

# Avances en la interacción entre micoplasmas y espermatozoides de humano

Marcela López-Hurtado,\* Fernando M. Guerra-Infante\*

## RESUMEN

El propósito de esta revisión es explorar y analizar los recientes descubrimientos sobre la adherencia y penetración de algunas especies de *Mycoplasmas* y evidenciar el papel de estas bacterias en el desarrollo de la infertilidad masculina. Desde los años 70 algunas especies de *Mycoplasmas* se han considerado como patógenos de células espermáticas, sin embargo varios estudios *in vivo* no han logrado confirmar las alteraciones espermáticas que se han observado en estudios *in vitro*. Los estudios *in vitro* han demostrado que *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma vaginalis* y *Ureaplasma urealyticum* son capaces de adherirse e internalizarse a espermatozoides humanos, aparentemente sin afectar la viabilidad de los mismos. La interacción de estos microorganismos produce una baja proporción de alteraciones morfológicas en las colas y la región media de los espermatozoides infectados, así como una disminución en la movilidad y en la reacción acrosómica. Estos hallazgos sugieren que la adherencia y la internalización son eventos tempranos en el proceso infeccioso, pero que su relación con la falla reproductiva debe de ser estudiada a fondo.

**Palabras clave:** *Mycoplasma*, espermatozoides humanos, adherencia e internalización, alteraciones morfológicas.

## ABSTRACT

The purpose of this revision is to explore and to analyze the recent discoveries on the adherence and penetration of some *Mycoplasma* species and to show the role of these bacteria in the development of the masculine infertility. Since 70' years some *Mycoplasma* species has been considered as pathogens of spermatogenic cells. However, several *in vivo* studies do not have confirmed the changes in the spermatogenic activity, which has been observed in *in vitro* studies. These *in vitro* studies have shown that *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma vaginalis* and *Ureaplasma urealyticum* have the ability to attach and internalize to the human spermatogenic cells seemingly without affecting the viability of the same one. The interaction between human spermatogenic cells and these microorganisms produce small morphological changes of tails and middle region of spermatogenic cells, this interaction provoke the decrease in mobility and in acrosomic reaction too. These findings suggest that attachment and invasiveness are early events during the infectious process, but their association with reproductive failure must be studied extensively.

**Key words:** *Mycoplasma*, human spermatozoa, adherence, invasiveness, morphological alterations.

## INTRODUCCIÓN

Los micoplasmas son parte de la microbiota de la mucosa orofaríngea, respiratoria y genitourinaria, y son considerados como comensales (*Cuadro I*), sin embargo existen evidencias de que algunos de ellos son patógenos y otros aún están en controversia sobre su papel para producir alguna enfermedad.<sup>1,2</sup> De los micoplasmas que han sido aislados de humanos y que

están en duda sobre su capacidad para producir alguna enfermedad son: *M. pirum*, *M. penetrans* y *M. fermentans*. La distribución, hábitat y transmisión de estas bacterias aún es desconocido.<sup>1,2</sup>

Tres especies de *Mycoplasma* han sido implicadas en la capacidad para producir enfermedad en los humanos, éstos son: *M. pneumoniae*, *M. hominis* y *M. genitalium*.<sup>2-5</sup> El género de *Ureaplasma*, el cual también causa enfermedad en humanos,<sup>2,4</sup> se le ha clasifi-

\* Miembros del Sistema Nacional de Investigadores (Nivel I). Laboratorio de Investigación en Bioinmunología Celular del Dpto. de Infectología del Instituto Nacional de Perinatología.

### Correspondencia:

M. en C. Marcela López-Hurtado. Laboratorio de Investigación en Bioinmunología Celular del Instituto Nacional de Perinatología, Montes Urales 800, Col. Lomas de Virreyes, 11000 México, D.F. E-mail: diaclaro2000@yahoo.com.mx

Recibido: 05-11-2007

Aceptado: 28-03-2008

**Cuadro I.** Especies de micoplasmas que colonizan la orofaringe y la cavidad genital.

| Organismo                | Sitio de colonización |
|--------------------------|-----------------------|
| <i>M. orale</i>          | Orofaringeo           |
| <i>M. salivarium</i>     | Orofaringeo           |
| <i>M. buccale</i>        | Orofaringeo           |
| <i>M. faucium</i>        | Orofaringeo           |
| <i>M. lipophilum</i>     | Orofaringeo           |
| <i>M. primatum</i>       | Cavidad genital       |
| <i>M. spermatophilum</i> | Cavidad genital       |
| <i>M. hominis</i>        | Cavidad genital       |
| <i>M. fermentans</i>     | Orofaringeo           |
| <i>U. urealyticum</i>    | Cavidad genital       |
| <i>M. pneumoniae</i>     | Orofaringeo           |
| <i>M. laidlawii</i>      | Orofaringeo           |
| <i>M. genitalium</i>     | Cavidad genital       |
| <i>M. penetrans</i>      | Cavidad genital       |

