

Parámetros hormonales y seminales en pacientes con prostatitis crónica

Bioq. Tissera Andrea¹, Bioq. Motrich Ruben², Dra. Maccioni Mariana², Dra. Riera Clelia², Dra. Rivero Virginia², Dr. Olmedo Jose³, Bioq. Molina Rosa³, Bioq. Kaplan Raquel¹

¹ Fundación para el Progreso de la Medicina.

² Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Ciencias Químicas. UNC.

³ Centro de Ginecología, Obstetricia y Reproducción. CIGOR.

Chacabuco 1089 PA. 2 "A" Nueva Córdoba .(5000) Córdoba. Tel/Fax: 0351-4682562 - rmolina@lablar.com

Abstract

Prostatitis is a very common urologic pathology, of difficult treatment, that consists on an inflammation of the prostate. The relationship between this pathology and infertility is controversial.

The objective of this work was to evaluate the gonadal axis, PSA levels, and seminal parameters. 44 patients were studied with chronic prostatitis, that were classified according to their etiology in subgroups (chronic infectious prostatitis, autoimmune, non autoimmune) and 15 healthy controls. The group with chronic autoimmune prostatitis, in relation to the control group, presented significantly diminished values ($p < 0.05$) in: spermatic concentration /ml (55.6×10^6 vs 25.9×10^6), normal morphology WHO and Strict Criteria (21.4% vs 36.1% and 9.0% vs 16.2%) and hypoosmotic test (67.2% vs 80.18%). The hormonal parameters (FSH, LH, Testosterone) fell inside the normal ranges in all the groups. The observed PSA levels were significantly increased in the group with infectious process in comparison to the control group (12.2 ng./ml vs 1.11 ng./ml). We concluded that the seminal parameters are altered in patients with chronic prostatitis and it would be this the first work that observes a clear deterioration of the seminal quality in patient with celular autoimmune anti prostate antigens; keeping in mind that the seminal variations are not attributable to hormonal alterations of the axis HHG.

Resumen

La Prostatitis es una patología urológica muy común, de difícil tratamiento, que consiste en una inflamación de la próstata. La relación entre esta patología e infertilidad es controvertida.

El objetivo del trabajo fue evaluar el eje gonadal, niveles de PSA y parámetros seminales. Se estudiaron 44 pacientes con prostatitis crónica que fueron clasificados según su etiología en subgrupos (Prostatitis crónica infecciosa, autoinmune, no autoinmune) y 15 controles sanos. El grupo con prostatitis crónica autoinmune, en relación al grupo control, presentó valores significativamente disminuidos ($p < 0.05$) de: concentración espermática/ml (55.6×10^6 vs 25.9×10^6), morfología espermática (21.4% vs 36.1%), Criterio estricto (9.0% vs 16.2%) y test hiposmótico (67.2% vs 80.18%). Los parámetros hormonales (FSH, LH, Testosterona) se encontraron dentro de los rangos normales en todos los grupos. Los niveles de PSA se observaron significativamente aumentados en el grupo con proceso infeccioso en relación al grupo control (12.2 ng. /ml vs 1.11ng./ml). Concluimos que los parámetros seminales se encuentran alterados en pacientes con prostatitis crónica y sería éste el primer trabajo que observa un franco deterioro de la calidad seminal en pacientes con respuesta celular autoinmune anti antígenos prostáticos; teniendo en cuenta que las variaciones seminales no son atribuibles a alteraciones hormonales del eje HHG.

