LÚCIA AKEMI NUKUMIZU

**Avaliação da função gonadal em homens com
espondilite anquilosante**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de: Ciências Médicas

Área de concentração: Processos Inflamatórios e
Alérgicos

Orientador: Prof. Dr. Clovis Artur Almeida da Silva

São Paulo
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Nukumizu, Lúcia Akemi

Avaliação da função gonadal em homens com espondilite anquilosante / Lúcia Akemi Nukumizu. -- São Paulo, 2012.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências Médicas. Área de concentração: Processos Inflamatórios e Alérgicos.

Orientador: Clovis Artur Almeida da Silva.

Descritores: 1.Espondilite anquilosante 2.Masculino 3.Espermatozóides
4.Varicocele 5.Fertilidade 6.Anticorpo anti-espermatozóide

USP/FM/DBD-024/12

DEDICATÓRIA

À minha família:

Meu pai Shosuke, que com sua firmeza e sabedoria, incentivou-me sempre a me dedicar aos estudos. À ele que sempre acreditou em mim e tem estado ao meu lado me apoiando em todos os momentos da minha vida.

Minha mãe Toshiko, corajosa e determinada, me passou esses valores para a vida. Me fez acreditar que os estudos seria o passo para o sucesso na vida.

Meu irmão Eduardo, e a minha cunhada Dilene, pelo carinho e por estar sempre ao meu lado.

Minha irmã Sônia, que mesmo distante geograficamente, torce por mim e me ampara quando preciso.

Meu filho Matheus, que é a prioridade da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Clovis Artur Almeida da Silva, por ter me orientado e me incentivado em todos os momentos da tese. Por me inspirar sempre e ser um exemplo de dedicação e entusiasmo no exercício da medicina.

À Profa. Dra. Eloísa Bonfá, pelas contribuições e sugestões importantes durante a construção do projeto, além dos ensinamentos valiosos durante a minha participação nas reuniões do CEDMAC.

À Profa. Dra. Monika Ostensen pelas imensuráveis sugestões para a elaboração do artigo.

À Dra Carla Gonçalves Saad, pelas constantes contribuições na execução deste estudo.

Ao Dr. Marcello Cocuzza, pela sua importante contribuição nas avaliações urológicas.

Ao Dr. Osmar Saito, pela valiosa participação na realização dos exames ultrassonográficos.

Ao aluno e amigo Breno Pires de Almeida pelo auxílio inestimável na coleta de dados.

À querida amiga Dra. Ana Júlia Pantoja de Moraes, pela ajuda na organização inicial do projeto.

Às colegas da Unidade de Reumatologia Pediátrica do Instituto da Criança: Dra. Adriana Sallum, Dra. Lúcia Campos, Dra. Nádia Aikawa, Dra. Adriana de Jesus e Dra. Elizabeth Canova, pela amizade e apoio em todos os momentos.

Aos meus eternos amigos Dr. Rogério Tessler e Dra. Andréa Day que me apoiaram e me incentivaram a todo momento na realização desta tese.

Aos pacientes do Ambulatório de Espondiloartropatias do departamento de Reumatologia do HCFMUSP, que possibilitaram a realização deste estudo.

À bibliotecária Mariza Kazue Umetsu Yoshikawa, da Biblioteca do Insituto da Criança, pela amizade e pelo pronto atendimento às solicitações dos artigos.

Ao Nivaldo Rocha, pelo carinho, pela sua alegria e pela ajuda na confecção da tese.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de tabelas

Resumo

Summary

1	Introdução.....	1
2	Objetivos.....	4
3	Pacientes e Métodos.....	6
3.1	Pacientes com EA e controles.....	7
3.2	Dados demográficos.....	8
3.3	Avaliação urológica.....	8
3.4	Ultrassonografia testicular com döppler.....	8
3.5	Análise dos espermatozóides.....	9
3.6	Anticorpos anti-espermatozóides.....	10
3.7	Perfil hormonal.....	10
3.8	Pacientes com EA: avaliações clínica, laboratorial e tratamento	11
3.9	Análise estatística.....	11
4	Resultados.....	13
4.1	Pacientes com EA versus controle.....	14

4.2	Pacientes com EA com e sem varicocele radiológica.....	18
5	Discussão.....	21
6	Conclusões.....	26
7	Referências.....	28
8	Anexos.....	35