cado en dos especies, *Ureaplasma urealyticum* y *Ureaplasma parvum*. Antes de 1999 se consideraba una sola especie, *U. urealyticum* que incluía a dos biovarios y 14 serovares, el biovar 1 actualmente es *U. parvum* (serovares 3, 6 y 14) y el biovar 2 es *U. urealyticum* (serovares 2, 4, 5, 7-13).<sup>6</sup> Muchas de las investigaciones publicadas han discutido sobre el papel de ureaplasma en el desarrollo de la infertilidad masculina sin discriminar entre *U. urealyticum* y *U. parvum*, debido a lo anterior en esta revisión sólo se hablará de *U. urealyticum*.

Los micoplasmas *M. hominis*, *M. genitalium* y *U. urealyticum* han sido aislados de la mucosa genitourinaria mientras que *M. pneumoniae* de la mucosa respiratoria.<sup>2,4</sup>

El micoplasma es un organismo procariote de tamaño pequeño (0.2 a 1  $\mu$ m de diámetro) que tiene capacidad autorreplicativa, se distinguen de otras bacterias por la carencia de pared celular, por la utilización del codón UGA para codificar triptófano y por la presencia de esteroides en su membrana plasmática. Los micoplasmas se ubican dentro de la clase *Mollicutes*, orden *Mycoplasmatales*; familia *Mycoplasmataceae* con dos géneros de importancia médica *Mycoplasma* y *Ureaplasma*.<sup>1,3,7</sup>

Posee ADN de doble cadena formado por unos 500,000 pares de bases, enzimas (para la transcripción, replicación y glicólisis en su forma anaerobia) y ATP. Tiene hasta 750 proteínas distintas y ribosomas 70S. Los micoplasmas adoptaron el parasitismo como forma de vida debido a sus mecanismos metabólicos restringidos para su replicación y sobrevivencia, por lo que se han adaptado a sus hospederos a través

de la colonización de las superficies celulares, de la invasión y de la multiplicación intracelular, con el objetivo de adquirir precursores biosintéticos (aminoácidos, nucleótidos, lípidos y esteroides) de los cuales tienen una estricta dependencia.<sup>7-10</sup>

## Micoplasmas urogenitales e infertilidad masculina

La detección de *M. hominis*, *M. genitalium* y *U. urealyticum* en la vagina soporta la hipótesis de que estos microorganismos pueden ser transmitidos sexualmente.<sup>2,11-13</sup> Alternativamente, los espermatozoides han sido considerados como posibles vectores para esparcir bacterias y virus al aparato reproductor femenino tales como: *Chlamydia trachomatis*, *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*, *U. urealyticum*, *M. hominis* y *M. genitalium*, virus del papiloma humano, virus del herpes, citomegalovirus y virus Epstein-Barr.<sup>14</sup> Aunque los micoplasmas han sido implicados como causa de infertilidad masculina, su participación exacta en el desarrollo de esta patología está aún en controversia.<sup>13,15</sup>

Actualmente, en un gran número de clínicas que se dedican al tratamiento de la infertilidad han considerado que la presencia de micoplasmas en el semen de individuos asintomáticos es un hallazgo de poca importancia clínica, ya que estos microorganismos son considerados como comensales, además de que se encuentran colonizando la uretra masculina hasta en un 60% de los individuos con vida sexual activa.<sup>16-18</sup> Sin embargo, otras clínicas de infertilidad consideran que la presencia de estos micoplasmas en el semen se encuentra asociada a la capacidad de los espermatozoides para transportar estas bacterias directamente al endometrio y/o a las trompas de Falopio, donde pueden causar alteraciones reproductivas como enfermedad pélvica inflamatoria, endometriosis, aborto espontáneo, ruptura prematura de membranas y/o parto pretérmino.<sup>15,19</sup>

Diversos estudios han propuesto que no hay correlación entre las alteraciones en los parámetros espermáticos de individuos infértiles con la presencia de micoplasmas en el semen,<sup>15,16,20</sup> mientras que otros han informado de hallazgos que apoyan la asociación entre el aislamiento positivo de *U. urealyticum* y/o *M. hominis* con cambios en los parámetros espermáticos de los varones infectados con tales microorganismos.<sup>12,21-23</sup>