Introducción

La prostatitis es una patología urológica muy común y de difícil tratamiento que consiste en una inflamación de la próstata ⁽¹⁾. La National Institutes of Health la clasifica en 4 tipos: Prostatitis aguda bacteriana (Tipo I), Prostatitis crónica bacteriana (Tipo II), Prostatitis crónica no bacteriana (NBP) (Tipo III) y Prostatitis inflamatoria asintomática (Tipo IV). Las prostatitis tipo III se subclasifican en NBP inflamatoria (IIIA) y NBP no inflamatoria (IIIB) ⁽¹⁻²⁾. En el caso de prostatitis tipo I y II la inflamación es debida a una causa infecciosa mientras que en el caso de las prostatitis tipo III no se conocen los agentes etiológicos causales ⁽³⁾. Su diagnóstico se reserva a pacientes con síntomas localizados en la próstata, marcadores inflamatorios en secreciones prostáticas, pero ausencia de microorganismos en este fluido ⁽³⁾. Surgen aquí dos posibilidades en la búsqueda de su etiología: una es que la inflamación presente en secreción prostática se deba a una infección microbiana no detectada y en realidad se trate de una prostatitis tipo II, y la otra es que los marcadores inflamatorios sean debidos a una respuesta autoinmune ⁽³⁾. Un grupo de investigadores avalan con datos experimentales la primera posibilidad ⁽⁴⁾. Ellos detectaron presencia de la bacteria *Chlamydia trachomatis* e Inmunoglobulina A (IgA) contra la misma en el 26 al 30% de los pacientes con prostatitis tipo III. A pesar de la utilización de metodologías más rigurosas en la búsqueda de posibles causas infecciosas no detectadas, en un importante número de casos no se pudo detectar una causa infecciosa para la inflamación observada, por lo que otra posibilidad es que la etiología de estos pacientes sea autoinmune. Una serie de evidencias experimentales apoyan esta segunda posibilidad ⁽⁶⁻⁸⁾. Se han demostrado depósitos de anticuerpos intraprostáticos e infiltración celular en biopsias de próstata y aumento de citoquinas proinflamatorias como Interleuquina 1 (IL-1), Interleuquina 6 (IL-6) y Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) en plasma seminal de pacientes con prostatitis tipo III ⁽⁶⁻⁷⁾. Alexander y col. aportaron una evidencia directa de que algunos hombres con NBP tienen un componente autoinmune que podría contribuir

a la sintomatología observada y demostraron respuesta linfoproliferativa contra plasma seminal en el 30% de los pacientes con NBP ⁽⁸⁾. Recientemente en nuestro grupo de trabajo hemos presentado evidencia que apoya la etiología autoinmune ya que demostramos respuesta celular anti antígenos prostáticos en un importante porcentaje de pacientes con prostatitis crónica no infecciosa ⁽⁹⁾.

Prostatitis e infertilidad son desordenes comunes en hombres y se ha estudiado una posible relación entre ambas alteraciones. Después de tres décadas de investigación la relación entre estas aún no está clara ⁽¹⁰⁻¹¹⁾, sin embargo existen amplias evidencias para avalar una correlación entre prostatitis e infertilidad ⁽¹¹⁾.

La presencia de bacterias, virus, leucocitos, especies oxígeno reactivas, citoquinas, obstrucción y anomalías inmunológicas pueden ser cofactores para el desarrollo de infertilidad en estos pacientes con prostatitis ⁽¹⁰⁾.

El Antígeno Prostático Específico (PSA), es una serina proteasa producida por el epitelio prostático y es utilizado como marcador tumoral ya que niveles elevados están asociados con cáncer prostático. Este incremento también ha sido asociado en procesos infecciosos de la glándula prostática ⁽¹²⁾.

Es conocida la importancia de la regulación del eje hipotálamo hipófiso gonadal (HHG) en la función testicular ya que se ha estudiado la importancia de los andrógenos y gonadotropinas en la espermatogénesis ^(13,14).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el eje HHG, niveles de PSA y parámetros seminales en pacientes que consultaban por sintomatología prostática y que fueron clasificados según su etiología en un trabajo realizado previamente.

Materiales y Métodos

Se estudiaron 44 pacientes (edad promedio: $40,41 \pm 9,37$ entre 20 y 50 años) y 15 controles sanos (edad promedio: $32,18 \pm 6,49$ entre 24 y 45 años). El diagnóstico de prostatitis crónica sintomática se realizó a pacientes que presentaban una historia de dolor pélvico y/o genital por un período

de tres meses o más, asociada a disfunción urinaria y/o sexual y dolor al tacto rectal en la examinación de la próstata.