LISTAS

ABREVIATURAS

EA	Espondilite anquilosante
AINHs	Antiinflamatórios não hormonais
DMARDs	Drogas anti-reumáticas modificadoras da doença
OMS	Organização Mundial da Saúde
FSH	Hormônio folículo estimulante
LH	Hormônio luteinizante
T3	Triiodotironina
T4	Tetraiodotironina
PCR	Proteína C Reativa
VHS	Velocidade de Hemossedimentação
BASFI	Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index
BASDAI	Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index
ASQoL	Ankylosing Spondylitis Quality of Life Questionnaire
BASMI	Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index
BASRI	Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index

TABELAS

- Tabela 1** – Dados demográficos, antropometria peniana, volume testicular e varicocele em pacientes com espondilite anquilosante e controles saudáveis..... 16
- Tabela 2** – Avaliação dos espermatozóides, anticorpos anti-espermatozóides e avaliação hormonal em pacientes com espondilite anquilosante e controles saudáveis..... 17
- Tabela 3** – Dados demográficos, antropometria peniana, volume testicular, plexo venoso pampiniforme, avaliação dos espermatozóides e avaliação hormonal em pacientes com espondilite anquilosante com e sem varicocele radiológica..... 19
- Tabela 4** – Achados clínicos e laboratoriais, escores da espondilite anquilosante em pacientes com e sem varicocele radiológica..... 20

RESUMO

Nukumizu LA. *Avaliação da função gonadal em homens com Espondilite Anquilosante* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2012.

Objetivo: Avaliar a função testicular em pacientes do sexo masculino com espondilite anquilosante (EA). **Métodos:** Vinte pacientes com EA e vinte e quatro adultos masculinos saudáveis foram avaliados quanto às características demográficas, exame urológico, ultrassonografia testicular, avaliações dos espermatozóides, anticorpo anti-espermatozóide e perfil hormonal. Critérios de seleção foram: período de pelo menos 3 meses sem o uso de sulfasalazina e metotrexato e nunca terem usado agentes biológicos ou imunossupressores. As avaliações da EA incluíram investigações clínica e laboratorial. **Resultados:** A mediana da idade atual foi similar no grupo controle e EA ($p=0,175$). A frequência de varicocele foi significativamente maior nos pacientes com EA em comparação com os controles (40% vs 8%, $p=0,027$). A mediana das formas normais de espermatozóides foi similar em pacientes com EA versus controles [17,25 (2-32,5) vs. 22,5 (1,5-45)%, $p=0,215$], assim como os outros parâmetros dos espermatozóides ($p>0,05$). Em contraste, a mediana das formas normais de espermatozóides foi significativamente menor em pacientes com EA com varicocele versus aqueles sem varicocele [13,5 (2-27) vs. 22 (10-32,5)%, $p=0,049$]. Reforçando esse achado, não foi observada nenhuma diferença nesse parâmetro comparando pacientes com EA e controles sem varicocele ($p=0,670$). Além disso, outros fatores relevantes para a disfunção testicular (anticorpo anti-espermatozóide, hormônios, marcadores inflamatórios e escores da EA) foram comparáveis em pacientes com e sem varicocele ($p>0,05$). **Conclusão:** Nós identificamos uma frequência alta de varicocele em pacientes com EA associada a anormalidades espermáticas, contudo sem associação com tratamento, anticorpos anti-espermatozóides, alterações hormonais ou parâmetros da doença. A exclusão desses fatores sugere que a varicocele pode ser a responsável pela disfunção testicular em

pacientes com EA e não o processo da doença ou a autoimunidade. Investigação da varicocele deve ser sempre realizada em pacientes com EA e problemas de fertilidade.

Descritores: 1. Espondilite anquilosante, 2. masculino, 3. espermatozóide, 4. varicocele, 5. fertilidade, 6. anticorpo anti-espermatozóide.

SUMMARY

Nukumizu LA. *Gonadal function in male patients with Ankylosing Spondylitis* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2012.