De los primeros estudios *in vivo* que asocian la presencia de micoplasma con alteraciones espermáticas, están los realizados por Fowlkes y col., en

1975<sup>21</sup> quienes reportaron que en el 39% de los varones infértiles estudiados se observaba una asociación entre cultivos seminales positivos para *U. urealyticum* con la disminución de la movilidad, con niveles bajos de la cuenta espermática y con alteraciones morfológicas. Recientemente, Gdoura y col.<sup>23</sup> confirmaron que los varones con infertilidad que presentaban ADN de *M. hominis* en el semen, mostraban niveles bajos de espermatozoides y alteraciones morfológicas. A pesar de lo anterior, los estudios *in vivo* no han logrado demostrar fehacientemente la participación de los micoplasmas en la alteración de los parámetros espermáticos, sin embargo, las investigaciones *in vitro* han logrado demostrar que la interacción entre micoplasmas y espermatozoides provoca cambios en la viabilidad,<sup>24,25</sup> en la morfología, en la movilidad,<sup>22-24</sup> en la capacidad de reacción acrosómica,<sup>24</sup> en la capacidad de penetración a oocitos de hámster sin zona pelúcida<sup>26</sup> y en la integridad del núcleo de las células espermáticas que han estado en contacto con esta bacteria.<sup>25</sup>

### Estudios *in vitro* entre células espermáticas y micoplasmas

Varias investigaciones se han centrado en examinar el efecto de los micoplasmas sobre los cambios morfológicos o funcionales de los espermatozoides humanos.<sup>21,24-27</sup> Uno de los temas más importantes ha sido sobre la capacidad de los micoplasmas para unirse a las células espermáticas, ya que demostrar esto podría explicar, por un lado, la capacidad de las células espermáticas para esparcir a los micoplasmas en el aparato genital femenino, y por otro demostrar la pérdida de la funcionalidad de la célula espermática.

Los primeros estudios que trataron de demostrar el efecto de los micoplasmas sobre los espermatozoides fueron realizados *in vivo*. Fowlkes y col. en 1975,<sup>27</sup> fueron los primeros en describir, mediante microscopia electrónica de barrido, que los individuos con cultivos positivos a *U. urealyticum* presentaban espermatozoides con dos morfologías diferentes a la de los individuos con cultivo negativo a este patógeno, uno de estos cambios fue la presencia de un agrupamiento de partículas en forma de esferas, adheridas a las células, así como enrollamiento de las colas. Estas observaciones fueron posteriormente utilizadas por Toth y col. en 1978,<sup>28</sup> para tratar de identificar mediante microscopia óptica las muestras de semen de individuos con infección por *U. urealyticum*, los resultados obtenidos por estos investigadores mostraron una correlación del 70% entre el cultivo posi-

tivo de *U. urealyticum* y la presencia de enrollamiento de las caudas (*coiled tails*), o del revestimiento granular sobre las caudas (*fuzzy tails*) de la célula espermática. Posteriormente, en 1984, Busolo y col.,<sup>29</sup> confirmaron mediante microscopia electrónica de barrido la presencia de partículas electrodensas de forma esférica (*sphere-shaped particles*) sobre la superficie del cuello de la célula espermática con morfología parecida a micoplasmas, sin embargo, estos hallazgos sólo se observaron en pacientes infectados naturalmente y nunca en espermatozoides infectados experimentalmente. Además, sólo en algunos de los casos, ellos demostraron mediante inmunofluorescencia la presencia de *M. hominis*.

En 1994, Rose y Scout<sup>24</sup> incubaron toda la noche espermatozoides humanos con micoplasmas, obteniendo como resultado una diferencia significativa entre las células espermáticas solas y las incubadas con micoplasmas en cuanto a la movilidad, ya que las infectadas con micoplasma presentaron menor porcentaje de movilidad, así como cambios en los patrones de movilidad.

También se observaron alteraciones morfológicas como el enrollamiento de la cola, disminución de la hiperactivación durante la capacitación y disminución en la proporción de la reacción acrosómica. Esto sugirió que la unión de los micoplasmas al espermatozoide daña la membrana citoplásmica de esta célula, ya que tanto la capacitación como la reacción acrosómica son eventos donde está involucrada la membrana celular del espermatozoide, sin embargo, los mecanismos del daño que produce el micoplasma a la célula espermática aún son desconocidos casi en su totalidad.