En un trabajo previo (en publicación), se clasificaron los pacientes en subgrupos de acuerdo al perfil inmunológico e infeccioso. **Grupo I:** 15 pacientes con infección seminal a *Escherichia coli*, *Chlamydia trachomatis* y *Trichomonas*. El resto de los pacientes no mostraron evidencias de un proceso infeccioso y fueron incluidos en el **Grupo II** (n=29). En este grupo se realizaron ensayos de linfoproliferación frente a distintos antígenos prostáticos y se subdividió en: aquellos que presentaban respuesta positiva (**Grupo IIA**) (n=10) de los que no presentaban respuesta linfoproliferativa (**Grupo IIB**) (n=19). Los voluntarios sanos se designaron como **Grupo III** (control, n=15) y ninguno mostraba respuesta autoinmune ni evidencias de infección.

Los parámetros seminales se evaluaron de acuerdo a los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (15). Las muestras de semen fueron obtenidas por masturbación en frasco estéril, luego de una abstinencia sexual previa de 2 a 7 días y remitidas al laboratorio a temperatura corporal dentro de la hora de recolección. A cada muestra se le realizó un examen físico y químico donde se evaluó volumen, viscosidad, turbidez, color, PH, medida de la función prostática a través del dosaje químico de ácido cítrico utilizando la técnica colorimétrica de Chambon (16) y función de las vesículas seminales mediante la valoración de fructosa con el método colorimétrico de Roe modificado (17). Para identificar leucocitos de otras células redondas del semen se empleó la técnica citoquímica de peroxidasas (18). La concentración y movilidad espermática fueron determinadas en cámara de Makler (19) y para la evaluar la viabilidad espermática se utilizó el test de eosina al 0.5% (20).

La morfología espermática se analizó de acuerdo a la O.M.S y al Criterio Estricto (CE) (21). Todas las muestras fueron testeadas para la detección de anticuerpos antiespermatozoides tipo Inmunoglobulina G (IgG) (MarScreen, Bioscreen Inc. USA) e IgA (Inmuno-Sphere, Bioscreen Inc. USA) y se determinó el test hiposmótico para evaluar el estado funcional de la membrana plasmática del espermatozoide (HOS) (22).

Las concentraciones séricas de PSA, LH, y FSH fueron determinadas por quimioluminiscencia (Immulite, Diagnostic Products Corporation, USA), teniendo en cuenta los siguientes rangos de referencia: PSA, hasta 4 ng/ml; LH, 0,5 - 8,0 mUI/ml y FSH, 1,7 - 11,5 mUI/ml. Para medir los niveles de testosterona (T) se utilizó radioinmunoanálisis (Coat-A-Count, Diagnostic Products Corporation, USA) y el rango de referencia fue: 2,8 - 8,8 ng/ml.

Para evaluar los parámetros seminales se utilizó el análisis estadístico Test-t y Test de Fisher para datos apareados y test de Wilcoxon para datos no apareados y a las determinaciones hormonales se aplicó el test no apareado de Kurskal-Wallis. Valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Resultado

En relación a los parámetros seminales observados en la Tabla I, no se encontró diferencias significativas en cuanto al volumen y pH de las muestras en los distintos grupos. En relación a los niveles de ácido cítrico y fructosa (marcador prostático y de vesículas seminales respectivamente), si bien no se observaron diferencias significativas, es interesante destacar que los niveles de fructosa se encontraron disminuidos en el grupo I y IIB, sugiriendo que la función de las vesículas seminales podrían estar también comprometidas en dichos procesos. Además se obtuvieron concentraciones de ácido cítrico disminuidas, aunque no significativamente, en todos los pacientes con prostatitis. Se detectó un aumento estadísticamente significativo ($p < 0.05$), con respecto al grupo control, en el número de células peroxidasa positivas (leucocitos) en los pacientes que cursaban con un proceso infeccioso (Grupo I) y coincidió con la viabilidad espermática reducida en este grupo. La movilidad de los espermatozoides se encontró disminuida en los grupos I y IIA, aunque esta diferencia no fue significativa.

