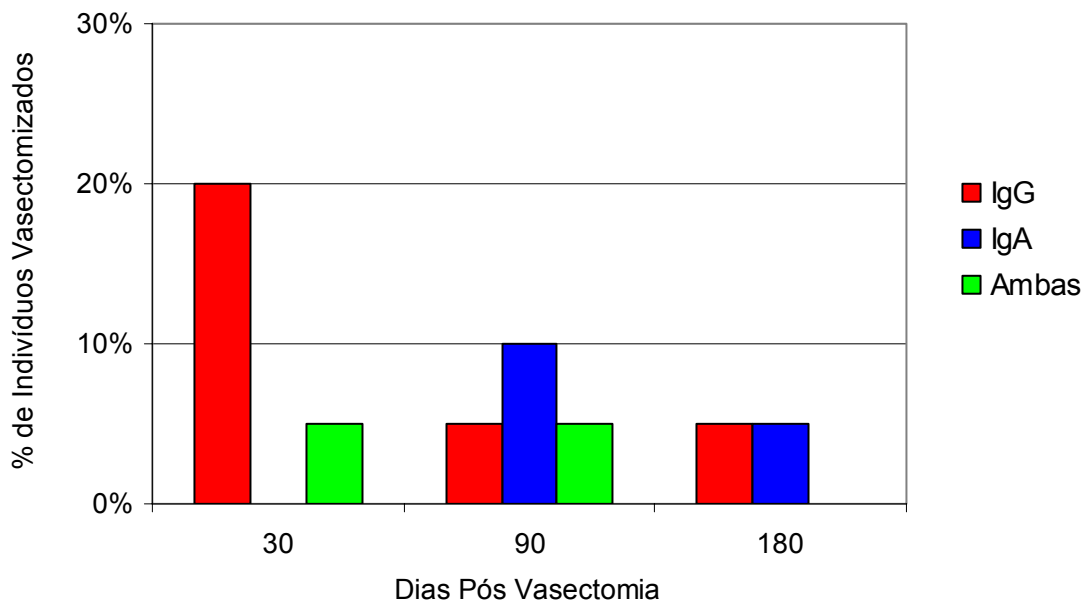


FIGURA 4 - Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro com positividade > 0%.

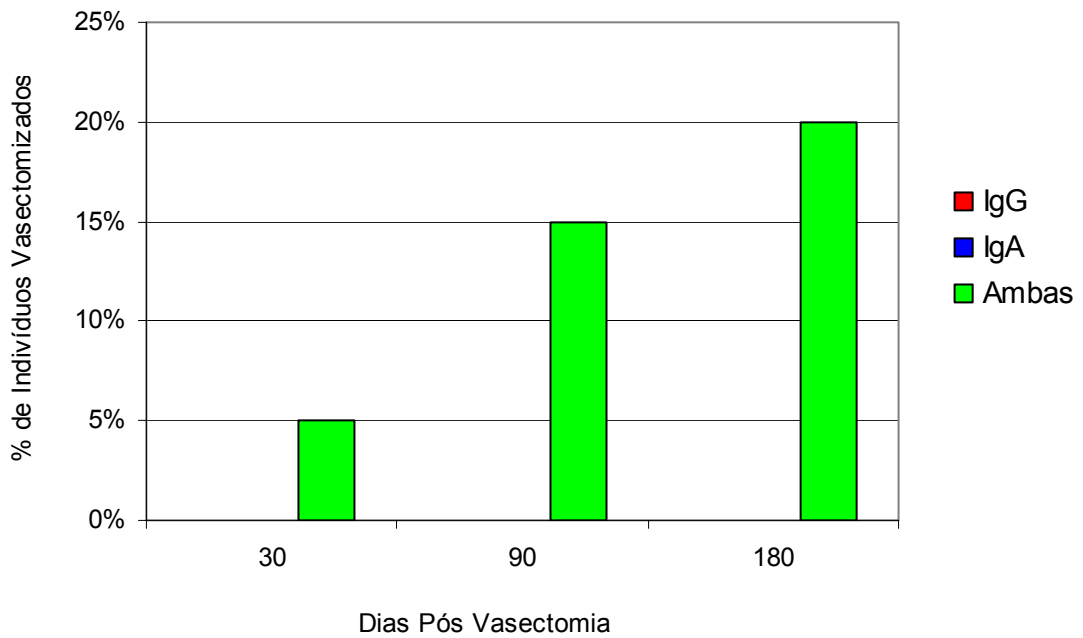


FIGURA 5 - Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no soro com positividade \geq 20%.

A pesquisa da presença das imunoglobulinas isoladamente no sêmen, considerando todos os casos positivos (positividade >0%) pós-vasectomia, está representada na Tabela 3 e Figura 6.

Com 30 dias pós-vasectomia, IgA esteve presente em número relativamente maior de indivíduos, que [IgG+IgA] com os seguintes valores: IgA em 20%, e [IgG+IgA] em 15% dos indivíduos. IgG não foi detectada. Aos 90 dias IgG foi reativa em um indivíduo (5%), ao passo que IgA e [IgG+IgA] incidiram em 10% dos indivíduos. Aos 180 dias somente IgA foi detectada e em apenas um indivíduo (5%).

Considerando a positividade de $\geq 20\%$ dos espermatozoides, não houve reatividade para IgG, IgA e [IgG+IgA] no sêmen isoladamente, em nenhum dos períodos de avaliação (Tabela 3).

A incidência muito pequena dos anticorpos detectados no sêmen isoladamente, também, não justifica o estudo de seus títulos.

TABELA 3 - Incidência das imunoglobulinas antiespermatozoides no sêmen.

PERÍODO	POSITIVIDADE* > 0%			POSITIVIDADE* $\geq 20\%$.		
	IgG	IgA	Ambas	IgG	IgA	Ambas
30 Dias	0	4 (20%)	3 (15%)	0	0	0
90 Dias	1 (5%)	2 (10%)	2 (10%)	0	0	0
180 Dias	0	1 (5%)	0	0	0	0
Total n=20						

*% de Espermatozoides ligados aos anticorpos

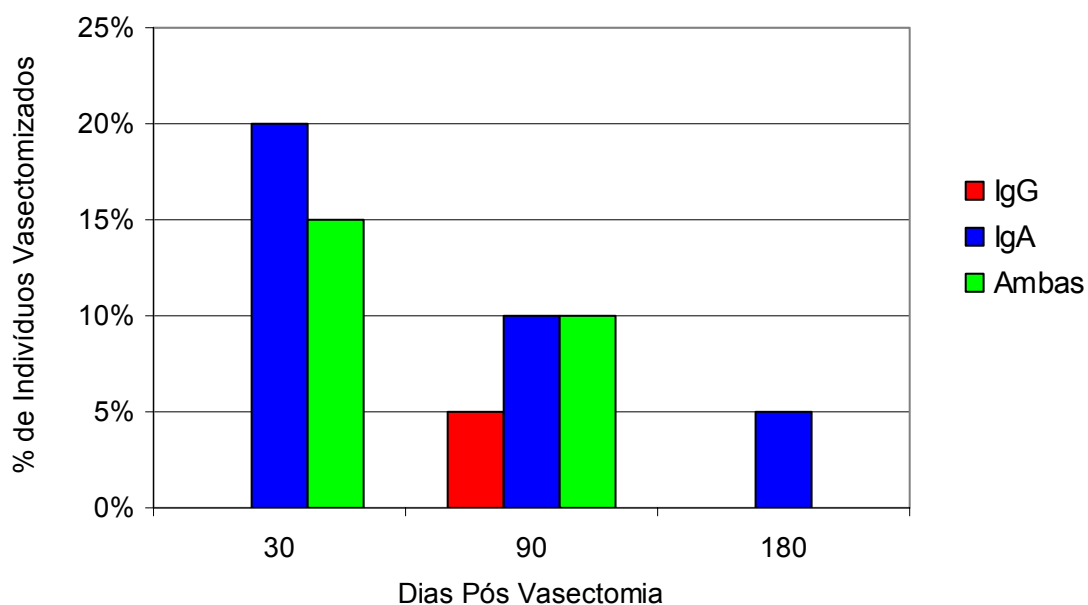


FIGURA 6 – Incidência das imunoglobulinas antiespermatozóides no sêmen com positividade > 0%.

Os perfis de ligação das imunoglobulinas IgG e IgA nos espermatozóides de doadores saudáveis, analisados, nos soros e sêmens dos indivíduos vasectomizados, em função do tempo, estão representados nas Tabelas 4 e 5.

As microimunesferas ligadas aos espermatozóides, nos seus três sítios anatômicos de ligação com as imunoglobulinas (peça intermediária, cauda e cabeça), são mostradas nas Figuras 7, 8 e 9.

TABELA 4 – Incidência dos perfis de ligação das imunoglobulinas do tipo IgG dos vasectomizados (n=20), nos espermatozoides de voluntários sadios.

Sitio de Ligação de IgG no Espermatozoide	Soro + Sêmen					
	>0%			≥20%		
	30d	90d	180d	30d	90d	180d
PI	4	3	4	0	0	0
PI + Cauda	1	6	8	0	0	1
PI + Cabeça	0	1	2	0	0	0
PI + Cabeça + Cauda	1	2	2	0	0	1
Cabeça	1	0	0	0	0	0
Cauda	1	0	1	0	0	0
Cabeça + Cauda	0	1	0	0	0	0
Total PI	6 (30%)	12 (60%)	16 (80%)	0	0	2
Total Cauda	3	9 (45%)	11 (55%)	0	0	2
Total Cabeça	2	4 (20%)	4 (20%)	0	0	1

TABELA 5 – Incidência dos perfis de ligação das imunoglobulinas do tipo IgA dos vasectomizados (n=20), nos espermatozoides de voluntários sadios.

Sitio de Ligação de IgA no Espermatozoide	Soro + Sêmen					
	>0%			≥20%		
	30d	90d	180d	30d	90d	180d
PI	2	4	3	0	0	0
PI + Cauda	2	5	7	0	0	0
PI + Cabeça	0	2	4	0	1	0
PI + Cabeça + Cauda	0	1	2	0	0	1
Cabeça	2	0	0	0	0	0
Cauda	0	2	1	0	0	0
Cabeça + Cauda	0	0	0	0	0	0
Total PI	4 (20%)	12 (60%)	16 (80%)	0	1	1
Total Cauda	2	8 (40%)	10 (55%)	0	0	1
Total Cabeça	2	3	6 (30%)	0	1	1

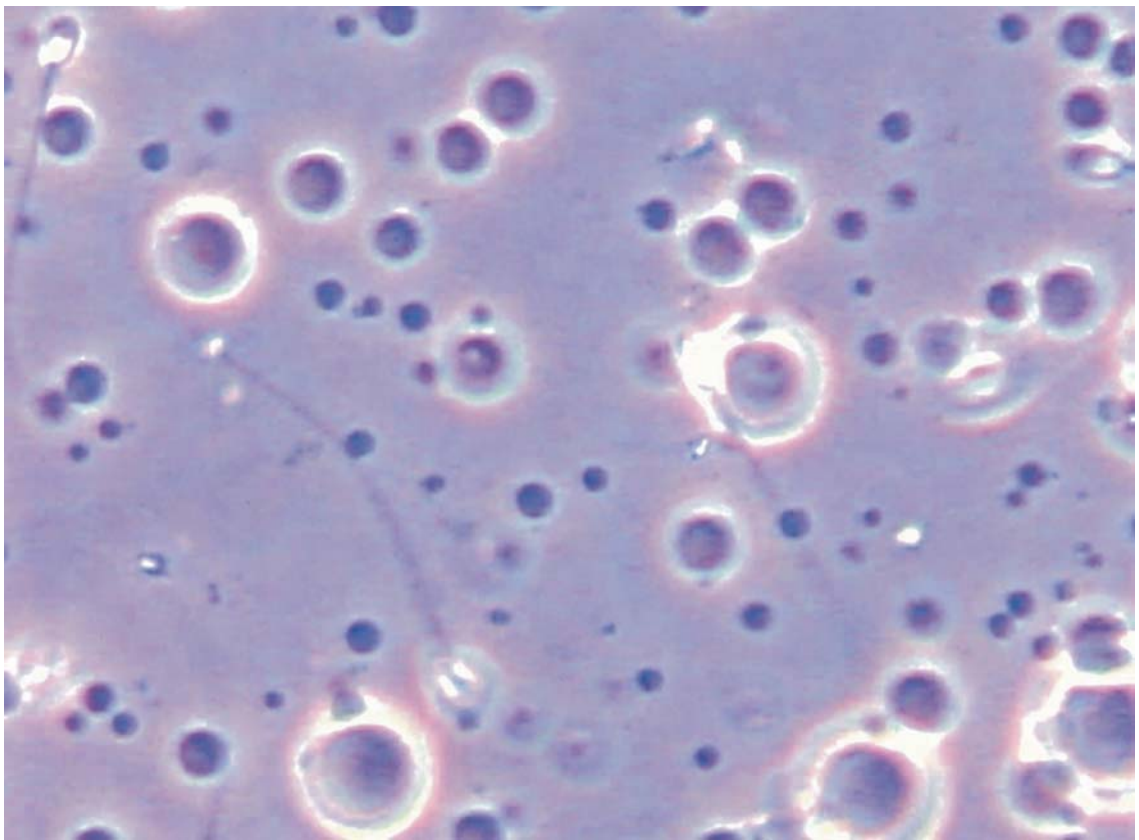


FIGURA 7 –Microimunoesferas aderidas à cauda do espermatozóide.