Posteriormente, Núñez-Calonge y col.<sup>22</sup> demostraron que los espermatozoides perdían movilidad hasta las 4 h de haber iniciado la incubación con *U. urealyticum*. Sus observaciones por microscopia de barrido confirmaron que los espermatozoides incubados con esta bacteria presentaban las masas granulares en cabeza y cuello con tamaño y forma similar a *U. urealyticum* como lo había descrito anteriormente Busolo y col.<sup>29</sup> Además, una disminución en el porcentaje de la prueba de hinchazón hipoosmótica que valora la funcionalidad de la membrana plasmática fue observada en las células espermáticas infectadas con este micoplasma 2 h después de iniciar la incubación, lo que confirma el daño que producen los micoplasmas a la célula espermática. Fue hasta este siglo, cuando Reichart y col.<sup>25</sup> evidenciaron que *U. urealyticum* se adhiere a las células espermáticas de carnero en un lapso entre 15 y 30 min. Después de 2 h de in-

cubación, el 56% de estas células fueron infectadas por esta bacteria, y el sitio de unión preferente de estos micoplasmas, fue la cabeza, siendo ésta hasta 4 veces mayor (81.5%) que la cola. Los autores no reportaron interacción alguna con el cuello de las células espermáticas. Otro aspecto interesante reportado por estos investigadores fue que a las 2 h de incubación hay un aumento en la descondensación de la cromatina de la célula espermática, lo que sugirió que esta bacteria provoca un daño en la integridad del ADN celular. Recientemente, Fernández y col.<sup>30</sup> determinaron una frecuencia mayor de células espermáticas con ADN fragmentado en muestras de varones infectados con *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma* que los pacientes control, confirmando los resultados *in vitro* de Reichart y col.<sup>25</sup>

Se ha informado que algunas especies de micoplasmas producen peróxido de hidrógeno con actividad hemolítica,<sup>31,32</sup> lo que podría sugerir que los micoplasmas adheridos a los espermatozoides generan radicales libres o especies reactivas de oxígeno (ROS, [reactive oxygen species]) como productos finales de su metabolismo. Se conoce que las ROS inducen la peroxidación de los lípidos de la membrana espermática, lo cual provoca una marcada reducción de la fluidez de la misma, impidiendo la movilidad adecuada del espermatozoide y la reacción acrosómica, en consecuencia se limita su capacidad de fertilización.<sup>22,31,33</sup> Se han determinado los niveles de ROS en semen de pacientes infértiles infectados con *U. urealyticum* los cuales son significativamente más elevados ( $\log[\text{ROS} + 1] = 2.52 \pm 0.25$ ), que en los pacientes infértiles sin infección por micoplasma ( $1.49 \pm 0.20$ ) o en individuos aparentemente sanos ( $1.31 \pm 0.19$ ,  $p=0.002$ ).<sup>33</sup>

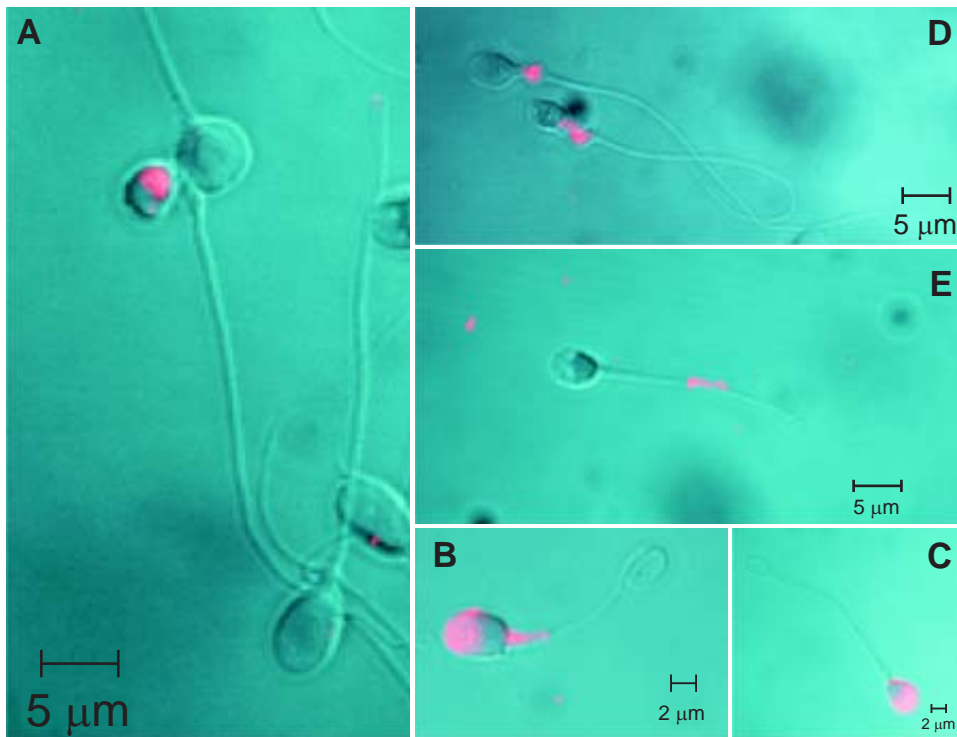
Otro de los micoplasmas estudiados que ha demostrado capacidad para adherirse y causar daño a los espermatozoides es *M. genitalium*,<sup>34</sup> la incubación *in vitro* de esta bacteria con los espermatozoides produce una aglutinación de las células 5 min después de iniciada la incubación, la aglutinación aumenta en cantidad con respecto al tiempo, lo que produce una inmovilización del espermatozoide. Posiblemente esta inmovilización es debida a un daño mecánico producido por la bacteria. Las observaciones mediante microscopia de transmisión de rayos X revelaron que la unión de esta bacteria es a cabeza, cuello y cola, sin embargo la unión preferentemente es a cuello, tal y como sucede con otras bacterias. La interacción entre este micoplasma y los espermatozoides después de 2 h de incubación evidenció que sólo el 30% de dichas células presentaban esta bacteria. El análisis microscópico además demostró que la unión de *M. genitalium*