El grupo de pacientes con autoinmunidad (IIA), en relación al grupo control (III), presentaron valores significativamente disminuidos ($p < 0.05$) de: concentración espermática/ml (55.6×10^6 vs 25.9×10^6), morfología espermática según OMS y CE

Variables (media +/- desvío estándar)	Pacientes		Subgrupos	
	Grupo I n = 15	Grupo IIA N = 10	Grupo IIB n = 19	Grupo III n = 15
Plasma seminal pH Volumen (mL)	7,70 +/- 0,13 3,15 +/- 1,67	7,58 +/- 0,15 3,08 +/- 1,35	7,82 +/- 0,36 3,72 +/- 3,01	7,57 +/- 0,14 2,57 +/- 1,01
Marcador Prostático Acido Cítrico (mg%)	386,22 +/- 136,29	324,86 +/- 134,11	377,95 +/- 171,70	434,30 +/- 138,77
Marc.Vesic.Seminal Fructosa (mg%)	239,45 +/- 100,92	322,62 +/- 189,16	279,25 +/- 104,04	345,59 +/- 178,08
Células no esperm Células Peroxidasa (+) (leucocitos x10 ³ /mL)	* 6,26 +/- 12,48	0,50 +/- 0,58	3,08 +/- 8,44	0,93 +/- 0,96
Mortalidad de células espermáticas (%)	* 29,2 +/- 15,5	18,8 +/- 6,9	15,8 +/- 7,8	16,3 +/- 7,7
Motilidad espermática Motilidad (%) Traslativos rápidos (%)	45,75 +/- 26,21 40,66 +/- 26,73	44,00 +/- 17,82 37,00 +/- 16,81	60,26 +/- 19,43 53,97 +/- 19,47	61,92 +/- 12,83 52,54 +/- 14,93

Tabla I: Parámetros seminales en los distintos subgrupos: Pacientes con infección seminal bacteriana (Grupo I), Pacientes que presentaron respuesta positiva a distintos antígenos prostáticos (Grupo IIA), Pacientes con linfoproliferación negativa (Grupo IIB) y Voluntarios sanos sin patología prostática (Grupo III).

* Diferencia estadísticamente significativa entre este grupo con respecto al control $p < 0.05$

(21.4% vs 36.1% y 9.0% vs 16.2%) y HOS (67.2 vs 80.18). En los pacientes del grupo I también se observó una disminución estadísticamente significativa ($p < 0.05$) de las formas normales según OMS con respecto al grupo control (26.38% vs 36.09%) (Figura 1).

Ninguno de los pacientes en estudio presentó anticuerpos de tipo IgG o IgA, excluyendo dicho síndrome autoinmune como posible causa de las anomalías observadas.

Los resultados hormonales se detallan en la Tabla II. Se observaron que los niveles de T, LH y FSH se encuentran dentro de los rangos normales en todos los grupos, demostrando un estado endócrino normal del eje HHG. Los niveles de PSA se encontraron significativamente aumentados en el grupo de pacientes con proceso infeccioso (Grupo I) en relación al grupo control (12.2 vs 1.11

$p < 0.05$ Fig 2), si bien el grupo IIA arroja también valores superiores a 4 ng/ml, no es significativo (Figura 2).

Discusión

La relación entre prostatitis crónica e infertilidad es controvertida ⁽¹¹⁾. Algunos trabajos han asociado prostatitis crónica, principalmente infecciosa, con anomalías en la calidad y función espermática ⁽²³⁾. Sin embargo no existen evidencias que soporten una correlación entre un estado inflamatorio debido a una respuesta autoinmune contra antígenos prostático y calidad seminal. Weidner y col. reportaron que los valores medios de densidad espermática, movilidad y morfología no se encontraban disminuidos en los pacientes con prostatitis crónica no bacteriana, o prostatodinia con respecto al control ⁽²⁴⁾. Luego de 3 décadas de investigación esta