Objective: To assess reproductive function in male ankylosing spondylitis (AS) patients in comparison to healthy controls. **Methods:** 20 AS patients were compared to 24 male healthy subjects in regard to demographic data, urologic examination, testicular ultrasound (US), semen analysis, anti-sperm antibodies and hormone profile. Exclusion criteria were present use of sulfasalazine or methotrexate, and ever use of biological/cytotoxic agents. Disease activity of AS was evaluated by clinical and laboratory assessments. **Results:** Demographic data were similar in AS and controls ($p=0.175$). Varicocele was significantly more frequently found in AS patients than in controls (40% vs. 8%, $p=0.027$). Semen analysis revealed no significant differences in sperm quality between AS patients and controls ($p>0.05$). In contrast, the median of normal sperm forms was significantly lower in AS patients with *versus* those without varicocele [13.5 (2-27) vs. 22 (10-32.5) %, $p=0.049$] whereas no difference in sperm morphology was observed comparing AS patients and controls without varicocele ($p=0.670$). Comparison of AS patients with and without varicocele showed that anti-sperm antibodies, hormones, inflammatory markers and disease activity scores did not contribute to the impaired sperm morphology observed in AS patients with varicocele. **Conclusion:** An increased frequency of varicocele was found in AS patients associated with sperm abnormalities, but independent of therapy, anti-sperm antibodies, hormonal alterations or disease parameters. The exclusion of these factors suggests that varicocele may underlie testicular dysfunction in AS patients and not the disease process or autoimmunity. Investigation for varicocele should be done in AS patients with fertility problems.

Keywords: 1. ankylosing spondylitis, 2. male, 3. sperm, 4. varicocele, 5. fertility, 6. anti-sperm antibodies.

1 INTRODUÇÃO

Espondilite Aquilosa (EA) é uma doença inflamatória crônica que afeta predominantemente pacientes do sexo masculino¹. EA inicia comumente na segunda ou terceira década de vida e afeta freqüentemente duas vezes mais homens do que mulheres. Isso implica que pacientes do sexo masculino sofrem durante o seu período fértil de uma doença crônica que afeta a coluna, tendões, articulações periféricas e algumas vezes órgãos internos. Inflamação nas articulações e nas ênteses causa dor, rigidez e perda de função. EA pode induzir a uma incapacidade significativa no trabalho e um prejuízo na qualidade de vida. A sexualidade e a habilidade para procriação são fatores essenciais que contribuem para a qualidade de vida satisfatória². As questões relacionadas à função sexual e à saúde gonadal são, portanto, importantes para pacientes com doença crônica, e devem ser discutidas. Ambos os pacientes, adultos e adolescentes, com doenças reumáticas crônicas têm freqüentes questionamentos relacionados à saúde reprodutiva³⁻¹⁰.

Uma preocupação relacionada à reprodução é o possível efeito deletério do processo inflamatório da doença na função endócrina ou na espermatogênese, o que pode interferir na fertilidade. A outra preocupação é o efeito da terapia medicamentosa sobre a função gonadal. Anormalidades seminais têm sido descritas em EA e outras espondiloartropatias que estão sob a terapia de drogas anti-reumáticas modificadoras da doença (DMARDs) como a sulfasalazina, metotrexato¹⁰⁻¹² e inibidores TNF¹³. Efeitos adversos medicamentosos somente podem ser avaliados corretamente quando a interferência adversa sobre a função gonadal da doença de base for

excluída, e vice-versa, a avaliação da influência do processo patológico da doença sobre a função gonadal requer um intervalo livre de drogas de pelo menos três meses para DMARDs. Há informações escassas na literatura a respeito de disfunção gonadal em pacientes com EA e a interpretação de seus achados é prejudicada por falta de controles¹⁴, ou por estar focada estritamente em alterações genitais¹⁵, ou por estar em uso concomitante de drogas que podem afetar a função gonadal¹³ ou por ter apenas avaliação do perfil hormonal^{16,17}. O estudo da função gonadal requer um exame urológico completo no intuito de minimizar alterações do sêmen devido à idade^{3,10}, anormalidades genitais¹⁸, disfunção eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, anticorpos anti-espermatozóides^{19,20} ou devido à droga terapêutica^{10,21}.

2 OBJETIVOS

1. Avaliar a função gonadal global em pacientes do sexo masculino com EA e grupo controle.
 2. Avaliar possíveis associações de varicocele em pacientes com EA e: dados demográficos, exame urológico, alterações dos espermatozóides, alterações hormonais e parâmetros clínico-laboratorial da doença.
-

3 *PACIENTES E MÉTODOS*

3.1 – Pacientes com EA e controles

Vinte pacientes do sexo masculino com EA e idade entre 17 e 53 anos regularmente acompanhados no ambulatório de Espondiloartropatias do Departamento de Reumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo foram selecionados para esse estudo entre setembro de 2008 e fevereiro de 2010. Todos os pacientes preencheram os critérios de classificação modificado de New York para o diagnóstico de EA²². Critérios de inclusão foram: nunca terem sido tratados com agentes biológicos, imunossupressores e estarem há pelo menos 3 meses sem o uso de metotrexato ou sulfasalazina e sem restrição para o uso de anti-inflamatórios não hormonais (AINHs) e/ou dose baixa de prednisona ($\leq 10\text{mg/dia}$). O grupo controle incluiu 24 adultos saudáveis seguidos no Departamento de Urologia do mesmo Hospital Universitário.