a los espermatozoides en la mayoría de los casos fue a través de su ampolla o extremo en forma de ampolleta, y que la unión del micoplasma no produjo ningún cambio en la morfología del espermatozoide, excepto la formación de vesículas en el cuello.<sup>34</sup>

Recientemente un trabajo realizado por Díaz-García y col. en 2006,<sup>35</sup> mediante microscopia confocal y tinción directa del *Mycoplasma hominis* con un fluorocromo (DiIC<sub>18</sub>) demostró que esta bacteria era capaz de adherirse a la célula espermática en un lapso de 10 min post-infección en grupos compactos en la cabeza, cuello y cola de la célula. La capacidad de la microscopia confocal permitió la reconstrucción y proyección tridimensional de una serie de cortes ópticos secuenciales de  $1 \mu\text{m}$  ó  $0.9 \mu\text{m}$ , para demostrar que el micoplasma se localizaba en el citoplasma de cabeza y cuello del espermatozoide, lo que podía estar provocando las alteraciones morfológicas anteriormente descritas, como el enrollamiento de la cola o la condensación de la cromatina. En este estudio, los investigadores no sólo observaron el enrollamiento de la cola o el engrosamiento del cuello, sino diferentes grados en el doblamiento de cola o cabeza (Figura 1). Por otro lado, el efecto de los *M. hominis* sobre la viabilidad de los espermatozoides no fue alterada después de 2 h de incubación, y solamente se observó una ligera reducción (20-30%) después de 24 h de incubación; sin embargo, esta disminución fue similar a la de los espermatozoides no infectados, lo que sugirió que micoplasma no tiene un efecto sobre la viabilidad de estas células. Otra observación interesante fue que el porcentaje de unión de *M. hominis* a espermatozoides fue variable en cada uno de los donadores que participaron en esa investigación, así como el sitio de adherencia, lo que sugiere que la unión de los *M. hominis* a los espermatozoides es a receptores que posiblemente se expresan en diferente proporción en cada individuo o depende del estado de maduración que presente la célula espermática.

Aunque las bases moleculares de la interacción entre los micoplasmas y los espermatozoides no se han esclarecido totalmente, se ha sugerido que la adherencia de *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. diversum* y *M. pulmonis* hacia los espermatozoides podría estar mediada por el sulfogalactoglicerolípido (SGG), principal glicolípido sulfatado de la membrana citoplasmática del espermatozoide.<sup>36,37</sup> De hecho, los glicolípidos sulfatados han sido confirmados como las únicas moléculas receptoras para *M. hominis*;<sup>36</sup> más aún, se ha demostrado que *M. pulmonis* (un micoplasma asociado con infertilidad en roedores) posee una arilsul-





**Figura 1.** Cambios morfológicos de los espermatozoides infectados con *Mycoplasma hominis*. Los micoplasmas fueron teñidos con el flurocromo DiIC<sub>18</sub>, la observación se realizó mediante microscopia confocal. **A.** Alteraciones en cabeza. **B y C.** Enroscamiento de cola. **D.** Engrosamiento de cuello y **E.** Infección de la cola. (Fernando M. Guerra-Infante, Alma P. Herrera-Mendoza).