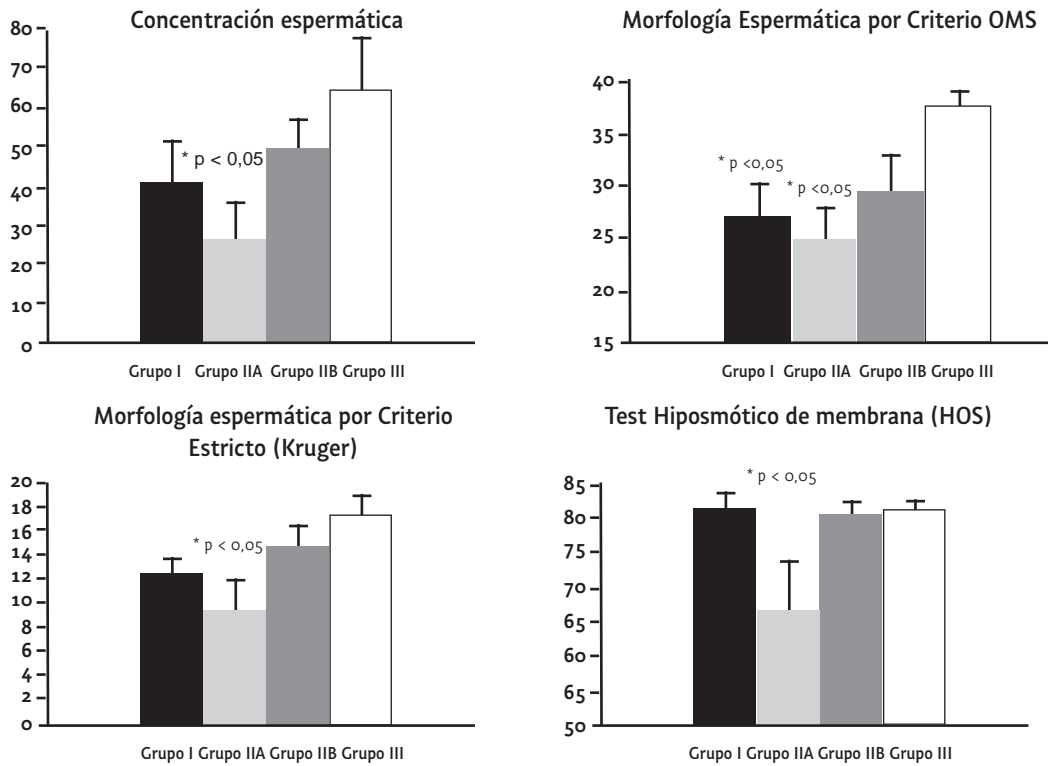


Figura 1: Parámetros seminales afectados por prostatitis crónica en los distintos grupos: Pacientes con infección seminal bacteriana (Grupo I), Pacientes que presentaron respuesta positiva a distintos antígenos prostáticos (Grupo IIA), Pacientes con linfoproliferación negativa (Grupo IIB) y Voluntarios sanos sin patología prostática (Grupo III). * Diferencia estadísticamente significativa entre este grupo con respecto al control $p < 0,05$.

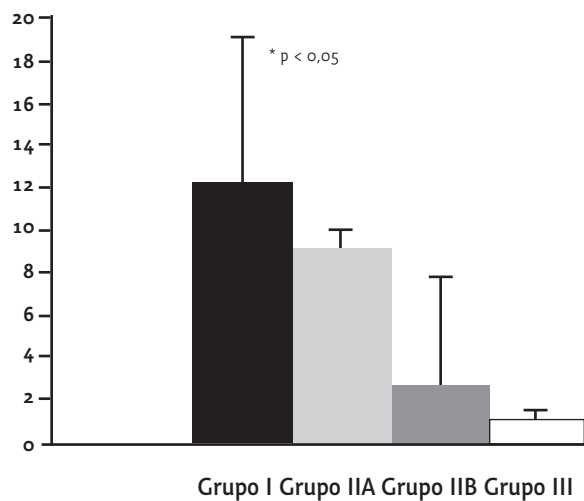


Figura 2: Niveles séricos de PSA en relación a los distintos grupos: Pacientes con infección seminal bacteriana (Grupo I), pacientes que presentaron respuesta positiva a distintos antígenos prostáticos (Grupo IIA), Pacientes con linfoproliferación negativa (Grupo IIB) y Voluntarios sanos sin patología prostática (Grupo III). * Diferencia estadísticamente significativa entre este grupo con respecto al control $p < 0,05$.