Critérios de exclusão foram: hidrocele, hipospádia, criptorquidia, infecção testicular, câncer testicular, orquite, vasculite testicular, lesão ureteral, histórico de cirurgia testicular ou inguinal (varicocelectomia, vasectomia ou herniorrafia), diabetes mellitus, história atual de alcoolismo ou tabagismo, uso prévio de agentes alquilantes, uso atual de DMARDs e recusa na coleta da amostra de sêmen ou avaliação incompleta. A Comissão de Pesquisa e Ética local aprovou o estudo e o termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido de todos os participantes e quando necessário de seus respectivos pais ou responsáveis.

3.2 – Dados demográficos

A idade atual e a idade da espermarca foram obtidas dos pacientes com EA e controles, assim como a idade de início da doença e a duração da doença em pacientes com EA.

3.3 – Avaliação urológica

Exame clínico sistemático da genitália foi executado nos pacientes e controles, “cego” de outros parâmetros da função gonadal pelo mesmo urologista e incluía: avaliação dos testículos, epidídimo, vasos deferentes, escroto e pênis²³⁻²⁵. Testículos foram examinados em uma sala com temperatura superior a 22°C, em ambas as posições deitada e ereta, com e sem a manobra de Valsalva. Varicocele foi classificada de acordo com o seguinte critério: grau I (pequena) palpável apenas com concomitante manobra de Valsalva, grau II (média) palpável com paciente em posição ereta e grau III (grande) visível através da pele escrotal, com paciente ereto²⁶.

3.4 – Ultrassonografia testicular com Döppler

Ultrassonografia foi realizada em todos os pacientes e controles por um experiente ultrassonografista utilizando sonda de 14-MHz (Logic 9;

GE, Milwaukee, WI, USA), o qual desconhecia os outros parâmetros da função gonadal. Os testículos foram medidos nos planos axial e longitudinal e pelo menos duas medidas do comprimento, largura e espessura foram obtidas e usadas para calcular o volume³. O valor normal do volume testicular em adolescentes pós-púperes e adultos é de $15 \pm 8 \text{ ml}^{27}$. A avaliação da varicocele radiológica e a medida do plexo venoso pampiniforme foram também realizadas em ambos os testículos³.

3.5 – Análise dos espermatozóides

A análise dos espermatozóides foi realizada de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS)^{9,28} por duas biomédicas, que desconheciam os outros parâmetros da função gonadal. Todos os pacientes e controles foram convidados a prover duas amostras de sêmen, coletadas por auto-masturbação em uma sala de coleta do laboratório e processadas dentro de uma hora de liquefação, com intervalos da coleta de 15-30 dias após 48-72 horas de abstinência sexual. As amostras do sêmen foram avaliadas levando em conta a concentração, a motilidade e a morfologia dos espermatozóides. A média das duas amostras foram obtidas. O paciente foi considerado ser oligozoospermico quando uma concentração de espermatozóide < 20 milhões/ml foi encontrada no ejaculado. Astenozoospermia foi definida como motilidade dos espermatozóides (“a” + “b” + “c”) menor que 50% ou menor que 25% em motilidade progressiva (“a” + “b”) avaliada dentro de 60 minutos da ejaculação. Teratozoospermia foi

definida como morfologia normal dos espermatozóides em menos de 15% pelo critério da OMS^{8,28}.

3.6 – Anticorpos anti-espermatozóides

A determinação dos anticorpos anti-espermatozóides foi realizada na primeira amostra de sêmen dos pacientes e controles. Esses anticorpos podem estar associados a lesão tecidual direta na superfície dos espermatozóides, induzindo a anormalidades espermáticas e infertilidade²⁰. Estes parâmetros foram determinados por teste direto com *Immunobead* utilizando kits de imunoglobulina de coelho anti-humana *Immunobead*^R (IgA, IgG e IgM) (Irvine Scientific, Santa Ana, CA). O teste direto de ligação com *Immunobead* detectará anticorpos que se ligam à superfície celular do espermatozóide (cabeça, peça intermediária e/ou cauda do espermatozóide). No mínimo 50% dos espermatozóides móveis (“a” + “b” + “c”) deverão estar ligados com os *Immunobeads* para que o teste seja considerado de importância clínica²⁸.