FIGURA 8 –Microimunoesferas aderidas à peça intermediária do espermatozóide.

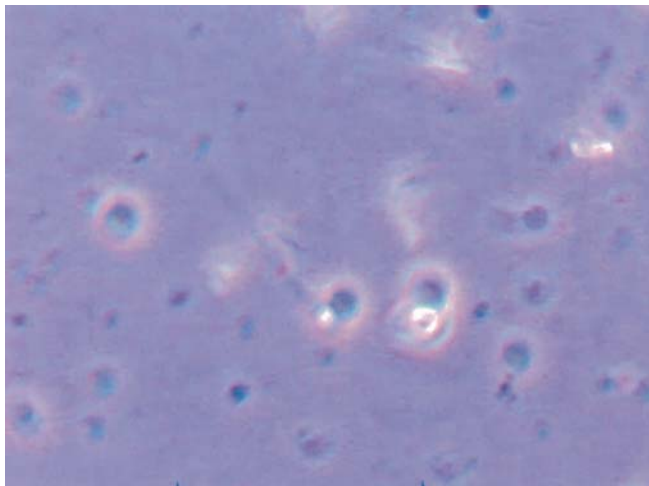


FIGURA 9 –Microimunoesferas aderidas à cabeça do espermatozóide.

O resultado das análises do local de ligação do anticorpo no espermatozóide no soro e sêmen simultaneamente, com a positividade >0%, revelou que, aos 30 dias pós-vasectomia, oito (40%) dos 20 indivíduos tinham IgG antiespermatozóides, com seis destes apresentando ligação à peça intermediária (PI) (quatro somente com ligação à PI, um com ligação à PI e cauda e um outro com anticorpos ligados à PI, cauda e cabeça), um com anticorpos ligados à cauda e um outro com anticorpos ligados à cabeça. Aos 90 dias, 13 (65%) tinham anticorpos, com 12 destes indivíduos apresentando os anticorpos ligados à PI (três com anticorpos ligados somente à PI, seis com ligação à PI e cauda, dois com ligação à PI, cauda e cabeça e um com ligação à PI e cabeça), e um outro com anticorpos ligados à cabeça e cauda. Aos 180 dias, 17 (85%) indivíduos apresentaram anticorpos ligados, com 16 (80%) apresentando anticorpos ligados à PI (quatro exclusivamente à PI, oito à PI e cauda, dois à PI e cabeça e dois à PI, cabeça e cauda) e um apresentando anticorpos ligados à cauda dos espermatozóides (Figuras 10 e 11; Tabela 4). À positividade de $\geq 20\%$, porém, somente aos 180 dias e apenas dois indivíduos tinham anticorpos antiespermatozóides que se ligaram aos espermatozóides, sendo um com anticorpos ligados à PI e à cauda e outro com anticorpos ligados à PI, à cauda e à cabeça (Figura 12 e Tabela 4).

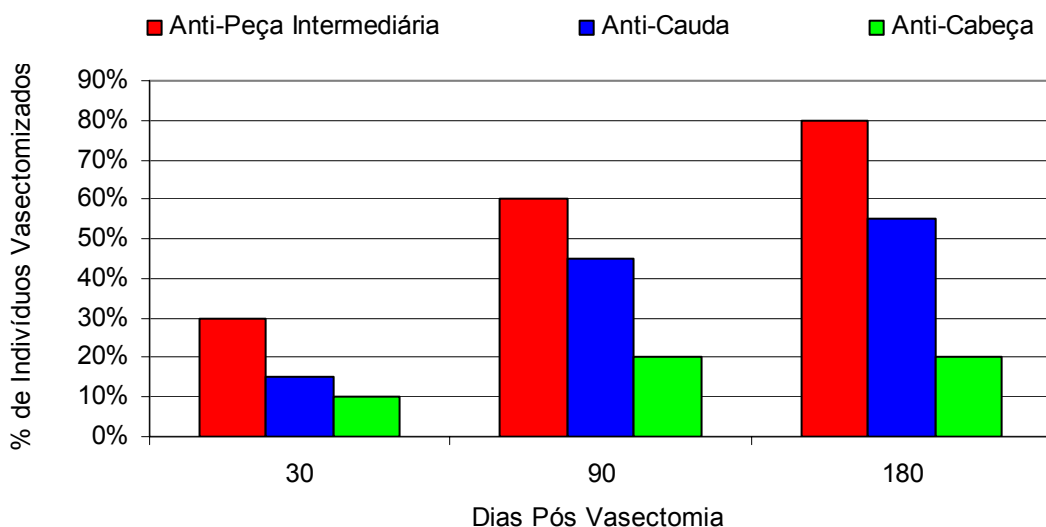


FIGURA 10 – Incidência dos três tipos de ligação das Imunoglobulinas do tipo IgG antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente à positividade > 0%.

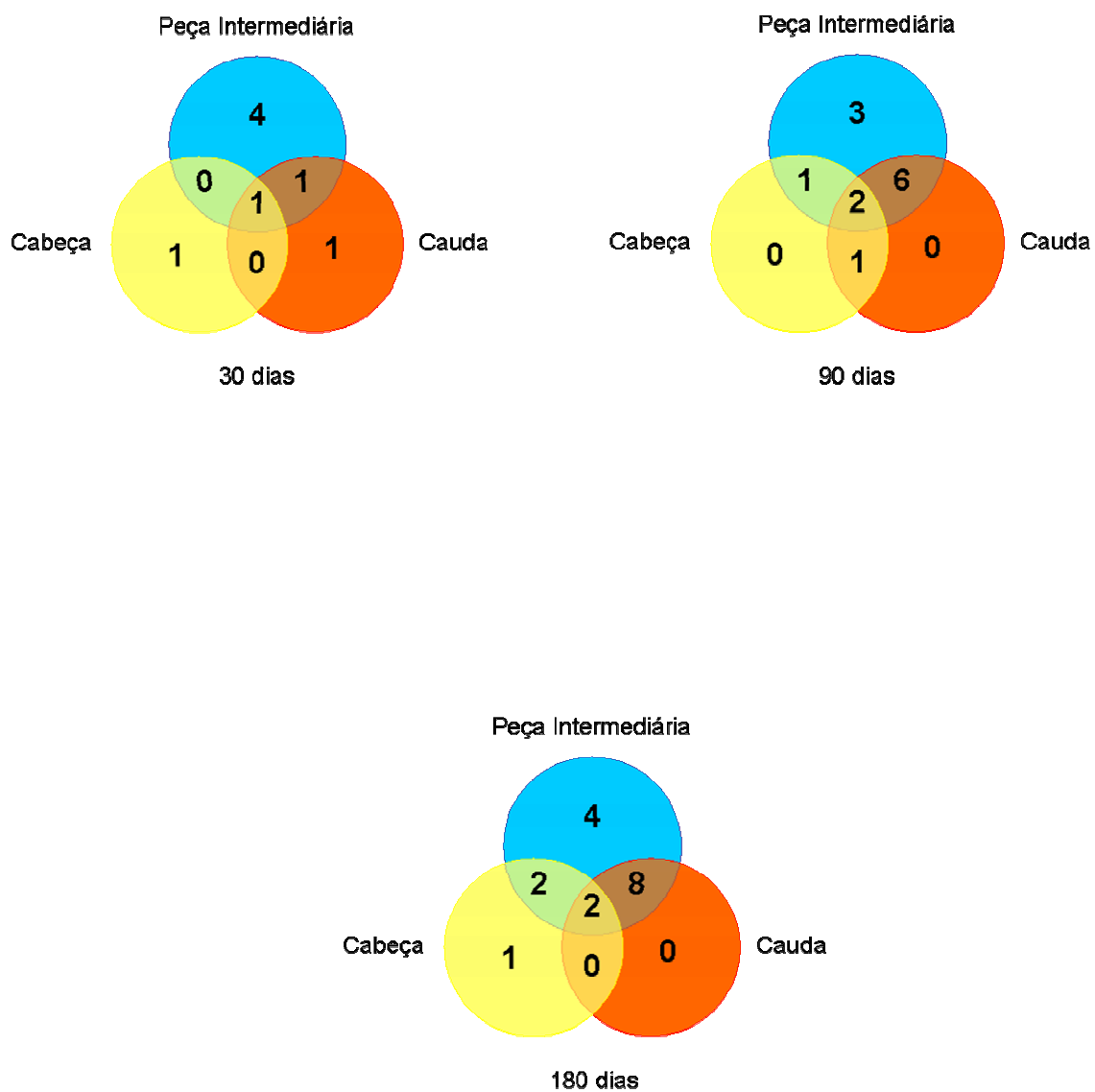


FIGURA 11 - Incidência dos três tipos de ligação das imunoglobulinas do tipo IgG antiespermatozóide no soro e sêmen simultaneamente à positividade > 0%.

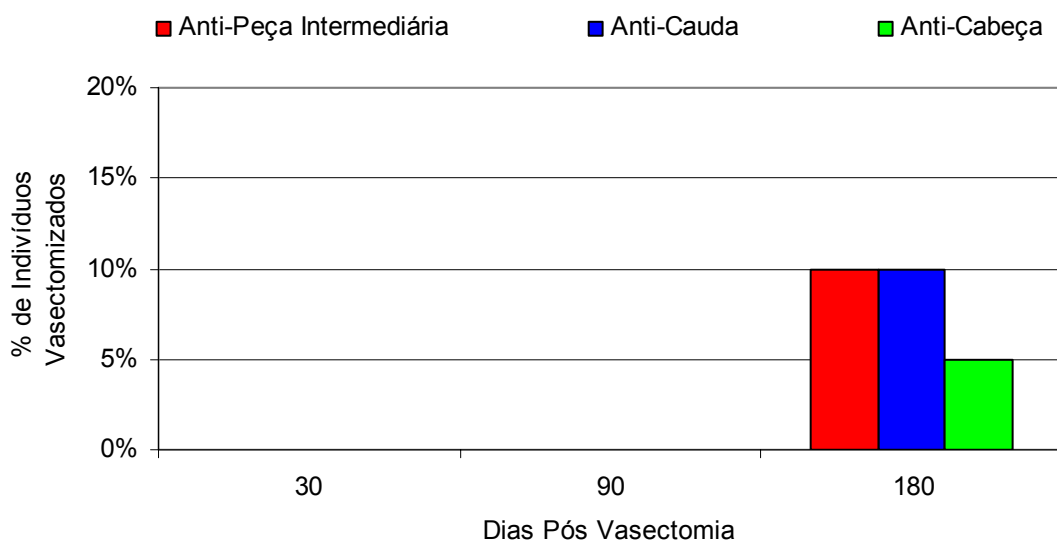


FIGURA 12 – Incidência dos três tipos de ligação das Imunoglobulinas do tipo IgG antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente à positividade $\geq 20\%$.