Subgrupos	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx	Mediana
Grupo I	FSH	15	5,38	5,41	1,60	17,50	2,90
	LH	15	3,12	1,64	1,20	6,50	2,70
	T	15	4,60	1,54	2,77	8,84	4,53
Grupo IIA	FSH	10	5,68	4,16	3,50	13,10	3,90
	LH	10	3,72	2,90	2,30	8,90	2,50
	T	10	3,79	1,39	1,90	5,66	3,70
Grupo IIB	FSH	19	5,47	5,91	0,87	26,20	3,60
	LH	19	3,02	1,37	1,50	6,20	2,60
	T	19	4,21	1,13	2,75	6,64	3,85
Grupo III	FSH	15	3,46	4,67	0,84	17,30	2,30
	LH	15	2,61	0,89	0,83	4,00	2,40
	T	15	4,49	1,23	2,35	6,36	4,24

FSH: Hormona Folículo Estimulante, LH: Hormona Luteinizante; T: Testosterona

Tabla II: Parámetros hormonales en los distintos grupos: Pacientes con infección seminal bacteriana (Grupo I), Pacientes que presentaron respuesta positiva a distintos antígenos prostáticos (Grupo IIA), Pacientes con linfoproliferación negativa (Grupo IIB) y Voluntarios sanos sin patología prostática (Grupo III).

relación sigue discutida, con resultados controvertidos ⁽¹¹⁾.

En el presente trabajo se observaron anomalías en los parámetros seminales de los pacientes con prostatitis cónica bacteriana y los pacientes que presentaban autoinmunidad celular contra antígenos prostáticos. Numerosos estudios confirman el deterioro seminal en los procesos infecciosos de las glándulas anexas, los cuales se podrían atribuir a la presencia misma de bacterias, virus, leucocitos, sustancias oxígeno reactivas (ROS) y citoquinas deletéreas para la función espermática ^(25, 26, 27).

En contraposición otros autores solo manifiestan una disminución en la licuefacción del semen en los pacientes con prostatitis crónica, no observando ninguna otra alteración de las determinaciones seminales ⁽²⁸⁾.

En nuestro trabajo se encontró un significativo deterioro de algunos parámetros seminales en el grupo de prostatitis autoinmune, no reportado anteriormente por otros autores. Tal vez los mecanismos involucrados estarían relacionados a una disminución de la secreción por parte de la próstata de componentes que participan en la capacidad antioxidante del semen y el balance

de ROS ⁽²⁹⁾, alteración de los mecanismos de apoptosis, liberación de citoquinas que afectan tanto la función espermática como la espermatogénesis ⁽³⁰⁾.

Está demostrada la regulación del eje HHG en la función testicular y su implicancia en la espermatogénesis ^(13,14). Además es bien conocida la relación entre parámetros seminales y perfil hormonal en hombres infértiles ⁽³¹⁾. Por otra parte en muchos pacientes en los que no se ha encontrado un factor etiológico de la falla seminal se han realizado tratamientos hormonales empíricos para mejorar los parámetros seminales ⁽³²⁾. En nuestro trabajo estudiamos el eje HHG para investigar su influencia en los mismos y no se encontró diferencias significativas de los valores hormonales entre los distintos grupos y el control, deduciendo que las alteraciones seminales no se atribuirían a una alteración del eje.

Si bien los niveles hormonales se encontraron dentro del rango de referencia en todos los pacientes con prostatitis, es interesante observar que los valores de FSH, se hallaron ligeramente aumentados, aunque no significativamente con respecto al control. Seth y col, demostraron por primera vez la síntesis de Inhibina B a

nivel prostático⁽³³⁾. Luego, Risbridger y col analizaron el rol de la inhibina producida en glándula prostática y su relación con los procesos neoplásicos⁽³⁴⁾. Aunque la inhibina B es secretada principalmente por las células de Sertoli, la cual regula negativamente la liberación de FSH⁽³⁵⁾, este leve aumento de la gonadotropina en este grupo de pacientes podría deberse a la ausencia de una mínima contribución de inhibina B proveniente de la próstata, debido a que se encontraría comprometida la función de la glándula.

Evidencias clínicas y experimentales soportan la hipótesis que los esteroides gonadales regulan la función inmune. En estudios realizados en modelos experimentales de prostatitis autoinmune la castración tendría un rol protector de la enfermedad autoinmune contra próstata, aunque se sabe que habría otros factores que también estarían involucrados⁽³⁶⁾. A pesar del reducido número de pacientes con autoinmuneidad contra antígenos prostáticos, nosotros encontramos una ligera disminución en los niveles de testosterona, si bien no es significativa, tal vez esta tendencia podría ser una causa que contribuye con el proceso autoinmune. Estudios posteriores con mayor casuística evaluarán si estas disminuciones en los niveles de hormonas masculinas tienen alguna relación con la autoinmuneidad anti antígenos prostáticos observada en estos pacientes.