3.7 – Perfil hormonal

Determinações hormonais foram realizadas no início do estudo em pacientes e controles para avaliar a integridade do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas, cego para outros parâmetros da função gonadal. Resultados anormais foram repetidos para confirmação. Hormônio folículo estimulante

(FSH), hormônio luteinizante (LH), prolactina, testosterona total, triiodotironina (T3), tetraiodotironina (T4), T4 livre e hormônio estimulante da tireóide (TSH) foram determinados por fluoroimunoensaio utilizando kits DELPHIA^R (WALLAC Ou, Turku, Finland). Coeficientes de variação intra e inter-ensaio foram limitados a 3,5 e 2,1%, respectivamente. Os valores normais foram: FSH (1-10,5 UI/l), LH (1-8,4 UI/l), prolactina (2-10 ng/mL), testosterona total (271-965 ng/dL), T3 (70-200 ng/dL), T4 (4,5-12 µg/dL), T4 livre (0,7-1,5 ng/dL) e TSH (0,4-4,5 µU/mL).

3.8 – Pacientes com EA: avaliações clínica, laboratorial e tratamento

Dados clínicos, laboratoriais e terapêuticos foram avaliados no início do estudo. *Bath Ankylosing Spondylitis Disease Functional Index* (BASFI)²⁹ e *Bath AS Disease Activity Index* (BASDAI)³⁰ foram utilizados para medir o estado funcional e a atividade da doença, respectivamente. *AS Quality of Life Questionnaire* (ASQoL)³¹, *Bath AS Metrology Index* (BASMI)³² e *Bath AS Radiology Index* (BASRI)³³ foram também analisados. A distância intermaleolar foi usada para definir o envolvimento do quadril³². Os seguintes exames laboratoriais foram determinados: velocidade de hemossedimentação (VHS) através do método de Westergreen e proteína C reativa (PCR) pela técnica de nefelometria.

3.9 – Análise Estatística

Os resultados foram apresentados como mediana (variação) para variáveis contínuas e número (%) para variáveis categóricas. As variáveis foram comparadas pelos testes t-Student ou Mann-Whitney para variáveis contínuas para avaliar as diferenças entre pacientes com EA e controles, e entre pacientes com EA com e sem varicocele radiológica. Para variáveis categóricas as diferenças foram avaliadas pelo teste exato de Fisher. O nível de significância foi fixado em 5% em todos os testes estatísticos ($p < 0,05$).

4 RESULTADOS

Pacientes com EA versus controles

Não houve diferença significativa entre pacientes com EA e controles com relação: idade atual, idade da espermarca, antropometria peniana ou volume testicular (Tabela 1).

As frequências da varicocele pela avaliação urológica e ultrassonografia testicular foram significativamente maiores em pacientes com EA comparadas com os controles (30% vs. 4%, $p=0,035$; 40% vs. 8%, $p=0,027$; respectivamente). Pelo exame urológico, varicocele foi observada em 6 pacientes com EA e em um controle saudável: grau I (um paciente e um controle), grau II (quatro pacientes) e grau III (um paciente). Varicocele à esquerda pelo exame urológico e ultrassonografia testicular foram também significativamente maiores em pacientes com EA *versus* controles (Tabela 1). A mediana do diâmetro do plexo venoso pampiniforme no testículo esquerdo foi significativamente maior em pacientes com EA comparados com os controles [0,25 (0,16-0,49) vs. 0,2 (0,2-0,24) mm, $p=0,009$] (Tabela 1).

Análise dos espermatozóides, anticorpos anti-espermatozóides e perfil hormonal em pacientes com EA e controles saudáveis estão demonstrados na Tabela 2. A mediana da abstinência sexual, volume e pH do sêmen, concentração de espermatozóides, contagem total de espermatozóides, contagem total de espermatozóides móveis, motilidade dos espermatozóides, morfologia dos espermatozóides e anticorpo anti-espermatozóide foram similares em pacientes com EA *versus* controles. Nenhuma diferença foi evidenciada nas medianas do

FSH, LH, prolactina e níveis de testosterona total da manhã em dois grupos ($p>0,05$; Tabela 2). Todos os pacientes com EA e controles tiveram níveis normais dos hormônios tireoidianos.