O quadro de IgA, no soro e sêmen simultaneamente com uma positividade $>0\%$, foi semelhante ao de IgG, nos três períodos de avaliação. Com 30 dias, seis (30%) dos 20 indivíduos vasectomizados, apresentaram anticorpos ligados aos espermatozóides, sendo quatro (20%) com anticorpos ligados à PI (dois somente à PI e dois à PI e cauda) e dois indivíduos com anticorpos ligados à cabeça. Aos 90 dias, 14 (70%) dos 20 indivíduos apresentaram anticorpos, com 12 (60%) apresentando anticorpos ligados à PI (quatro exclusivamente à PI, cinco à PI e cauda, dois à PI e cabeça e um à PI, cauda e cabeça) e dois com anticorpos ligados à cauda. Com 180 dias, o número de vasectomizados com anticorpos ascendeu para 17 (85%), com 16 (80%) apresentando anticorpos ligados à PI (três somente à PI, sete à PI e cauda, quatro à PI e cabeça e dois à PI, cauda e cabeça) e um com anticorpos ligados à cauda (Figuras 13 e 14; Tabela 5). Contudo, a positividade de $\geq 20\%$ foi evidenciada somente em um indivíduo com os anticorpos ligados à PI e cabeça aos 90 dias. Com 180 dias, um outro indivíduo apresentou anticorpos que se ligaram à PI, cabeça e à cauda (Figura 15 e Tabela 5).

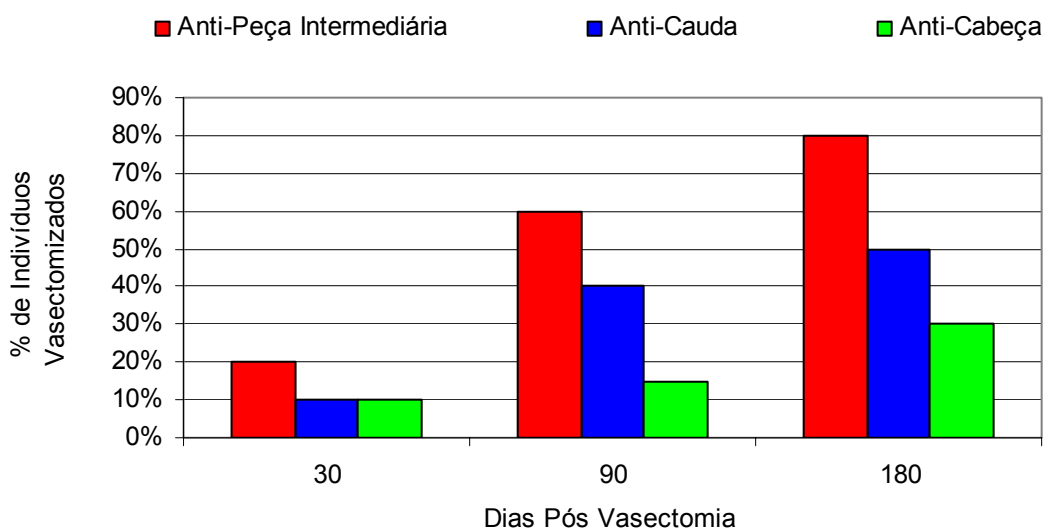


FIGURA 13 – Incidência dos três tipos de ligação das Imunoglobulinas do tipo IgA antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente à positividade >0%.

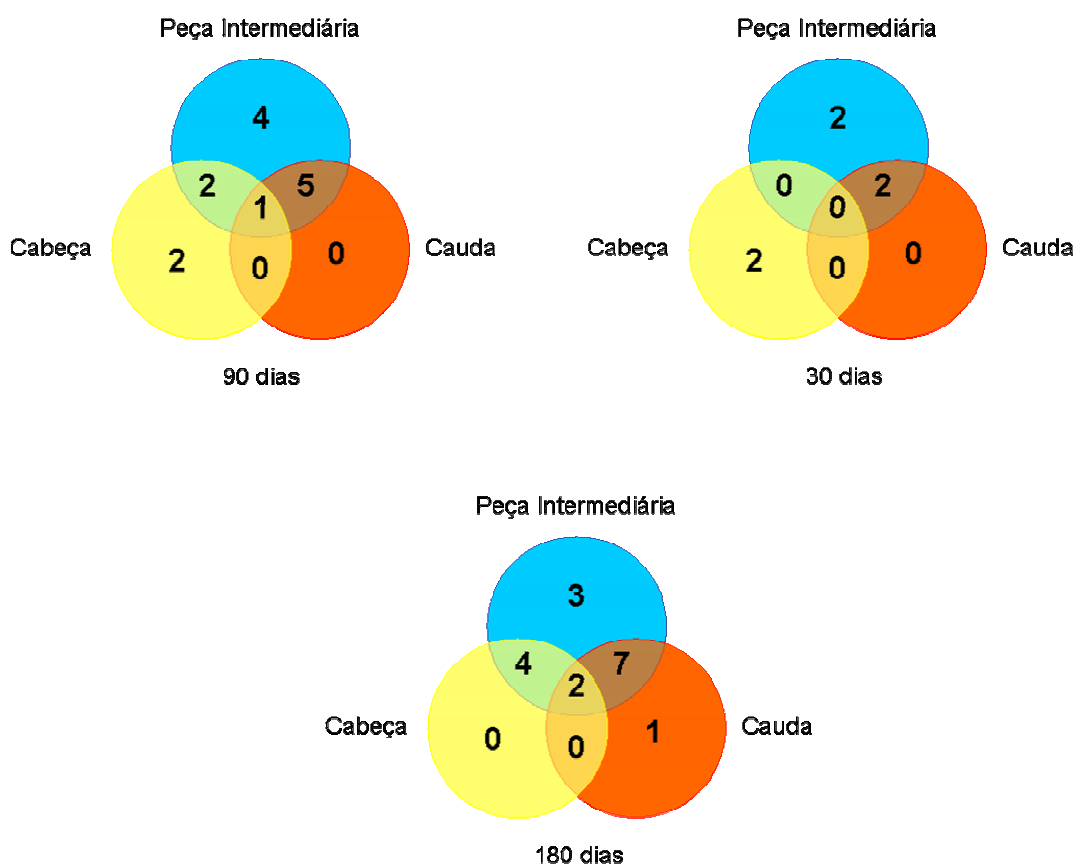


FIGURA 14 - Incidência dos três tipos de ligação das imunoglobulinas do tipo IgA antiespermatozóide no soro e sêmen simultaneamente à positividade > 0%.

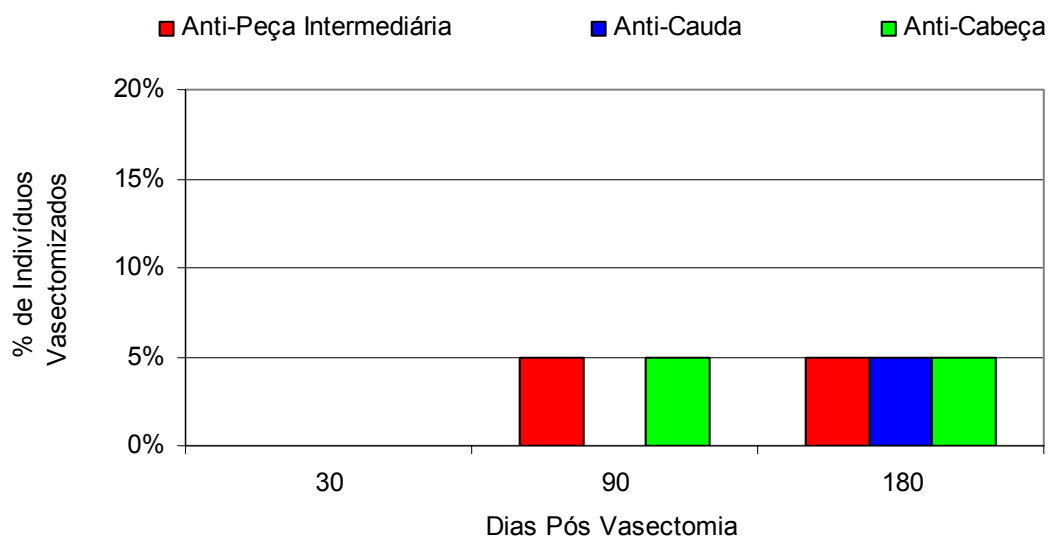


FIGURA 15 – Incidência dos três tipos de ligação das Imunoglobulinas do tipo IgA antiespermatozóides no soro e sêmen simultaneamente à positividade $\geq 20\%$.

Os anticorpos antiespermatozóides (anti-cabeça, anti-peça intermediária, anti-cauda), ligaram-se a um número crescente de espermatozóides em função do tempo, havendo um crescimento relativo maior dos anticorpos anti-peça intermediária, seguidos pelos anticorpos anti-cauda e anti-cabeça. Os valores encontrados e expressos em média e mediana, estão representados na Figura 16 e Tabela 6 (Anexo E). O estudo revela que, com 30 dias, a cabeça foi o sítio anatômico com maior percentual de anticorpos ligados (média - 6,8%; mediana - 0), seguido da peça intermediária (média - 5,1%; mediana - 2,0%) e cauda (média - 0,5%; mediana - 0). Aos 90 dias foi a peça intermediária (média- 15,7%; mediana - 7,0%), seguida da cabeça (média - 9,1%; mediana - 0), e da cauda (médias - 5,5%; mediana - 5,0%). Com 180 dias a peça intermediária foi também o local de maior percentual de anticorpos ligados (média - 22,4%; mediana - 15,0%), seguido também da cabeça (média - 12,8%; mediana - 0) e da cauda (média - 8,6%; mediana - 7,0%).

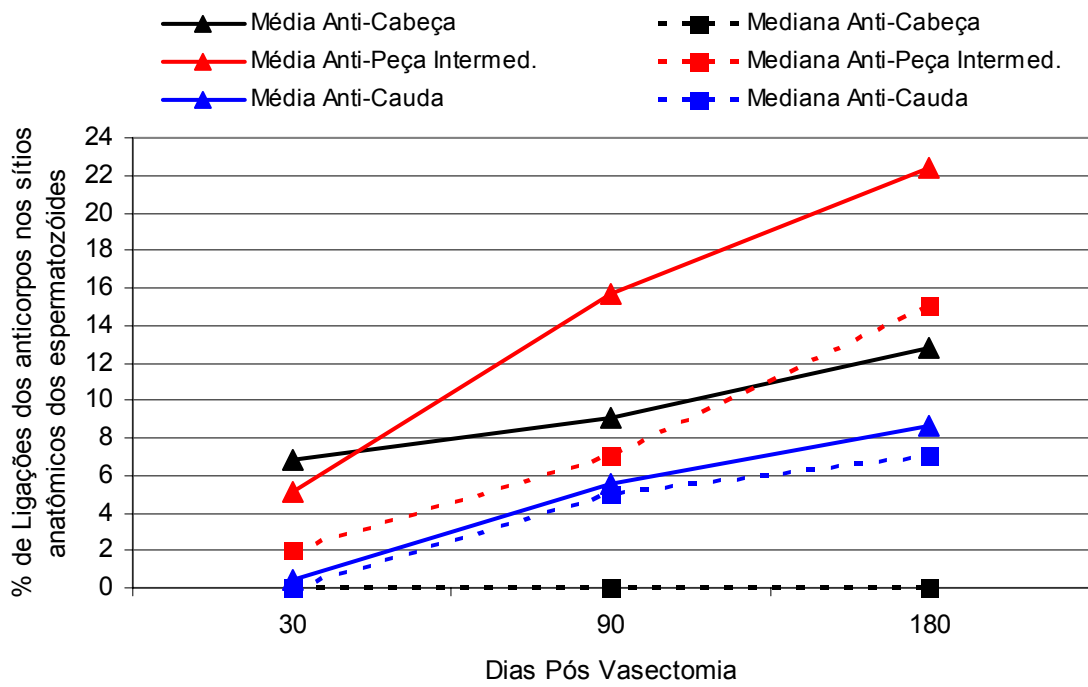


FIGURA 16 - Evolução pós-vasectomia dos perfis de ligação dos anticorpos nos espermatozóides.