El PSA está ampliamente aceptado como marcador tumoral útil para el diagnóstico y seguimiento de cáncer de próstata. Sin embargo pacientes con Hiperplasia Benigna Prostática y prostatitis bacteriana puede tener niveles elevados de PSA⁽¹²⁾. En concordancia con lo descrito en la bibliografía, en nuestro trabajo encontramos niveles de PSA > 4 ng/ml en el grupo de pacientes con prostatitis bacteriana pero también en aquellos pacientes que presentaban autoinmuneidad contra antígenos prostáticos. Este aumento de los niveles de PSA reflejaría el grado de inflamación que afecta a la próstata debido a causas infecciosas o autoinmune⁽³⁷⁾.

Conclusión

De acuerdo a los hallazgos obtenidos, concluimos que los parámetros seminales se

encuentran alterados en pacientes con prostatitis crónica de etiología infecciosa y autoinmune. Y que éstas fluctuaciones no son atribuibles a alteraciones hormonales del eje HHG.

Los valores de PSA elevados obtenidos en el grupo de pacientes con infección sustentarían lo demostrado en otros trabajos.

Estos resultados sugieren que tanto una infección prostática como una inflamación debida a una respuesta autoinmune contra antígenos prostáticos pueden comprometer la calidad del semen de estos pacientes y por lo tanto alterar su fertilidad.

Bibliografía

1. Meares EM Jr. Prostatitis. *Med. Clin North Am.* 1991, 75 (2) 405-424
2. Domingue GJ, Hellstrom WJG. Prostatitis. *Cli. Micr Rev.* 1998, p 604-613.
3. Shortlife LM, Sellers RG, Schachter J. The characterization of nonbacterial prostatitis: search for an etiology. *J. Urol.* 1992, 148:1461-1466.
4. Mutlu B, Culha M, Hamsioglu Z, Demirtas M, Gokalp A, Mutlu N. The role of *Chlamydia trachomatis* in patients with non-bacterial prostatitis. *Int. J. Clin. Pract* 1998, 52: 540-41.
5. Ostergaard L. Microbiological aspects of the diagnosis of *Chlamydia trachomatis*. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2002,16:789-99.
6. Doble A, Walker MM, Harris JR, Taylor-Robinson D, Witherow RO. Intraprostatic antibody deposition in chronic abacterial prostatitis. *Br J Urol.* 1990 65(6):598-605.
7. Krieger JN, Berger RE, Ross SO, Rothman I, Muller CH. Seminal fluid findings in men with nonbacterial prostatitis and prostatodynia. *J Androl.* 1996, 17:310-318.
8. Alexander RB, Brady F, Ponniah S. Autoimmune prostatitis: evidence of T cell reactivity with normal prostatic proteins. *Urology.* 1997, 50:893-899.
9. Motrich R, Minuzzi G, Olmedo J, Maccioni M, Molina R, Tissera A, Riera C, Rivero V. Autoinmuneidad como agente etiológico en la prostatitis crónica no bacteriana. *Medicina.* 2002, 62 (5):433. (Resumen).