fatasa que degrada completamente el receptor SGG después de su unión al espermatozoide.<sup>36,38</sup>

El SGG se localiza en la cara externa de la membrana plasmática de las células germinales masculinas,<sup>39</sup> y se distribuye asimétricamente a través de todo el espermatozoide, dependiendo del estadio de maduración de esta célula.<sup>40,41</sup> Dado que el SGG está implicado en la interacción del espermatozoide con el oocito,<sup>42</sup> la infección con micoplasmas podría bloquear total o parcialmente el proceso de fertilización. En cuanto a la proteína de los micoplasmas que podría unirse al SGG de los espermatozoides aún no ha sido totalmente elucidada, sin embargo, mediante un modelo *in vitro*, se ha demostrado que las proteínas de choque térmico de 70 kDa (*heat-shock proteins* [HSP70]) de mamíferos, como las HSP70 de *Mycoplasma hypopneumoniae*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Helicobacter pylori*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydia trachomatis* (serovar E) y *Escherichia coli*, comparten especificidad de unión al SGG.<sup>43,44</sup> La proteína HSP70 sobre la superficie del espermatozoide es abundante al igual que en el líquido seminal<sup>45,46</sup> y una alta expresión de ARNm de la HSP70 en testículos de rata y ratón aparece al inicio de la fase haploide de la espermatogénesis y es estable durante los estados morfológicos de la espermatogénesis.<sup>47</sup> La HSP70 es una chaperona molecular

cuya función es la de unir la ciclina B reguladora a la subunidad catalítica Cdc2 para formar el factor promotor de la maduración o metafase (MPF, por sus siglas en inglés, *maturation/M phase promoting factor*) de la espermatogénesis.<sup>48,49</sup>

Otras proteínas que podrían participar en la unión de *Mycoplasma genitalium* a los espermatozoides son las adhesinas denominadas P140 y P110 que se localizan en su organelo de unión o terminal;<sup>50,51</sup> sin embargo, no se han realizado investigaciones sobre si estas proteínas se unen a SGG. Debido a lo anterior se podría especular que la HSP70 de los micoplasmas pudiera participar como ligando del SGG en la superficie del espermatozoide.<sup>31</sup>

Finalmente, se podría concluir que la interacción de los micoplasmas urogenitales con los espermatozoides humanos sí tiene un impacto negativo sobre la fertilidad masculina y que esto ocurre posiblemente en diferentes niveles, por lo que se requiere identificar las moléculas involucradas en la interacción micoplasmas-espermatozoides, lo cual permitiría entender los diferentes mecanismos de daño que le producen al espermatozoide y en consecuencia a la fertilidad masculina y conyugal; además se podrían proponer las medidas de intervención y de prevención contra la infección por estas bacterias.