5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Espermatozóides são inerentemente imunogênicos para o próprio organismo, por serem células geradas muito tempo depois da estruturação funcional do seu sistema imune e por serem mantidos nos testículos, em condições normais, sem interação com os linfócitos que possam os reconhecer e desenvolver um estado de tolerância à sua presença. Desta forma, eles são desprovidos tanto da tolerância central estabelecida durante a evolução embrionária do sistema linfóide, quanto também da tolerância periférica induzida por componentes imunogênicos do organismo durante a vida pós-natalina. Portanto, a produção de anticorpos antiespermatozóides se dá no próprio organismo devido à exposição dos antígenos espermáticos, que normalmente permanecem seqüestrados no aparelho reprodutor masculino, longe dos centros imunocompetentes.

Dentro deste conceito, o impedimento da passagem dos espermatozóides através dos canais deferentes, causado pela vasectomia, provoca o aumento da pressão intraepididimária; induzindo extravasamento dos espermatozóides para o interstício, possibilitando a interação de seus antígenos com os linfócitos T e B do sistema imune geral (CREWE et al, 1977).

Neste estudo, objetivou-se avaliar a incidência e a evolução dos anticorpos antiespermatozóides após a vasectomia, mediante realização de avaliações laboratoriais dos soros e sêmens, para uma melhor compreensão da associação entre a resposta imune humoral e a infertilidade auto-imune, evidenciada em muitos indivíduos vasectomizados.

A resposta imune humoral contra os espermatozóides foi avaliada baseando-se em dois padrões de positividade, para caracterizar, de forma mais confiável, sua intensidade em vasectomizados. Considerou-se o índice de positividade $> 0\%$ para identificar todos os indivíduos que tinham desenvolvido alguma resposta auto-imune de qualquer magnitude, e um outro índice de positividade de $\geq 20\%$, para caracterizar as respostas imunes consideradas realmente positivas pelo método das microimunoesferas utilizado nesses estudos (BRONSON, COOPER, ROSENFELD, 1982). A adoção deste último padrão de avaliação laboratorial dos anticorpos antiespermatozóides, também se baseou na

recomendação da Organização Mundial de Saúde que estabelece que o teste só é considerado positivo quando 20% ou mais dos espermatozóides móveis estiverem aderidos às microesferas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1992).

Devido à incidência de anticorpos antiespermatozóides em elevado número de indivíduos vasectomizados e a crescente evolução dos mesmos durante o período de estudo de 180 dias pós-cirurgia, mesmo sem atingir o título de 20%, decidiu-se também valorizar o índice de positividade de >0%, no intuito de poder realizar uma análise mais real da presença destes auto-anticorpos em vasectomizados; baseando-se no raciocínio de que os valores crescentes poderão atingir níveis de significância ao longo do tempo.

Os compartimentos biológicos estudados (soro e sêmen), foram importantes para se compreender melhor a magnitude da resposta humoral, haja vista que a presença das imunoglobulinas no líquido seminal, em particular de IgG é dependente de suas concentrações séricas, havendo assim a difusão destas proteínas para o líquido seminal, quando presentes em títulos elevados (RÜMKE, 1972). Para Rümke (1974), além da difusão do sangue para o plasma seminal, a IgA seminal pode também ser secretada localmente, principalmente nos casos em que se encontra em títulos elevados no sêmen. Essa tese foi reforçada em um trabalho mais recente (HJORT, 1998).

As IgG e IgA estudadas, são os isótipos de imunoglobulinas principalmente sintetizadas em resposta aos antígenos espermáticos (HERRMANN and HERMANN, 1969; FRIGBERG, 1974; RÜMKE, 1974). Esses anticorpos foram detectados em secreções locais, seminais e vaginais, por Kutteh et al. (1995). Com base na conhecida capacidade de ligação dessas imunoglobulinas com os espermatozóides, a presença de uma ou de outra, como também de ambas, poderá ser um dado importante para a avaliação do prognóstico da infertilidade pós-vasectomia.

O presente estudo revelou que anticorpos antiespermatozóides incidem no sangue e no sêmen, simultaneamente, ainda no curto intervalo de 30 dias (TABELA 1, FIGURA 1), se considerarmos quaisquer títulos dos mesmos (>0%). Este dado se encontra de acordo, mais com a observação de Ansbacher (1973), que afirmou que os anticorpos antiespermatozóides aparecem com menos de 6 semanas após a vasectomia. Shulman et al (1972) relataram que tais anticorpos só podem ser evidenciados entre seis semanas e 6 meses.

Este trabalho, constatou a continuação e o crescimento, da resposta imune humoral durante todo o período de estudo, com 85% dos vasectomizados tornando-se positivos para os anticorpos em 180 dias. Ansbacher (1973) relatou, que anticorpos antiespermatozóides podem ser detectados até 24 meses pós-vasectomia. De acordo com Alexander et al (1976), a resposta imune pós-vasectomia contra os espermatozóides poderá continuar até dez anos. Embora o estudo da continuação das respostas humorais por períodos maiores que 180 dias não tenha sido o objetivo do estudo, o crescimento constante dos títulos de anticorpos evidenciado durante todo o período de observação com IgG e IgA conjuntamente incidindo em 85% dos vasectomizados, sugere a possibilidade de que estas respostas imunes poderão continuar por muito mais tempo.

Se considerarmos a positividade $\geq 20\%$ para estas imunoglobulinas, ambas as IgG e IgA apareceram num percentual equivalente de indivíduos. Porém, apenas um número mínimo deles apresentou este resultado, com uma leve predominância de IgG (10%) sobre a IgA (5%), aos 180 dias, o que nos leva a considerar que, no período examinado, não houve tempo suficiente para um crescimento significativo destas imunoglobulinas nos soro e sêmen simultaneamente.

A evolução dos anticorpos (= % de espermatozóides ligados ao anticorpo) em função do tempo revela que os mesmos estavam presentes na seguinte ordem: IgG > IgA, aos 30 dias pós-vasectomia, no soro e sêmen simultaneamente. Esta mesma tendência se evidenciou, também, nos períodos de 90 e 180 dias de observação, com os títulos apresentando contínua elevação [Figura 3 e Tabela 7 (Anexo F)]. Estas observações não podem ser analisadas de forma comparativa, pela falta de relatos relevantes na literatura sobre a presença de imunoglobulinas simultaneamente nos sangue e sêmen, em indivíduos vasectomizados.

Quando as ocorrências das imunoglobulinas IgG, IgA e (IgG+IgA) dos vasectomizados foram somente no sangue ou no sêmen, os percentuais de indivíduos apresentando anticorpos antiespermatozóides com a positividade > 0%, revelaram valores semelhantes e muito baixos (Tabelas 2 e 3 e Figuras 4, 5 e 6). Para a positividade $\geq 20\%$, porém, não houve reatividade no sêmen de nenhum indivíduo, enquanto no soro elas foram detectadas conjuntamente

[IgG+IgA] aos 30 dias em 5%, aos 90 dias em 15% e aos 180 dias em 20% dos indivíduos.

Estes resultados, sugerem que a produção de ambas as imunoglobulinas ocorre concomitantemente, haja vista a presença de ambas em um percentual bastante superior do que a presença de cada uma isoladamente. Ressalta-se também, que a detecção das imunoglobulinas IgG e IgA no soro e sêmen simultaneamente na maioria dos vasectomizados, é indicativo de uma titularidade elevada no sangue de ambas e de uma possível secreção local de IgA. De acordo com Rümke (1972), a difusão ocorre quando os títulos séricos estão elevados. O mesmo autor também conclui que a presença de IgA também é devida a uma secreção local da mesma.

Os sítios anatômicos de ligação dos anticorpos nos espermatozóides, ou sejam cabeça, peça intermediária (PI) e cauda, são considerados importantes no comprometimento da função espermática (BRONSON et al., 1982; CLARKE et al., 1985; DE ALMEIDA et al., 1989), sendo assim também, um objetivo importante deste trabalho.

O resultado das análises do local de ligação do anticorpo no espermatozóide no soro e sêmen simultaneamente, com a positividade > 0%, revelou que, aos 30 dias pós-vasectomia, oito dos 20 (40%) indivíduos tinham IgG antiespermatozóides, sendo seis destes apresentando ligação à peça intermediária (PI) (quatro somente à PI, dois com mais que um sítio anatômico de ligação). Aos 90 dias, 13 tinham anticorpos, com 12 destes indivíduos apresentando os anticorpos ligados à PI, isoladamente ou com outros sítios de ligação. Com 180 dias, 17 (85%) dos indivíduos foram reativos para IgG, com 16(80%) com padrão de ligação dos anticorpos à PI (4 somente à PI, e 12 com ligação à Pi e outro sítio conjuntamente) e um com ligação à cauda. À positividade de $\geq 20\%$ porém, apenas dois indivíduos tinham, somente aos 180 dias, anticorpos ligados, um à PI e cauda e um outro à Pi, cauda e cabeça (Figura 10).

O quadro de IgA, no soro e sêmen simultaneamente à positividade >0%, se revela bastante similar ao de IgG, nos três períodos de avaliação, com seis, 14 e 17 indivíduos apresentando anticorpos em diferentes sítios de ligação aos 30, 90 e 180 dias, respectivamente. Similar à IgG, a IgA também revelou ligação à PI na maioria dos indivíduos, seguida pela ligação à cauda e à cabeça dos espermatozóides. Todavia, a positividade $\geq 20\%$ foi evidenciada, somente aos 90

e 180 dias, num único indivíduo em cada um destes períodos, com ligação dos anticorpos à PI, cabeça e cauda (Figura 11).

A maioria dos relatos na literatura cita a cauda e a peça intermediária como sítios principais de ligação dos anticorpos antiespermatozóides (WILSON, 1954; RÜMKE; HELINGA, 1959). Os nossos dados, de um modo geral, tendem a coincidir com essa observação.

Os três perfis de anticorpos (anti-cabeça, anti-peça intermediária, anti-cauda), revelaram um crescimento progressivo nos três tempos de observação, com os anticorpos anti-peça intermediária atingindo o maior título ao final dos 180 dias (média- 22,4%; mediana - 15%), seguidos pelos anticorpos anti-cabeça (média- 12,8%; mediana - 0) e pelos anticorpos anti-cauda (média - 8,6%; mediana - 7%). Contudo, os anticorpos anti-peça intermediária exibiram um maior índice de crescimento relativo, se comparado aos anticorpos anti-cauda, que por sua vez apresentaram um crescimento relativo maior que os anticorpos anti-cabeça (Tabela 6). Estas observações, não podem ser comparados com os dados de literatura, pela escassez de trabalhos sobre os perfis dos anticorpos antiespermatozóides.

O presente trabalho, tem também como objetivo, analisar os possíveis efeitos do desenvolvimento dos anticorpos antiespermatozóides em vasectomizados, sobre a fertilidade futura dos que desejarem submeter-se às cirurgias de reversão. Neste contexto, os dados colhidos no presente trabalho, quanto à evolução dos antiespermatozóides, no sangue e no sêmen dos homens vasectomizados, como também às classes de imunoglobulinas e seus sítios anatômicos de ligação nos espermatozóides, são aqui analisados quanto às possíveis influências futuras, na fertilidade desses homens.

As classes das imunoglobulinas envolvidas nas respostas imunes antiespermatozóides parecem desempenhar papéis específicos no comprometimento da função espermática. Bronson et al. (1982) são de opinião de que a IgA ligada ao espermatozóide compromete mais a migração espermática, ao passo que ambas as IgG e IgA interferem na interação gameta-oócito.

Diferente de quase todos os relatos da literatura sobre a ocorrência de anticorpos antiespermatozóides, no presente trabalho foram investigados, além da incidência, a evolução nos primeiros 180 dias no sangue e/ou no sêmen dos

vasectomizados, as classes de imunoglobulinas e seus sítios anatômicos de ligação nos espermatozóides.