Tabela 1 – Dados demográficos, antropometria peniana, volume testicular e varicocele em pacientes com espondilite anquilosante (EA) e controles saudáveis

Variáveis	EA (n=20)	Controles (n=24)	p
Dados demográficos			
Idade atual, anos	33 (17-53)	28,5 (15-54)	0,175
Idade da espermarca, anos	13 (9-18)	12 (11-15)	0,358
Antropometria Peniana, cm			
Comprimento	10 (6,5-12)	10 (8-13)	0,480
Circunferência	9,0 (8-10)	10 (7-11)	0,075
Volume Testicular por US, ml			
Testículo direito	13,15 (5,7-22,6)	12,5 (7,1-20,6)	0,839
Testículo esquerdo	12,8 (4,7-19,7)	11,95 (6-21,2)	0,917
Varicocele			
Avaliação urológica	6 (30)	1 (4)	0,035
Testículo esquerdo	6 (30)	1 (4)	0,035
Bilateral	0	0	1,0
Por ultrassonografia	8 (40)	2 (8)	0,027
Testículo esquerdo	6 (30)	1 (4)	0,035
Bilateral	2 (10)	1 (4)	0,583

Valores expressos em mediana (intervalo) ou n (%), n-número de pacientes e controles, US- ultrassonografia testicular

Tabela 2 – avaliação dos espermatozóides, anticorpo anti-espermatozóides e avaliação hormonal em pacientes com espondilite anquilosante (EA) e controles saudáveis.

Variáveis	Valor de Referência	EAE (n=20)	Controles (n=24)	p
Avaliação dos espermatozóides				
Concentração de espermatozóides, X 10 ⁶ /ml	≥ 20	91,75 (11,6-252,2)	71,3 (22-329)	0,786
Oligozoospermia		2 (10)	0 (0)	0,201
Contagem total de espermatozóides, X 10 ⁶	≥ 40	231,45 (37,1-1261,2)	219,4 (41,3-1176)	0,579
Motilidade dos espermatozóides, % *	≥ 50	66 (40-85)	69,5 (53-82)	0,662
Asthenozoospermia		2 (10)	0 (0)	0,201
Forma normal de espermatozóides, %	≥ 15	17,25 (2-32,5)	22,5 (1,5-45)	0,215
Teratozoospermia		9 (45)	7 (28)	0,352
Anticorpo Anti-espermatozóides, %	> 50	0/18 (0)	0/24 (0)	1,0
Avaliação hormonal				
FSH, IU/l	1-10,5	3,45 (1,4-10,7)	3,65 (1,8-5,8)	0,795
LH, IU/l	1-8,4	3,65 (1,2-7,4)	3,35 (1-9,9)	0,604
Prolactin, ng/mL	2-10	4,9 (1,9-10,7)	6,15 (2,7-17,5)	0,117
Testosterone total matutina, ng/dL	271-965	473 (167-688)	521,5 (230-1078)	0,248

Valores expressos em mediana (intervalo) ou n (%), n – numero de pacientes e controles, FSH – hormônio folículo estimulante, LH - hormônio luteinizante * valor de referência da motilidade dos espermatozóides - 50% ou mais móveis (grau “a” + “b” + “c”) ou 25% ou mais com motilidade progressiva grau (“a” + “b”) (critério da Organização Mundial da Saúde) ⁽³⁰⁾.

Pacientes com EA com ou sem varicocele radiológica

Dados demográficos, exame urológico, parâmetros da análise dos espermatozoides e avaliação hormonal estão na Tabela 3. A mediana do diâmetro do plexo venoso pampiniforme foi significativamente maior em pacientes com EA com varicocele radiológica comparada com aqueles sem essa alteração tanto à direita quanto à esquerda [0,22 (0,16-0,33) vs. 0,175 (0,15-0,23) mm, $p=0,027$; 0,33 (0,26-0,49) vs. 0,19 (0,16-0,25) mm, $p=0,0002$; respectivamente].

A mediana da porcentagem de formas normais de espermatozoides pela OMS foi significativamente menor em pacientes com EA com varicocele *versus* sem varicocele [13,5 (2-27) vs 22 (10-32,5)%], $p=0,049$ (Tabela 3). Em contraste, a proporção de formas normais de espermatozoides foi semelhante em pacientes com EA sem varicocele radiológica *versus* controle sem varicocele radiológica [22 (10-32,5) vs 22,5 (10-45)%, $p=0,670$]. Nenhum dos nossos pacientes apresentava varizes em outras áreas do corpo ou referiu ter tido empregos que utilizassem a força braçal.