# REFERENCIAS

1. Forbes BA, Sahm DF, Weisfeld AS, [Eds.] Cell wall-deficient bacteria: Mycoplasma and Ureaplasma. In: *Diagnostic Microbiology*. USA: Mosby Editorial; 1998. p. 766-74.
2. Taylor RD. Infections due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma*: an update. *Clin Infect Dis*. 1996; 23: 671-84.
3. Sánchez-Vargas FM, Gómez-Duarte GM. *Mycoplasma pneumoniae*- an emerging extra-pulmonary pathogen. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14: 105-17.
4. Taylor-Robinson D. The role of Mycoplasmas in pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2007; 21: 425-38.
5. Haggerty CL. Evidence for role of *Mycoplasma genitalium* in pelvic inflammatory disease. *Current Opinion Infect Dis*. 2008; 21: 65-9.
6. Farong K, James G, Zhenfang M, Gordon S, Wang B, Gilbert GL. Phylogenetic analysis of *Ureaplasma urealyticum* - support for establishment of a new species, *Ureaplasma parvum*. *Inter J Syst Bacter*. 1999; 49: 1879-89.
7. Bove JM. Molecular features of *Mollicutes*. *Clin Infect Dis*. 1993; 17(Suppl 1): S10-S31.
8. Razin S, Yoguev D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998; 162: 1094-156.
9. Baseman JB, Tully JG. *Mycoplasmas*: Sophisticated, reemerging and burdened by their notoriety. *Emerg Infect Dis*. 1997; 3: 1-59.
10. Baseman JB, Lange M, Criscimagna NL, Giron JA, Thomas CA. Interplay between mycoplasmas and host target cells. *Microb Pathog*. 1995; 19: 105-16.
11. Jensen JS, Blom J, Lind K. Intracellular location of *Mycoplasma genitalium* in cultured Vero cells as demonstrated by electron microscopy. *Int J Exp Pathol*. 1994; 75: 91-8.
12. Styler M, Shapiro SS. *Mollicutes* (mycoplasma) in infertility. *Fertil Steril*. 1985; 44: 1-11.
13. Lusk MJ, Konecny P. Cervicitis: a review. *Current Opinion Infect Dis*. 2008; 21: 65-9.
14. Bezold G, Politch JA, Kiviat NB, Kuypers JM, Wolff H, Anderson DJ. Prevalence of sexually transmissible pathogens in semen from asymptomatic male infertility patients with and without leukocytospermia. *Fertil Steril*. 2007; 87: 1087-97.
15. Andrade-Rocha FT. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* in men attending for routine semen analysis. Prevalence, incidence by age and clinical settings, influence on sperm characteristics, relationship with the leukocyte count and clinical value. *Urol Int*. 2003; 7: 377-81.
16. Gilbert GL, Weisberg E. Infertility as an infectious disease - epidemiology and prevention. *Bailliere's Clin Obstet Gynaecol*. 1993; 7: 159-81.
17. Cassell GH, Cole BC. *Mycoplasmas* as agents of human disease. *N Engl J Med*. 1981; 304: 80-9.
18. Meseguer MA, Martínez-Ferrer M, De Rafael L. Differential counts of *Ureaplasma urealyticum* in male urological patients. *J Infect Dis*. 1984; 149: 65-9.
19. Karchmer S, Barros JC. *Esterilidad conyugal*. En: PAC GO-1, Libro 6 Ginecología. México: Schering-Intersistemas S.A. de C.V; 1998. p. 7-49.
20. Gdoura R, Kchaou W, Ammar-Keskes L, Chakroun N, Sellemi A, Znazen A, et al. Assessment of *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, and *Mycoplasma genitalium* in semen and first void urine specimens of asymptomatic male partners of infertile couples. *J Androl*. 2008; 29:198-206.
21. Fowlkes DM, Macleod J, O'leary WM. T-mycoplasma and human infertility: correlation of infection with alterations in seminal parameters. *Fertil Steril*. 1975; 26:1212-8.
22. Nuñez CR, Caballero P, Redondo C, Baquero F, Martínez FP, Meseguer MA. *Ureaplasma urealyticum* reduces motility and induces membrane alterations in human spermatozoa. *Hum Reprod*. 1998; 13: 2756-61.
23. Gdoura R, Kchaou W, Chaari C, Znazen A, Keskes L, Rebai T, et al. *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* infections and semen quality of infertile men. *BMC Infect Dis*. 2007; 7: 129-37.
24. Rose BI, Scott BS. Sperm motility, morphology, hyperactivation, and ionophore-induced acrosome reactions after overnight incubation with mycoplasmas. *Fertil Steril*. 1994; 61: 341-8.
25. Reichart M, Kahane I, Bartoov B. *In vivo* and *in vitro* impairment of human and ram sperm nuclear chromatin integrity by sexually transmitted *Ureaplasma urealyticum* infection. *Biol Reprod*. 2000; 63: 1041-8.
26. Busolo F, Zancheta R. The effect of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* on hamster egg *in vitro* penetration by human spermatozoa. *Fertil Steril*. 1985; 43: 110-4.
27. Fowlkes DM, Doohar GB, O'Leary WM. Evidence by scanning electron microscopy for an association between spermatozoa and T-mycoplasma in men of infertile marriage. *Fertil Steril*. 1975; 26: 1203-11.
28. Toth A, Swenson CE, O'leary WM. Light microscopy an aid in predicting *Ureaplasma* infection in human semen. *Fertil Steril*. 1978; 30: 586-91.
29. Busolo F, Zancheta R, Bertolini G. Mycoplasmic localization patterns on spermatozoa from infertile men. *Fertil Steril*. 1984; 42: 412-17.
30. Fernandez JL, Ramos B, Santiso R, Agarwal A, Gosalvez J, Gallegos G. Frequency of sperm cells with fragmented DNA in males infected with *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma* sp, determined with the sperm chromatin dispersion (SCD) test. *Fertil Steril*. 2007; 88 (Suppl1): S5.
31. Miller RA, Britigan BE. Role of oxidants in microbial pathophysiology. *Clin Microbiol Rev*. 1997; 10: 1-18.
32. Kannan TR, Baseman JB. Hemolytic and hemoxidative activities in *Mycoplasma penetrans*. *Infect Immun*. 2000; 68: 6419-22.
33. Potts JM, Sharma R, Pasqualotto F, Nelson D, Hall G, Agarwal A. Association of *Ureaplasma urealyticum* with abnormal reactive oxygen species levels and absence of leukocytospermia. *J Urol*. 2000; 163: 1775-8.
34. Svenstrup HF, Fedder J, Abraham PJ, Birkelund S, Christiansen G. *Mycoplasma genitalium* attaches to human spermatozoa. *Hum Reprod*. 2003; 18: 2103-9.
35. Díaz GFJ, Herrera MAP, Giono CS, Guerra IFM. *Mycoplasma hominis* attaches to and locates intracellularly in human spermatozoa. *Human Reprod*. 2006; 21: 1591-8.
36. Lingwood C, Shramayr S, Quinn P. Male germ cell specific sulfogalacto-glycerolipid is recognized and degraded by mycoplasmas associated with male infertility. *J Cell Physiol*. 1990; 142: 170-6.
37. Olson LD, Gilbert AA. Characteristics of *Mycoplasma hominis* adhesion. *J Bacteriol*. 1993; 175: 3224-7.
38. Lingwood CA, Quinn PA, Wilansky S, Nutikka A, Ruhnke HL, Miller RB. Common sulfoglycerolipid receptor for *Mycoplasmas* involved in animal and human infertility. *Biol Reprod*. 1990; 43: 694-7.