Esta sistemática de coleta dos dados dificultou, de certa forma, as avaliações comparativas dos dados do presente estudo com as informações mais limitadas disponíveis nos relatos de outras investigações. Todavia, o presente estudo revelou que a IgA, evoluiu embora discretamente, mais que a IgG, em termos relativos, durante o período de estudo, simultaneamente no sangue e no sêmen. Conforme as observações de Bronson et al.(1982), acima citado, estes anticorpos podem tanto comprometer a migração espermática no canal vaginal, como também afetar a interação gameta-oócito – ambas capazes de contribuir para o quadro de infertilidade dos vasectomizados que venham a recorrer às cirurgias de reversão. Aitken (1977) relata que, dos anticorpos antiespermatozóides presentes no sêmen, é a IgA que compromete mais a migração espermática. Jager et al., (1980) observam que a ligação da IgA ao espermatozóide compromete fortemente a sua migração no muco cervical, devido à ligação deste anticorpo também às moléculas do muco cervical. Nesta circunstância, conforme os mesmos autores, os espermatozóides apresentam o “*shaking phenomenon*” (movimentos vigorosos), todavia sem progressão da motilidade do espermatozóide. São considerações que também podem ser aplicadas aos anticorpos IgA detectados no sêmen dos pacientes vasectomizados estudados.

O presente estudo revelou também a presença de IgG no sangue e no sêmen. De acordo com Bronson et al., (1982), ambos os anticorpos antiespermatozóides IgA e IgG podem competitivamente se ligar aos mesmos receptores dos óvulos aos quais se ligam os espermatozóides, comprometendo desta forma o processo de fecundação. Adicionalmente, os anticorpos IgA, e mais raramente até IgG, podem induzir a aglutinação dos espermatozóides, impedindo a sua motilidade (Friberg, 1974). A presença em níveis significativos destes dois anticorpos no sangue e no sêmen dos vasectomizados do presente estudo, pode viabilizar também mais estes argumentos, na avaliação das suas possíveis influências sobre o retorno à fertilidade dos que se submetem às cirurgias de reversão da vasectomia.

Relatos científicos anteriores revelam que os sítios de ligação dos anticorpos no espermatozóide também exercem papel na infertilidade masculina.

De acordo com os relatos de Bronson (1982), Clarke (1985) e De Almeida (1989), os anticorpos ligados à cauda interferem no transporte do gameta no trato genital feminino, enquanto os anticorpos ligados à cabeça prejudicam a interação gameta-óvulo, comprometendo-se de forma mais intensa a fertilidade conjugal.

O presente estudo detectou que um maior percentual de vasectomizados desenvolveu anticorpos que se ligavam à PI e à cauda dos espermatozóides do que à cabeça espermática; o que poderá significar que estes anticorpos poderiam acerretar mais o comprometimento da migração espermática no trato genital feminino, do que a presumível interferência ocasionada na interação gameta-óvulo pelos anticorpos ligados à cabeça dos espermatozóides.

Enfim, a real avaliação do significado do presente estudo quanto aos anticorpos detectados no sangue e/ou no sêmen de indivíduos vasectomizados, depende também da importância atribuída aos títulos dos mesmos nestes fluidos biológicos. A World Health Organization (WHO, 1982) recomenda, que seja considerado como resultado positivo o teste de "Imunobead", quando $\geq 20\%$ dos espermatozóides estiverem ligados às microimunoesferas. Porém, tem sido considerado de difícil solução, ao longo das décadas de investigações, a definição do que poderá ser considerado realmente positivo ou negativo, nos resultados oriundos dos métodos de avaliação empregados nos diversos estudos. Bronson et al., (1982) consideram positivo quando o número de espermatozóides ligados às microimunoesferas for superior a 13%; enquanto Clarke et al., (1984) e Schulman et al., (1985) consideram um valor $> 10\%$ como positivo.

Neste trabalho, a sistemática adotada de valorizar os dois padrões de positividade, ou sejam $> 0\%$ e $\geq 20\%$ revelou, que as positivities dos anticorpos aumentaram com o tempo, durante o período do estudo, demonstrando que os níveis de positividade registrados aos 30 dias ou aos 90 dias pós-vasectomia, ainda apresentaram crescimento para patamares maiores no período de 180 dias. Vale ressaltar, ao ensejo, que nenhuma das amostras de sangue ou sêmen dos indivíduos apresentou resultado positivo antes da vasectomia; esta observação atribui uma real importância à presença dos anticorpos, em qualquer nível de positividade, nos fluidos biológicos dos vasectomizados. Embora a maioria dos indivíduos que apresentou positividade $> 0\%$ não tenha evoluído à positividade de $\geq 20\%$, a tendência de crescimento da

positividade foi demonstrada no estudo. Haja vista que há controvérsias, sobre o valor de positividade dos anticorpos antiespermatozóides que realmente comprometem a fertilidade masculina, consideramos que a sistemática adotada no presente estudo é relevante, podendo os dados colhidos, oferecerem algum subsídio real para a avaliação do estado de fertilidade dos indivíduos vasectomizados que se empenham em restaurar a fertilidade mediante cirurgias de reversão.

6. CONCLUSÕES

- Amostras seminais e séricas pré-vasectomia, não revelaram anticorpos antiespermatozóides em nenhum dos indivíduos.
- Dos 20 indivíduos vasectomizados e avaliados pela incidência de anticorpos antiespermatozóides, 25% apresentou ambos os anticorpos IgG e IgA conjuntamente, simultaneamente no sêmen e no soro, se considerada a positividade de $> 0\%$, no período de 30 dias após a vasectomia. Esta taxa de incidência aumentou para 60% aos 90 dias e para 85% aos 180 dias. Nenhum dos indivíduos, porém, demonstrou reatividade, quando a positividade considerada foi de $\geq 20\%$, durante todo o período de avaliação de 180 dias.
- Isoladamente, IgG e IgA estavam presentes simultaneamente no soro e sangue, em 15% e 5%, respectivamente, aos 30 dias. Com 90 dias IgG e IgA incidiram respectivamente em 5% e 10% dos vasectomizados, não havendo reatividade aos 180 dias. À positividade de $\geq 20\%$ a IgG foi constada em dois indivíduos, com um revelando presença da IgA com 180 dias.
- Quando a incidência de anticorpos antiespermatozóides isoladamente, no soro ou sêmen foi avaliada, à positividade $>0\%$ os valores foram baixos e muito semelhantes, com uma discreta predominância da incidência de IgG no soro e de IgA no sêmen. Quando a positividade considerada foi $\geq 20\%$ constatou-se que apenas no soro e somente para IgG e IgA conjuntamente, houve reatividade com uma incidência de 5% aos 30 dias, 15% aos 90 dias e 20% aos 180 dias.

- A análise dos sítios anatômicos de ligação dos dois anticorpos (IgG e IgA) nos espermatozoides de voluntários sadios, revelou que, no soro e sêmen simultaneamente, os anticorpos se ligavam predominantemente à peça intermediária, seguida pela ligação à cauda, nesta ordem.
- Estes dados revelam que as respostas imunes humorais incidem em grande número dos vasectomizados, revelando nítidas tendências de crescimento em função do tempo; as quais poderiam, em princípio, comprometer a fertilidade desses indivíduos, na eventualidade de se submeterem às cirurgias de reversão.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AITKEN, R. J. Immunological contraception. In: WAITES, G. M. H.; FRICK, J.; BAKER, G. W. H. **Current advances in andrology**. Bolonha : Mondozzi Editore, 1977. p. 333-336.

ALEXANDER, N. J.; SCHMIDT, S. S.; FREE, M. J.; DANILCHIK, M. V.; HILL, W. T. Sperm antibodies after vasectomy with fulguration. **J. Urol.**, v. 115, p. 77, 1976.

ANSBACHER, R. Vasectomy: sperm antibodies. **Fertil. Steril.**, v. 24, p. 788, 1973.

_____. Bilateral vas ligation: sperm antibodies. **Contraception**, v. 9, p. 227, 1974.

ANSBACHER, R.; KEUNG-YEUNG, K.; WURSTER, J. C. Sperm antibodies in vasectomized men. **Fertil. Steril.**, v. 23, p. 640, 1973.

AYDOS, K.; KUPELI, B.; SOYGUR, T.; UNSAL, A.; ERDEN, E.; TULUNAY, O.; KUPELIS. Analysis of the relationship between histologic and the generation of reactive oxygen species in vasectomized rat testes. **Urology**, v. 51, n. 3, p. 510-515, 1998.

BATOVA, I. N.; RICHARDSON, R. T.; WIDGREN, E. E.; O RAND, M. G. Analysis of the autoimmune epitopes on human testicular NASP using recombinant and synthetic peptides. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 121, n. 2, p. 201-209, 2000.

BEHRMANN, S. J.; BUETTNER-JANUSCH, J.; HEGLAR, R.; GERSHOWITZ, H.; TEW, H. L. ABO (H) blood incompatibility as a cause of infertility; a new concept. **Am. J. Obst. Gynec.**, v. 79, p. 847, 1960.

BEHRMANN, S. J. Immunological phenomena in infertility: some clinical applications. **Harper's Hosp. Bull.**, v. 24, p. 147, 1966.

BEHRMANN, S. J.; LIEBERMAN, M. E.; UCHIYAMA, N.; ANSBACHER, R. Immunoglobulin biosynthesis of the rabbit reproductive tract in vitro. In: SHERMAN, A. I. (Ed.). **Pathway to conception**. Springfield: Charles C Thomas, 1971.

BELKER, A. M.; THOMAS Jr., A. J.; FUCHS, E. F.; KONNAK, J. R.; SHARLIP, I. D. Results of 1469 microsurgical vasectomy reversals by the Vasovasostomy Study Group. **J. Urol.**, v. 145, p. 505-511, 1991.

BLAND, Y.; JOHN, P. **Operative urology**. Oxford: Blackwell Scientific, 1978. p. 240-241.

BOETTCHER, B.; HAY, J.; KAY, D. J.; BALDO, B. A.; ROBERTS, T. K. Spermagglutinating activity in some human sera. **Int. J. Fertil.**, v. 15, p. 143, 1970.

BOHRING, C.; KRAUSE, W. Differences in the antigen pattern recognized by antisperm antibodies in patients with infertility and vasectomy. **J. Urol.**, v.166, n. 3, p.1178-1180, 2001.

BRONSON, R. A.; COOPER, G. W.; ROSENFELD, D. L. Membrane-bound sperm sperm-specific antibodies: their role in infertility. In: VOGEL, H. E.; JAGIELLO, G. (Ed.) **Bioregulators of reproduction**. New York: Academic Press, 1981. p.521-527.

BRONSON, R. A.; COOPER, G. W.; ROSENFELD, D. L. Sperm-specific isoantibodies and autoantibodies inhibit the binding of human sperm to the human zone pellucid. **Fertil. Steril.**, v. 38, p. 724-729, 1982.

_____. Detection of sperm specific antibodies on the spermatozoa surface by immunobead binding. **Arch. Androl.**, v. 9, p. 61, 1982.

_____. Sperm antibodies: their role in infertility. **Fertil. Steril.**, v. 42, p. 171-183, 1984.

CHEHVAL, M. J.; DOSHI, R; KIDD, C. F.; WINKELMANN, T.; CHEHVAL, V. Antisperm autoantibody response after unilateral vas deferens ligation in rats: When does it develop? **J. Androl.**, v. 23, n. 5, p. 669-673, 2002.

CHIU, W. W; CHAMLEY, L. W. Antibody-binding proteins in human seminal plasma. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 48, n. 4, p. 269-274, 2002.

CLARKE, G. N.; STOJANOFF, A.; CAUCHI, M. N.; MCBAIN, J. C.; SPEIRS, A. L.; JOHNSTON, W. I. H. Detection of antispermatozoal antibodies of IgA class in cervical mucus. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 5, p. 61-65, 1984.

CLARKE, G. N.; LOPATA, A.; MCBAIN, J. C. et al. Effects of sperm antibodies in males on human in vitro fertilization (IVP). **Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.**, v. 88, p. 62-66, 1985.

COCHRAN, J. S. Immunobiology of reproductive processes in men. Current concepts. **Urology**, v. 4, p. 367-377, 1974.

COELINGH BENNINK, H. J. T.; MENGE, A. C. Spermatozoal antibodies in cervical mucus. **Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.**, v. 2, p. 147, 1974.