Achados clínicos e laboratoriais, escores da EA em pacientes com e sem varicocele radiológica estão mostrados na Tabela 4. A mediana do número de artrite periférica, presença de envolvimento do quadril, níveis de PCR/VHS e avaliação clínica dos escores BASDAI, BASFI, BASMI, ASQoL e BASRI foram também similares em pacientes com EA com ou sem varicocele radiológica ($p>0,05$). Assim como, as medianas dos hormônios LH, prolactina e testosterona total foram iguais nos dois grupos.

Tabela 3 – Dados demográficos, antropometria peniana, volume testicular, plexo venoso pampiniforme venoso pampiniforme, avaliações dos espermatozóides e avaliação hormonal em pacientes com espondilite anquilosante (EA) com e sem varicocele radiológica.

Variáveis	Valor de Referência	com varicocele (n=8)	sem varicocele (n=12)	p
Dados demográficos				
Idade atual, anos		31,5 (23-44)	34 (17-53)	0,353
Início da doença, anos		20 (13-26)	17 (9-33)	0,969
Duração da doença, anos		11,5 (3-30)	16,5 (4-33)	0,785
Idade da espermarca, anos		13 (12-15)	13 (9-18)	0,817
Antropometria peniana, cm				
Comprimento		9,75 (9-11,5)	10 (6,5-12)	0,785
Circunferência		9,25 (8,5-10)	9 (8-10)	0,285
Volume Testicular por US, ml				
Direito		13,35 (10,5-17,3)	13,5 (5,7-22,6)	0,562
Diminuído	< 7	0 (0)	1 (8)	1,0
Esquerdo		13,15 (8,7-17,1)	12,25 (4,7-19,7)	0,782
Diminuído	< 7	0 (0)	2 (17)	0,495
Plexo venoso Pampiniforme, mm				
Direito		0,22 (0,16-0,33)	0,175 (0,15-0,23)	0,027
Esquerdo		0,33 (0,26-0,49)	0,19 (0,16-0,25)	0,0002
Avaliações dos espermatozóides				
Concentração de espermatozóides, X 10 ⁶ /ml	≥ 20	66,25 (11,6-109,7)	112,93 (13,1-252,2)	0,075
Oligozoospermia		1 (12,5)	1 (8)	1,0
Contagem total de espermatozóides, 10 ⁶	≥ 40	280,3 (37,1-780)	153,75 (42,35-1261,2)	0,734
Motilidade dos espermatozóides % *	≥ 50	67,5 (51-85)	66 (40-82,5)	0,662
Astenozoospermia		0 (0)	2 (17)	0,494
Formas normais de espermatozóides, %	≥ 15	13,5 (2-27)	22 (10-32,5)	0,049
Teratozoospermia		5 (63)	4 (33)	0,361
Avaliação Hormonal				
FSH, IU/l	1-10,5	3,3 (1,4-6,0)	3,5 (2,1-10,7)	0,343
Níveis elevados		0	1 (8)	1,0
LH, IU/l	1-8,4	3,15 (2,3-4,7)	4,65 (1,2-7,4)	0,384
Prolactina, ng/mL	2-10	5,55 (1,9-10,7)	4,35 (2,3-8,4)	0,343
Níveis elevados		1 (12,5)	0	0,4
Testosterone matutina total, ng/dl	271-965	540 (226-688)	387,5 (167-656)	0,521
Níveis baixos		1 (12,5)	0	0,4

Valores expressos em mediana (intervalo) ou n (%), n – número de pacientes e controles, US – ultrassonografia testicular, FSH – hormônio folículo estimulante, LH – hormônio luteinizante * valores de referência para motilidade dos espermatozóides – 50% ou mais móveis (grau “a” + “b” + “c”) ou 25% ou mais com motilidade progressiva (grau “a” + “b”) (critério da Organização Mundial da Saúde) ³⁰.

Tabela 4 – Achados clínicos e laboratoriais, escores da espondilite anquilosante (EA) em pacientes com e sem varicocele radiológica.