10. Eveaert K, Mahmoud A, Depuydt C, Maeyaert M and Comhaire F. Chronic prostatitis and male accessory gland infection-is there an impact in male infertility (diagnosis and therapy) ?. *Andrología*. 2003, 35 (5): 325-30.
11. Schoor RA. Prostatitis and male infertility: evidence and links. *Curr.Urol. Rep.* 2002, 3 (4): 324-9
12. Yamamoto M, Hibi H, Miyake K. Prostate-specific antigen levels in acute and chronic bacterial prostatitis. *Hinyokika Kyo*. 1993, 39 (5): 445-9.
13. Yong E.L, Loy C, and Sim K.S. Androgen receptor gene and male infertility. *Human Rep. Update*. 2003, 9, (1): 1-7.
14. Ri Mc Lachlan, NG Wreford, L oDonnell, DM de Kretser and DM Robertson. The endocrine regulation of spermatogenesis independent role for testosterone and FSH. *Journal of Endocrinology* 1996, 1481-9.
15. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction, Cambridge University Press 3 rd. ed. 1999.
16. Chambon, P. *Ann. Pharm. Franc.* 1963, 21-78.
17. Karvonen, M.J. and Malm, M. Colorimetric determination of fructose with idol. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1955, 7: 305-307.
18. Nahoum, C. And Cardozo D. Satining for volumetric count of leukocytes in semen and prostate-vesicular fluid. *Fertility and Sterility*. 1980, 34:68-9.
19. Makler, A. The improved ten microliter chamber for rapid sperm count and motility evaluation. *Fertil. Steril*, 1980, 33: 337-338.
20. Eliasson, R. Supravital staining of human spermatozoa. *Fertil. Steril*, 1977, 28: 1257.
21. Kruger, T.F., Menkveld, R., Stander, F.S.H., et al. Sperm morphologic feature as a prognostic factor in in-vitro fertilization. *Fertil. Steril*. 1986, 46: 1118-1190.
27. Jeyendran, R S, Van der Ven H.H., Perez Pelaez, M and Zaneveld, L.J.D. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1984, 70:219-28.
28. Pasqualotto, F.F., Sharma, R.K., Potts, J.M., Nelson, D.R., Thomas, A.J., and Agarwal, A.. Seminal oxidative stress in patients with chronic prostatitis. *Urology*. 2000, 55:881-885.
29. Weidner W, Jantos C, Schiefer HG, Haidl G, Friedrich HJ. Semen parameters in men with and without proven chronic prostatitis. *Arch. Androl.* 1991, 26(3):173-83.
30. Lieb Z, Bartoov B, Eltes F, Servadio C. Reduced semen quality caused by chronic bacterial prostatitis: an enigma or reality?. *Fertil Steril*. 1994; 61(6):1109-16.
31. Menkveld R, Huwe P, Ludwig M, Weidner W. Morphological sperm alterations in different types of prostatitis. *Andrología*. 2003; 35(5):288-93.
32. Ludwig M, Vidal A, Huwe P, Diemer T, Pabst W, Weidner W. Significance of inflammation on standard semen analysis in chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *Andrología*. 2003, 35(3):152-6.
33. Li HJ, Liu JS, Xing GW, Pan TM, Yang BL, So YX, Huang YF. Prevalence of chronic prostatitis and its effects male infertility. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2004, 84 (5): 369-71.
34. Dohle GR. Inflammatory-associated obstructions of the male reproductive tract. *Andrologia*. 2003, 35(5):321-4.
35. Meroni, B; Schteingart, H; Pellizari, E; Cigorraga, S. Comunicación intercelular en el testículo. *Boletín Informativo de la Sociedad Argentina de Andrología*. 1995, 4 (4): 66-76.
36. Ulher ML, Zinaman MJ, Brown CC, Clegg DE. Relationship between sperm characteristics and hormonal parameters in normal couples. *Fertil Steril*. 2003, 79 (3):1535-42.
37. Peter Y. Liu and David J. Handelsman. The present and future state of hormonal treatment for male infertility. *Human Reprod. Update* 2003, 9: 9-23.
38. Seth AR, Arabatti N, Carlquist M & Jornavall H. Characterization of a polypeptide from human seminal plasma with inhibin (inhibition of FSH secretion)-like activity. 1984 *FEBS letters* 111-15.

39. Risbridger GP. Recent progress in our understanding of inhibin in the prostate gland. *Journal of Endocrinology*. 1998, 157:1-4.
40. Lone Frydelund-Larse, Csilla Krausz, Henrik Leffers, Anna Maria Andersson, Elisabeth Carlsen, Susanne Bangsboell, Ken McElreavey, Niels E. Skakkebaek, and EWA Rajpert-De Meyts. Inhibin B: A marker for the functional state of the seminiferous epithelium in patients with azoospermia factor c microdeletions. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002, 87 (12):5618-5624.
41. Morón G, Belkys M, Ropolo A, Pistoiresi-Palencia. Changes in the development of Experimental Autoimmune Prostatitis (EAP) by castration in aged rats. *Developmental and Comparative Immunology*. 2000, 24:673-682.
42. Yaman O, Gogus C, Tulunay O, Tokatli Z, Ozden E. Increased prostate-specific antigen in subclinical prostatitis: the role of aggressiveness and extension of inflammation. *Urol Int*. 2003, 71 (2):160-4.