CREWE, O.; DAWSON, L.; BARNES, R. D.; TIDMASH, E.; CHANARIN, I.; HJORT, T.; INGERSLEV, J. Lack of association of the development of anti-sperm antibodies and other autoantibodies as a consequence of vasectomy. **Int. J. Fertil.**, v. 22, n. 2, p. 104-109, 1977

DE ALMEIDA M.; GAZAGNE, I.; JEULIN, C.; HERRY, M.; BELAISCH-ALLART, J.; FRYDMAN, R.; JOUANNET, P.; TESTART, J. In-vitro processing of sperm with autoantibodies and in-vitro fertilization results. **Hum. Reprod.**, v. 4, p. 49-53, 1989.

DEMESHEK, W. Autoimmunity- general concepts. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 135, p. 436, 1966.

DONDERO, F.; ISIDORI, A.; LENZI, A.; CERASARO, M.; MAZZILLI, F.; GIOVENCO, P.; CONTI, C. Treatment and follow-up of patients with infertility due to sperm agglutinins. **Fertil. Steril.**, v. 31, p. 48-51, 1979.

DONDERO, F.; RADICIONI, A.; GANDINI, L.; LENZI, A. Immunoglobulins in human seminal plasma. **Andrologia**, v. 16, p. 228-236, 1984.

FJALLBRANT, B.; OBRANT, O. Clinical and seminal findings in men with sperm antibodies. **Acta Obstet. Gynecol. Scand.**, v. 47, p. 451, 1968.

FLICKINGER, C. J.; HOWARDS, S. S.; HERR, J. C. Effects of vasectomy on the epididymis. **Microsc. Res., Tech.**, v. 30, n. 1, p. 82-100, 1995.

FOURNIER-DELPECH, S.; GUERIN, Y. Immunological approach to male contraception. **Contracept. Fertil. Sex.**, v. 20, n. 10, p. 936-941, 1992.

FRANCO Jr., J. G.; SCHIMBERN. M.; ROJAS, F. J.; ROJAS, I. M.; STONE, S. C. Reproducibility of the indirect immunobead assay for detecting sperm antibodies in serum. **J. Reprod. Med.**, v. 34, p. 259-263, 1989.

FRIBERG, J. Clinical and immunological studies on sperm agglutinating antibodies in semen and seminal fluid. **Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.**, n. 36, p. 1-36, 1974

GIOVANNUCCI, E.; TOSTESON, T. D.; SPEIZER, F. E.; ASCHERIO, A.; VESSEY, M. P.; COLDITZ, G. A. A retrospective cohort study of vasectomy and prostate cancer in US men. **JAMA**, v. 26, n. 7, p. 878-882, 1993.

GOLDEBERG, E. Infertility in female rabbits immunized with lactate dehydrogenase X. **Science**, v. 181, p. 458, 1973.

GUPTA, T.; DHAWAN, S.; GOEL, G. D.; SAHA, K. Low fertility rate in vasovasostomized males and its possible immunologic mechanism. **Int. J. Fertil.**, v. 20, n. 3, p. 183-191, 1975.

HASS Jr., G.G. Antisperm antibodies in infertlle men. **JAMA**, v. 20, p. 885-886, 1996.

HEIDENREICH, A.; BONFIG, R.; WILBERT, D. M.; STROHMAIER, W. L.; ENGELMANN, U. H. Risk factors for antisperm antibodies (ASAs) in infertile men. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v.31, p. 69-76, 1994.

HELMERHORST, F. M.; FINKEM, M. J. J.; ERNICH, J. J. Detection assays for antisperm antibodies: what do they test? **Hum. Reprod.**, v. 14, p. 1669-1671, 1999.

HEKMAN, A.; RÜMKE, P. The antigens of human seminal plasma. **Fertil. Steril.**, v. 20, p. 312, 1969.

HENDRY, W. F. Vasectomy and vasectomy reversal. **Br. J. Urol.**, v. 73, n. 4, p. 337-344, 1994.

HENSLEIGH, H. C.; JAVKIN, P. D.; TAGATZ, G. E. Evaluation for antiesperm antibodies after storage of sperm in TEST-yolk buffer. **Fertil. Steril.**, v. 66, p. 454-458, 1996.

HERRMANN, W. P.; HERMANN, G. Immunoelectrophoretic and chromatographic demonstration of IgG, IgA, and fragments of globulin in human seminal fluid. **Int. J. Fertil.**, v. 14, p. 211, 1969.

HINTING, A.; VERMEULEN, L.; COMHAIRE, F. The indirect mixed antiglobulin reaction test using a commercially available kit for detection of antisperm antibodies in serum. **Fertil. Steril.**, v. 49, p. 1039-1044, 1988.

HJORT, J.; HANSEN, K. B. Immunofluorescent studies on human spermatozoa. I. The detection of different spermatozoal antibodies and their occurrence in normal and infertile women. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 8, p. 9, 1971.

HJORT, T.; HUSTED, S.; LINNET- JEPSEN, P. The effect of testis biopsy on autosensitization against spermatozoal antigens. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 18, p. 201-205, 1974.

HJORT, T. Do autoantibodies to sperm reduce fecundity? A mini-review in historical prospective. **Am. J. Reprod. Immunology**, v. 3, p. 215-222, 1998.

JAGER, S.; KREMER, J.; KUIKEN, J.; VAN SLOCHTEREN-DRAAISMA, T. Immunoglobulin class of antiespermatozoal antibodies from infertile men and inhibition of in vitro sperm penetration in to cervical mucus. **Int. J. Androl.**, v. 3, p. 1-14, 1980.

JAGER, S.; KREMER, J.; VAN SLOCHTEREN-DRAAISMA, T. A simple method of screening for antisperm antibodies in the human male : detection of spermatozoan surface IgG with the mixed agglutination reaction carried out on untrated fresh human semen. **Int. J. Feril.**, v. 23, p. 12-21, 1978.

JAROW, J. P.; GOLUBOFF, E. T.; CHANG, T. S.; MARSHALL, F. F. Relationship between antisperm antibodies and testicular histologic changes in human after vasectomy. **Urology**, v. 46, n. 4, p. 591-602, 1994.

JOHNSON, D. S. Reversible male sterilization: current status and future directions. **Contraception**, v. 5, p. 327, 1972.

JONES, W. P. Immunologic infertility : factor or fiction? **Fertil. Steril.**, v. 3, p. 577-586, 1980.

KATSH, S. Antigenicity of human testis. **J. Urol.**, v. 87, p. 896, 1960.

KATSH, S.; BISHOP, D. The effects of homologous testicular and brain and heterologoustesticular homogenates combinet with adjuvant upon the testes of guinea pigs. **J. Embryol. Exp. Morphol.**, v. 6, p. 94, 1958.

KAY, D. J.; CLIFTON, V.; TAYLOR, J. S; BOETTCHER, B. Antisperm antibodies and

semen profiles in reanastomosed men. **Reprod. Fertil. Dev.**, v. 5, n. 1, p. 135-139, 1993.

KE, R.W.; DOCKTER, M.E. MAJUMDAR, G.; BUSTER, J. E.; CARSON, S. A. Flow cytometry provides rapid and highly accurate detection of antisperm antibodies. **Fertil. Steril.**, v. 63, p. 902-906, 1995.

KOIDE, S. S.; WANG, L.; KAMADA, M. Antisperm antibodies associated with infertility : properties and encoding genes of target antigens. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 224, n. 3, p. 123-132, 2000.

KOSKIMIES, A. I., KORMANO, M.; LAHTI, A. A difference in the immunoglobulin content of seminiferous tubule fluid and rete testis fluid of the rat. **J. Reprod. Fertil.**, v. 27, p. 463, 1971.

KRAPEZ, J. A.; HAYDEN, C. J.; RUTHERFORD, A. J.; BALEN, A. H. Survey of the diagnosis and management of antisperm antibodies. **Hum. Reprod.**, v. 13, p. 363-336, 1998.

KUTTEH, W. H.; KILIAN, M.; ERMEL, L. D.; MESTECKY, J. Antisperm antibodies in infertile women: subclass distribution of immunoglobulin IgA and removal of IgA sperm-bound antibodies with a specific IgA1 protease. **Fertil. Steril.**, v. 63, p. 63-70, 1995.

LANDSTEINER, K. (1899) apud HEKMAN, A.; RÜMKE, P. The antigens of human seminal plasma. **Fertil. Steril.**, v. 20, p. 312, 1969.

LAURENCE, K. A.; CARPUK, O.; PERLBACHS, M. Transfer of testicular lesions by leukocytes from testes-immunized rats. **Inst. J. Fertil.**, v. 10, p. 13, 1965.

LAW, H. Y.; BODMER, W. F.; MATHEWS, J. D.; SKEGG, D. C. The immune response to vasectomy and its relation to the HLA system. **Tissue-Antigens**, v. 14, n. 2, p. 115-139, 1979.

LEAVESLEY, J. H. Brief history of vasectomy. **Fam. Plann. Inf. Serv.**, v. 1, n. 5, p. 2-3, 1980.

LEMBRUGER, I.; LOJA, C. Esterilidade de causa imunológica. In: TOGNOTTI, E.; PINOTTI, J. A (Ed.). **A esterilidade na prática: da propedêutica básica à reprodução assistida.** São Paulo: Roca, 1997. p. 317-23

LI, T. S. Sperm immunology, infertility, and fertility control. **Obst. Gynecol.**, v. 44, p. 607, 1974.

LINNET, L.; HJORT, T.; FOGH-ANDERSEN, P: Association between failure to impregnate after vasovasostomy and sperm agglutinins in semen. **Lancet**, v. 1, p. 117-119, 1981.

LINNET, T.; FOGH-ANDERSEN, P.; HJORT, T.; MOLLER, N. P. Immunoglobulin

classes, secretory component, and sperm agglutinins in semen after vasovasostomy. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 2, n. 1, p. 13-17, 1982.

LIU, S. C.; TANG, G. H. Sperm autoimmunity in vasectomized men and its relationship to atherosclerotic coronary artery disease. **Clin. Reprod. Fertil.**, v. 3, n. 4, p. 343-348, 1985.

LUCAS, P. L.; ROSE, N. R. Immunological consequences of vasectomy: a review. **Ann. Immunol.**, v. 129C, n. 2-3, p. 301-322, 1978.

MADAR, J.; URBANNEK, V.; CHALOUPKOVA, A.; NOUZA, K.; KINSKY, R.; Role of sperm antibodies and cellular autoimmunity to sperm in the pathogenesis of male infertility. **Ceska Gynecol.**, v. 67, n. 1, p. 3-7, 2002.

McDONALD, S. W. Cellular responses to vasectomy. **Int. Rev. Cytol.**, v. 199, p. 295-330, 2000.

_____. Vasectomy and human testis. **AJR Am. J. Roentgenol.**, v. 152, n. 3, p. 531-534, 1989.

McLACHAN, R. I. Basis, diagnosis and treatment of immunological infertility in men. **J. Reprod. Immunol.**, v. 57, n. 1-2, p. 35-45, 2002.

MARSHBURN, P. B.; KUTTEH, W. H. The role of antisperm antibodies in infertility. **Fertil. Steril.**, v. 61, p. 799-811, 1994.

MASSON, P. L.; HEREMANS, J. F.; DIVE, C. An iron-binding protein common to many external secretions. **Clin. Chim. Acta**, v. 14, p. 735, 1966.

MAZUMDAR, S. and LEVINE, A.S. Antisperm antibodies: etiology, pathogenesis, and treatment. **Ferti. Steril.**, v. 70, p. 799-810, 1998.

MEAKER (1922) apud HEKMAN, A.; RÜMKE, P. The antigens of human seminal plasma. **Ferti. Steril.**, v. 20, p. 312, 1969.

MEINERTZ, H.; LINNET, L.; FOGH-ANDERSON, P.; HJORT, T: Antisperm antibodies and fertility after vasovasostomy: A follow-up study of 216 men. **Fertil. Steril.**, v. 54, p. 315-321, 1990.

METALNIKOFF, S. (1900) apud HEKMAN, A.; RÜMKE, P. The antigens of human seminal plasma. **Ferti. Steril.**, v. 20, p. 312, 1969.