39. Vos JP, López-Cardozo M, Gazella BM. Metabolic and functional aspects of sulfogalactolipids. *Biochim Biophys Acta*. 1994; 1211: 125-49.
40. Lingwood CA. Colocalization of sulfogalactosylalkylglycerol (SGG) and its binding protein during spermatogenesis and sperm maturation. Topology of SGG defines a new testicular germ cell membrane domain. *Biochem Cell Biol*. 1986; 64: 984-93.
41. Weerachatanukul W, Probohd I, Kongmanas K, Tanphai-chitr N, Johnston LJ. Visualizing the localization of sulfoglycolipids in lipid raft domains in model membranes and sperm membrane extracts. *Biochim Biophys Acta*. 2007; 1768: 299-310.
42. Weerachatanukul W, Rattanachaiyanont M, Carmona E, Furimsky A, Mai A, Shoushtarian A, et al. Sulfogalactosylglycerolipid is involved in human gamete interaction. *Mol Reprod Dev*. 2001; 60: 569-78.
43. Boulanger J, Faulds D, Eddy EM, Lingwood CA. Members of the 70 kDa heat shock protein family specifically recognize sulfoglycolipids: Role in gamete recognition and mycoplasma-related infertility. *J Cell Physiol*. 1995; 165: 7-17.
44. Mamelak D, Mylvaganam M, Whetstone H, Hartmann E, Lennarz W, Wyrick PB, et al. HSP 70s contain a specific sulfogalactolipid binding site. Differential aglycone influence on sulfogalactosyl ceramide binding by recombinant prokaryotic and eukaryotic HSP 70 family members. *Biochemistry*. 2001; 40: 3572-82.
45. Bohring C, Krause E, Habermann B, Krause W. Isolation and identification of sperm membrane antigens recognized by antisperm antibodies, and their possible role in immunological infertility disease. *Mol Hum Reprod*. 2001; 7: 113-8.
46. Miller D, Brough S, Al-Harbi O. Characterization and cellular distribution of human spermatozoal heat shock proteins. *Hum Reprod*. 1992; 7: 637-45.
47. Zakeri ZF, Wolgemuth DJ. Developmental-stage-specific expression of the HSP 70 gene family during differentiation of the mammalian male germ line. *Mol Cell Biol*. 1987; 7: 1791-6.
48. Eddy EM. Role of heat shock protein HSP70-2 in spermatogenesis. *Rev Reprod*. 1999; 4: 23-30.
49. Levasseur M, McDougall A. Sperm-induced calcium oscillations at fertilization in ascidians are controlled by cyclin B1-dependent kinase activity. *Development*. 2000; 127: 631-41.
50. Mernaugh GR, Dallo SF, Holt SC, Baseman JB. Properties of adhering and nonadhering populations of *Mycoplasma genitalium*. *Clin Infect Dis*. 1993; 17(Suppl. 1): S69-S78.
51. Burgos R, Pich OQ, Ferrer-Navarro M, Baseman JB, Querol E, Piñol J. *Mycoplasma genitalium* P140 and P110 cytoadhesins are reciprocally stabilized and required for cell adhesion and terminal-organelle development. *J Bacteriol*. 2006; 188: 8627-837.