METCHNIKOFF, E (1899) apud HEKMAN, A.; RÜMKE, P. The antigens of human seminal plasma. **Ferti. Steril.**, v. 20, p. 312, 1969

METTLER, L., PAUL, S., BAUKLOH, V., FELLER, A. C. Monoclonal sperm antibodies: their potential for investigation of sperms as a target of immunological contraception. **Am. J. Reprod. Immunol.**, v. 5, p. 125-128, 1984.

NAGANO, T.; OKUMURA, K. Fine structural changes of allergic aspermatogenesis in

the guinea pig, induced by the homologous parotid gland as antigen. **Virchows Arch. B Cell. Pathol.**, v. 14, p. 237-245, 1973.

NEVES, P. A.; NETTO JUNIOR, N. R. **Infertilidade masculina**. São Paulo: Atheneu, 2002.

OHL, D. A.; NAZ, R. K. Infertility due to antisperm antibody. **Urology**, v. 46, n. 4, p. 591-602, 1995.

PARSLOW, J. M.; POULTON, T. A.; BESSER, G. M.; HENDRY, W. F. The clinical relevance of classes of immunoglobulins on spermatozoa from infertile and vasovasostomized males. **Fertil. Steril.**, v. 43, n. 4, p. 621-627, 1985.

PHADKE, A. M. Fate of spermatozoa in cases of obstructive azoospermia and after ligation of vas deferens in man. **J. Reprod. Fertil.**, v. 7, p. 1, 1964

PHADKE, A. M.; PADUKONE, K. Presence and significance of autoantibodies against spermatozoa in the blood of men with obstructed vas deferens. **J. Reprod. Fertil.**, v. 7, p. 163, 1964.

PRADIGNAC, A.; DEMAND, R. M.; CRANZ, C.; CLAVERT, A. Antispermatozoal autoantibodies and genital infections. **Urol. Int.**, v. 46, n.1, p. 18-21, 1999.

RÄSANEN, M. L.; HOVATTA, O. L.; PENTTILA, I. M.; AGRAWAL, Y. P. Detection and quantitation of sperm-bound antibodies by flow cytometry of human semen. **J. Androl.**, v. 13, p. 55-64, 1992.

ROSE, N. R.; HJORT, T.; RÜMKE, P.; HARPER, M. J. K.; VYAZOV, O. Techniques for detection of iso and autoantibodies to human spermatozoa. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 23, p. 175, 1976.

ROYLE, M. G.; PARNSLOW, J. M.; KINGSCOTT, M. M.; WALLACE, D. M.; HENDRY, W. F. Reversal of vasectomy: the effects of sperm antibodies on subsequent fertility. **Br. J. Urol.**, v. 53, p. 654-659, 1981.

RÜMKE, P.; HELLINGA, G. Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 32, p. 357, 1959.

RÜMKE, P. The presence of sperm antibodies in the serum of two patients with oligospermia. **Vox Sang.**, v. 4, p. 135-140, 1954.

_____. Sperm antibodies and their action upon human spermatozoa. **Ann. Inst. Pasteur Lille**, v. 118, p. 525, 1970.

_____. Autoimmunität gegen Spermatozoen und Unfruchtbarkeit des Mannes. **Andrologie**, v. 4, p. 191, 1972.

_____. The origin of immunoglobulins in semen. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 17, p. 287, 1974.

SAMUEL, T.; LINNET, L.; RUMKE, P. Post-vasectomy autoimmunity to protamine in relation to the formation of granulomas and sperm agglutinating antibodies. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 33, n.2, p. 261-269, 1978.

SCHMIDT, S. S. Vasectomy : indication, technique and reversibility. **Fertil. Steril.**, v. 19, p. 192,1968.

SHELTON, J.; GOLDBERG, E. Serum antibodies to LDH-C4. **J. Reprod. Immunol.**, v. 8, n. 4, p. 321-327, 1985.

SHULMAN, S.; PRETORIUS, E.; KEANE, T. A new method for detection of sperm antibodies in serum : use of immunobeads. Presented at the Thirty Annual Meeting of Pacific Coast Fertility Society, Las Vegas, Nevada, 1985.

SHULMAN, S.; ZAPPI, E.; AHMED, U.; DAVIS, J. Immunologic consequences of vasectomy, **Contraception**, v. 5, p. 269, 1972.

SILBER, S. J. Vasectomy and its microsurgical reversal. **Urol. Clin. North Am.**, v. 5, p. 573-578, 1978.

TAUBER, P. F.; ZANEVELD, L. J. D.; PROPPING, D.; SCHUMACHER, G. F. B. Components of human split ejaculates. I. Spermatozoa, fructose, immunoglobulins, albumin, lactoferrin, transferrin, and other plasma proteins. **J. Reprod. Fertil.**, v. 43, p. 249, 1975.

TAYLOR, P. J.; COLLINS, J. A. **Unexplained infertility**. Oxford: Oxford University Press, pp.128-131, 1992.

THOMAS Jr., A. J.; POTES, J. E.; ROSE, N. R.; SEGAL, S.; PIERCE Jr., J. M. Microsurgical vasovasostomy: Immunologic consequences and subsequent fertility. **Fertil. Steril.**, v. 35, p. 447-450, 1981.

TOMASI, T. B.; BIENENSTOCK, J. Secretory immunoglobulins. **Adv. Immunol.** 9:2, 1968.

TSUKUI, S.; NODA, Y.; FUKUDA, A. Blocking effect of sperm immobilizing antibodies, on sperm penetration of human zonae pellucidae. **J. In Vitro Fertil. Embryo Transfer.**, v. 4, p. 123-128, 1988.

TUNG, K. S. Human sperm antigens and antisperm antibodies. Studies on acrosomal antigens. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 24, n. 2, p. 292-299, 1976.

Van LIS, J. M. J.; WAGENAAR, J.; SOER, J. R. Spermagglutinating activity in serum of vasectomized men. **Andrologia**, v. 6, p. 129,1974.

VRIJHOL, H. J.; DELEARE, K. P. Vasovasostomy results in 66 patients related to obstructive intervals and serum agglutinin titers. **Urol. Int.**, v. 53, n. 3, p.143-146, 1994.

WEIL, A. J. The spermatozoa-coating antigen of seminal vesicle. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 124, p. 267, 1965.

WILSON. L. Sperm agglutinins in human semen and blood. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 85, p. 652, 1954.

WINGATE, E. W.; PATRICK, R. T.; MATHUR, S. Antigens is capacitated spermatozoa elicitin auto-immune responses. **J. Urol.**, v.149, p.1331-1337, 1993.

WITKIN, S. S.; SONNABEND, J. Immune responses to spermatozoa in homosexual men. **Fertil. Steril.**, v. 39, p. 337-342, 1983.

WOLFF, H.; SCHILL, W. B. Antisperm antibodies in infertile and homosexual men; relationship to serologic and clinical findings. **Fertil. Steril.**, v. 44, p. 673-677, 1985.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Laboratory manual for the examination of human semen and sperm cervical muco.** Geneve, 1992.

ZANCHETTA, R.; MASTROGIACOMO, I.; GRAZIOTTI, P.; FORESTA, C.; BETTERIE, C. Autoantibodies against Leydig cells in patients after spermatic cord torsion. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 55, p. 49-57, 1984.

ANEXOS

ANEXO – A

Lei do Planejamento Familiar Número-9263

Citamos aqui os artigos e parágrafos mais importantes: Artigo 9 - Para o exercício de direito ao planejamento familiar serão oferecidos todos os métodos e técnicas de concepção e contracepção cientificamente aceitos e que não coloquem em risco a vida e a saúde das pessoas, garantida a liberdade de opção. Parágrafo único: a prescrição a que se refere o “caput” só poderá ocorrer mediante avaliação e acompanhamento clínico e com informação sobre os seus riscos, vantagens, desvantagens e eficácia. Artigo 10 – Somente será permitido a esterilização voluntária nas seguintes situações: 1. Em homens e mulheres com capacidade civil plena e maior de 25 anos de idade ou, pelo menos, com dois filhos vivos, desde que observado o prazo mínimo de sessenta dias entre a manifestação da vontade e o ato cirúrgico, período no qual será propiciado à pessoa interessada acesso a serviço de regulação da fecundidade, incluindo aconselhamento multidisciplinar, visando desencorajar a esterilização precoce. II. Risco à vida ou a saúde da mulher ou do futuro concepto, testemunhado em relatório escrito e assinado por dois médicos. Parágrafo 1 – É condição, para que se realize a esterilização, o registro de expressa manifestação da vontade em documento escrito e firmado, após as informações a respeito dos riscos da cirurgia, possíveis efeitos colaterais, dificuldades de sua reversão.

ANEXO – B



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
UNIDADE DOS SERVIÇOS CIRÚRGICOS DO HUWC
AMBULATÓRIO DE CIRURGIA



TERMO DE RESPONSABILIDADE

_____, brasileiro,
casado, grau de instrução _____, _____ anos
(idade > 25 anos), com _____ filhos (mínimo de 02 filhos vivos), declaro que fui observado pelo prazo de sessenta dias, orientado (risco da cirurgia, possíveis efeitos colaterais, dificuldades de reversão) e aconselhado pela equipe multidisciplinar (médico, psicológico, enfermeira). Venho manifestar minha vontade voluntária em submeter-me ao procedimento de Vasectomia.

CID _____

Gestão de alto risco; S() N()

Método contraceptivo _____

Fortaleza, _____ de _____ de 2005

Médico

Paciente

Testemunha

Testemunha

ANEXO – C

TERMO DE CONSENTIMENTO

Nome _____
Identidade número _____, nascido em _____, cidade _____
Estado _____, casado _____, número de filhos _____, profissão _____
Residente à rua _____, número _____, apto _____
CEP _____, cidade _____, estado _____, telefone _____

Declaro para os devidos fins, estar devidamente informado dos riscos a que estarei submetido, com a participação na pesquisa intitulada EVOLUÇÃO E PERFIL DOS ANTICORPOS ANTIESPERMATOZÓIDES NOS PRIMEIROS 180 DIAS EM INDIVÍDUOS VASECTOMIZADOS, que tem como pesquisador principal Flávio Barbosa Moreira da Rocha, médico, CRM 2523, do curso de mestrado em Patologia da Faculdade de Medicina do Ceará, com risco mínimo para minha pessoa que podem ser devidas às remotas complicações cirúrgicas locais, como infecção, hematoma e dor devidas à cirurgia de vasectomia a que serei submetido, permitindo livremente o estudo detalhado de 04 (quatro) amostras de sangue (5ml de cada amostra) e de 04 (quatro) amostras de esperma, colhidas através de masturbação, sendo as primeiras amostras colhidas antes do procedimento cirúrgico e as subseqüentes com 30, 90 e 180 dias após. Desta forma, serão estudados os anticorpos antiespermatozóides e estarei contribuindo para crescer conhecimentos sobre a anticorpogênese pós-vasectomia, com plena liberdade de retirar o meu consentimento a qualquer momento, segundo à minha vontade, sem que isto traga prejuízos ou retaliações de qualquer natureza à minha pessoa, devendo ser mantido o sigilo e a privacidade sobre minha identidade e estando esta minha participação na pesquisa, não vinculada à qualquer remuneração financeira.

Para contato, em casos de possíveis intercorrências e reações adversas, o pesquisador Flávio Barbosa Moreira da Rocha, reside à Rua Letícia Braga, número 30, Papicu, Fortaleza-CE, CEP 60155-500, telefones: 32494263 e 96038120. Qualquer dúvida sobre ética poderá ser esclarecida junto ao Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

Declaro que após conveniente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que o me foi explicado, concordo em participar do presente protocolo de pesquisa.

Fortaleza, _____ de _____ de 2004

Assinatura do Sujeito da Pesquisa

Assinatura de quem aplicou o T. de Consentimento

Autor da Pesquisa (Flávio Barbosa Moreira da Rocha)

ANEXO - D

CRONOGRAMA DAS COLETAS DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS E DAS VASECTOMIAS

INDIVÍDUO	COLETA (PRÉ-VASECTOMIA)	VASECTOMIA	COLETA (30 dias)	COLETA (90 dias)	COLETA (180 dias)
J.F.B.M.	04/02/2004	11/02/2004	12/03/2004	12/05/2004	11/08/2004
P.H.F.B.	11/02/2004	18/02/2004	17/03/2004	17/05/2004	17/08/2004
F.N.R.S.	11/02/2004	18/02/2004	17/03/2004	17/05/2004	17/08/2004
F.M.F.P.	11/02/2004	18/02/2004	17/03/2004	17/05/2004	17/08/2004
R.R.A.S.	11/02/2004	18/02/2004	17/03/2004	17/05/2004	17/08/2004
J.N.F.S.	18/02/2004	03/03/2004	05/04/2004	02/06/2004	01/09/2004
F.M.P.F.	18/02/2004	03/03/2004	05/04/2004	02/06/2004	01/09/2004
R.AV.	18/02/2004	03/03/2004	05/04/2004	02/06/2004	01/09/2004
F.S.P.	18/02/2004	03/03/2004	05/04/2004	02/06/2004	01/09/2004
E.R.N.	04/03/2004	10/03/2004	12/04/2004	14/06/2004	12/09/2004
M.M.C.B.	04/03/2004	10/03/2004	12/04/2004	14/06/2004	13/09/2004
B.J.S.P.	04/03/2004	17/03/2004	16/04/2004	16/06/2004	16/09/2004
F.A.S.S.	22/03/2004	24/03/2004	22/04/2004	22/06/2004	22/09/2004
M.M.S.	22/03/2004	24/03/2004	22/04/2004	22/06/2004	22/09/2004
V.P.R.	22/03/2004	24/03/2004	22/04/2004	22/06/2004	22/09/2004
S.A.F.	05/04/2004	07/04/2004	07/05/2004	05/07/2004	05/10/2004
F.W.A.	12/04/2004	14/04/2004	12/05/2004	12/07/2004	18/10/2004
F.H.G.S.	16/04/2004	20/04/2004	21/05/2004	20/07/2004	20/10/2004
F.C.R.	02/06/2004	09/06/2004	09/07/2004	10/09/2004	10/12/2004

ANEXO E

Tabela 6. Ocorrência dos diferentes locais de ligação dos anticorpos antiespermatozóides.

(Percentual de Positividade)

Contador	Período de Avaliação (Dias após a Vasectomia)								
	30			90			180		
	Anti-Cabeça	Anti-Peça Intermed.	Anti-Cauda	Anti-Cabeça	Anti-Peça Intermed.	Anti-Cauda	Anti-Cabeça	Anti-Peça Intermed.	Anti-Cauda
1	83	27	3	76	61	20	84	77	30
2	49	16	3	65	50	13	82	52	21
3	3	14	1	26	46	13	65	48	18
4	1	12	1	9	28	9	17	37	14
5	0	11	1	4	27	8	5	33	13
6	0	6	0	1	23	8	1	26	11
7	0	5	0	1	13	8	1	24	11
8	0	4	0	0	12	6	0	21	10
9	0	3	0	0	12	5	0	18	8
10	0	2	0	0	7	5	0	15	8
11	0	2	0	0	7	5	0	15	6
12	0	0	0	0	6	5	0	15	6
13	0	0	0	0	6	4	0	14	6
14	0	0	0	0	6	1	0	12	5
15	0	0	0	0	4	0	0	12	3
16	0	0	0	0	3	0	0	11	2
17	0	0	0	0	2	0	0	10	0
18	0	0	0	0	0	0	0	5	0
19	0	0	0	0	0	0	0	2	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Média	6,8	5,1	0,5	9,1	15,7	5,5	12,8	22,4	8,6
Mediana	0	2	0	0	7	5	0	15	7

ANEXO – F

**TABELA 7. Ocorrência das imunoglobulinas IgG e IgA no soro e sêmen simultaneamente.
(Percentual de positividade)**

Contador	Período de Avaliação (Dias após a Vazectomia)					
	30		90		180	
	IgG	IgA	IgG	IgA	IgG	IgA
1	11	9	17	20	25	29
2	7	8	15	11	20	15
3	5	8	14	7	19	14
4	5	2	12	7	16	13
5	3	2	9	6	15	12
6	2	2	8	6	11	7
7	1	0	6	4	8	6
8	1	0	4	4	6	5
9	0	0	4	3	5	5
10	0	0	4	3	5	4
11	0	0	4	3	5	4
12	0	0	3	2	5	3
13	0	0	2	2	5	3
14	0	0	0	1	4	3
15	0	0	0	0	4	2
16	0	0	0	0	4	1
17	0	0	0	0	1	1
18	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0
Média	1,75	1,55	5,10	3,95	7,90	6,35
Mediana	0,00	0,00	4,00	3,00	5,00	4,50
Número de Indivíduos com % de Positividade > 0	8	6	13	14	17	17

ANEXO G

Resultado das Análises Individuais

1. Nome: J.F.B.M

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda - 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 2% Ligada à peça intermediária – 8% Ligada à cauda – 5% Espermatozóides não ligados – 85%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 1% Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 92%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 1% Ligada à peça intermediária – 9% Ligada à cauda – 7% Espermatozóides não ligados – 83%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 6% Espermatozóides não ligados – 89%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 31% Ligada à peça intermediária – 10% Ligada à cauda – 11% Espermatozóides não ligados – 48%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 13% Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 10% Espermatozóides não ligados – 75%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 11% Ligada à peça intermediária – 9% Ligada à cauda – 7% Espermatozóides não ligados – 73%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 10% Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 85%

2 . Nome: R.F.S.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 92%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 1% Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 97%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 1% Ligada à peça intermediária – 8% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 89%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 94%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 96%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 99%

3 . Nome: P.H.F.B.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 6% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 93%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 95%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 96%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 97%

4 . Nome: F.N.R.S.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%

5. Nome: F.M.F.P.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 98%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 98%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 1% Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 98%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 94%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 96%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 98%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 7% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 91%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 95%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 98%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 98%

6 . Nome: R.R.A.S.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 98%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 96%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 98%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 93%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 97%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 92%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 98%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 95%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 1% Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 4% Espermatozóides não ligados – 94%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 94%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 6% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 93%

7. Nome: J.N.F.S.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 18% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 80%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 13% Ligada à cauda – 4% Espermatozóides não ligados – 83%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 9% Ligada à peça intermediária – 14% Ligada à cauda – 5% Espermatozóides não ligados – 72%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 93%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 6% Ligada à peça intermediária – 15% Ligada à cauda – 10% Espermatozóides não ligados – 69%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 4% Ligada à peça intermediária – 15% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 81%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 3% Ligada à peça intermediária – 19% Ligada à cauda – 7% Espermatozóides não ligados – 71%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 4% Ligada à peça intermediária – 28% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 67%

8. Nome: F.M.P.F.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 93%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 1% Ligada à peça intermediária – 6% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 91%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 2% Ligada à peça intermediária – 8% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 89%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 8% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 91%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 4% Ligada à peça intermediária – 13% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 83%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 1% Ligada à peça intermediária – 10% Ligada à cauda – 4% Espermatozóides não ligados – 85%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 11% Ligada à peça intermediária – 13% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 75%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 10% Ligada à peça intermediária – 10% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 80%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 2% Ligada à peça intermediária – 12% Ligada à cauda – 6% Espermatozóides não ligados – 80%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 14% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 84%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 2% Ligada à peça intermediária – 17% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 81%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 1% Ligada à peça intermediária – 9% Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 87%

9. Nome: R.A.V.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 95%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 95%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 6% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 94%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 1% Ligada à peça intermediária – 25% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 73%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 16% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 84%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 16% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 84%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 96%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 25% Ligada à cauda – 5% Espermatozóides não ligados – 70%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 15% Ligada à cauda – 5% Espermatozóides não ligados – 80%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 84%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 95%

10. Nome: F.S.F.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 6% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 94%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 99%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 97%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 98%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 92%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 96%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 95%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 96%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 9% Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 88%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 95%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 6% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 93%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 95%

11. Nome: E.R.N.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 97%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0% Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 94%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 7% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 93%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 6% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 94%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 11% Ligada à cauda – 4% Espermatozóides não ligados – 85%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 10% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 88%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 4% Espermatozóides não ligados – 92%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 11% Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 86%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 12% Ligada à cauda – 5% Espermatozóides não ligados – 83%

12. Nome: M.M.C.B.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 97%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 95%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 96%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 97%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 97%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 7% Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 93%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 95%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 96%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 4% Espermatozóides não ligados – 94%

13. Nome: B.J.S.P.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 98%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%

14. Nome: F.A.S.S.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 97%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 97%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 96%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 96%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 97%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 96%

15. Nome: M.M.S.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 99%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 99%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 98%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 98%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 97%

16. Nome: V.P.R

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 97%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 95%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 93%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 94%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 96%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 96%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 97%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 93%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 99%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 95%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 97%

17. Nome: S.A.F.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 1% Espermatozoides não ligados – 97%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 1% Espermatozoides não ligados – 99%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 0 Espermatozoides não ligados – 99%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 1% Espermatozoides não ligados – 98%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 1% Espermatozoides não ligados – 95%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 2% Espermatozoides não ligados – 98%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 3% Espermatozoides não ligados – 97%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 2% Espermatozoides não ligados – 98%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 6% Ligada à cauda – 4% Espermatozoides não ligados – 90%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 3% Espermatozoides não ligados – 96%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 2% Espermatozoides não ligados – 95%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 2% Espermatozoides não ligados – 96%

18. Nome: F.W.A

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 0
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 19% Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 81%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 5% Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 95%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 17% Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 83%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 8% Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 92%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 28% Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 70%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 7% Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 91%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 25% Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 73%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 5% Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 94%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 46% Ligada à peça intermediária – 15% Ligada à cauda – 3% Espermatozóides não ligados – 36%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 7% Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 89%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 25% Ligada à peça intermediária – 12% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 61%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 4% Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 93%

19. Nome: F.H.G.S

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 96%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 99%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 99%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 96%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 94%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 97%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 99%

20. Nome: F.C.R.

AMOSTRA	SORO		SÊMEN	
1 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 0 Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 100%
2 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 54% Ligada à peça intermediária – 4% Ligada à cauda – 2% Espermatozóides não ligados – 40%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 2% Ligada à peça intermediária – 8% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 89%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 19% Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 79%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 8% Ligada à peça intermediária – 0 Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 92%
3 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 42% Ligada à peça intermediária – 8 Ligada à cauda – 12% Espermatozóides não ligados – 38%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 8% Ligada à peça intermediária – 3% Ligada à cauda – 1% Espermatozóides não ligados – 88%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 20% Ligada à peça intermediária – 11% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 69%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 6% Ligada à peça intermediária – 1% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 93%
4 ^a AMOSTRA	Anti IgG	Ligada à cabeça – 46% Ligada à peça intermediária – 9% Ligada à cauda – 15% Espermatozóides não ligados – 30%	Anti IgG	Ligada à cabeça – 10% Ligada à peça intermediária – 5% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 85%
	Anti IgA	Ligada à cabeça – 18% Ligada à peça intermediária – 10% Ligada à cauda – 6% Espermatozóides não ligados – 66%	Anti IgA	Ligada à cabeça – 10% Ligada à peça intermediária – 2% Ligada à cauda – 0 Espermatozóides não ligados – 88%



Universidade Federal do Ceará
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N° 439/03

Fortaleza, 21 de novembro de 2003

Protocolo COMEPE n° 232/03

Pesquisador responsável: Flávio Barbosa Moreira da Rocha

Dept°./Serviço: Hospital Universitário Walter Cantídio/UFC

Título do Projeto: "Perfis dos anticorpos antiespermatóides na infertilidade autoimune pós-vasectomia"

Levamos ao conhecimento de V.S^a. que o Comitê de Ética em Pesquisa e do Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará – COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde, Resolução n°196 de 10 de outubro de 1996 e Resolução n° 251 de 07 de agosto de 1997, publicadas no Diário Oficial, em 16 de outubro de 1996 e 23 de setembro de 1997, respectivamente, aprovou o projeto supracitado na reunião do dia 20 de novembro de 2003.

Atenciosamente,

Mirian Parente Monteiro

Dra. Mirian Parente Monteiro
Coordenadora Adjunta do Comitê
de Ética em Pesquisa
COMEPE/HU WC/UFC