Variáveis	Intervalo	com varicocele (n=8)	sem varicocele (n=12)	p
Achados clínicos				
Artrite periférica, número		5 (62)	8 (67)	1,0
Distância intermaleolar, cm		100 (42-132)	90 (47-111)	0,463
Achados laboratoriais				
Proteína C-reativa, mg/L		9,59 (0,19-60,2)	20,3 (0,67-57)	0,678
VHS, mm/1ª hora		10 (1-48)	10 (1-49)	0,938
Escores da EA				
BASDAI	0-10	4,21 (1,66-6)	3,95 (1,04-8,68)	0,899
BASFI	0-10	4,06 (1,4-7,79)	3,77 (0-8,41)	0,819
BASMI	0-10	4,5 (0-7)	6 (0-8)	0,486
ASQoL	0-18	5,5 (0-12)	6 (0-18)	0,899
BASRI	0-16	9 (6-16)	10 (5-16)	0,463

Valores expressos em mediana (intervalo) ou n (%) – número de pacientes e controles, VHS – velocidade de hemossedimentação, BASDAI - Bath AS Disease Activity Index, BASFI - Bath AS Functional Index, BASMI - Bath AS Metrology index, ASQoL - AS Quality of Life Questionnaire, BASRI - Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index.

5 DISCUSSÃO

A doença crônica pode prejudicar a fertilidade³⁴, particularmente quando a inflamação sistêmica e a autoimunidade estão presentes. A avaliação da função gonadal em pacientes do sexo masculino com doença reumática necessita ser sistematizada e levar em conta todos os fatores possíveis que possam influenciar a qualidade seminal.

Nosso estudo é o primeiro a realizar uma avaliação global da saúde urogenital e fertilidade em pacientes do sexo masculino com EA e comparar achados com um grupo controle saudável. A exclusão de pacientes com EA em tratamento com drogas sabidamente tóxicas ao sistema reprodutor, particularmente as DMARDs, que causam infertilidade reversível como a sulfasalazina ou metotrexato, é um aspecto relevante nos pacientes selecionados¹⁰.

Os resultados do presente estudo mostram que o processo da doença na ausência de outras comorbidades ou tratamento com imunossupressor não prejudica a função endócrina ou espermatogênese em pacientes masculinos com EA. Ao contrário, a presença de varicocele é prejudicial à qualidade seminal, confirmando um estudo prévio¹⁵. Conseqüentemente, os achados sugerem que o mecanismo responsável pela morfologia anormal dos espermatozóides em EA é essencialmente a varicocele.

A varicocele é uma dilatação da veia testicular e do plexo venoso pampiniforme²⁶. A fisiopatologia da espermatogênese anormal desta entidade urológica é desconhecida. A hipertemia do escroto e testículos,

hipóxia e estase, aumento das catecolaminas, distúrbio hormonal^{26,35} e níveis elevados de óxido nítrico e “espécie de oxigênio reativo” (EOR)³⁶ foram postulados como fatores contribuintes relevantes na redução da qualidade seminal em varicocele. EOR parece ter um papel sobre a disfunção do espermatozóide³⁷, visto que este induz aumento da apoptose de células germinativas com a consequente hipoespermatogênese³⁸. A falta de correlação dos marcadores inflamatórios sistêmicos ou escores da atividade da doença com varicocele em pacientes com EA, reforça a teoria do estresse oxidativo nos testículos. De fato, a morfologia normal dos espermatozoides foi significativamente menor em pacientes com EA com varicocele. Alterações isoladas na morfologia dos espermatozoides podem ter um efeito negativo na reprodução e fertilidade³⁹ e há evidências de que varicocelectomia normaliza ou reduz as alterações na morfologia dos espermatozoides em homens infértéis⁴⁰.

Um estudo prévio encontrou varicocele significativamente mais freqüente em pacientes com EA *versus* homens saudáveis e discutiram a provável influência do aumento da pressão abdominal em pacientes com EA, determinando o fluxo venoso retrógrado dentro das veias espermáticas, possivelmente relacionada à fraqueza da musculatura lombar inferior¹⁵. Nós não encontramos evidências para essa teoria em nosso estudo, uma vez que os pacientes com ou sem varicocele tiveram mobilidade axial e envolvimento pélvico comparáveis, assim como destruição radiográfica e função da vida diária similares. E nenhum dos nossos pacientes referia varizes em outras áreas do corpo ou empregos que utilizassem força braçal.

Volume testicular, antropometria peniana e parâmetros da análise dos espermatozóides, exceto a morfologia, foram comparáveis em ambos os grupos de pacientes com EA. Este achado contrasta com nossos estudos prévios em lúpus eritematoso sistêmico^{4-6,25} e dermatomiosite^{7,9} demonstrando múltiplas anormalidades dos espermatozóides e redução do volume testicular, e na síndrome anticorpo antifosfolípide primária mostrando redução da antropometria peniana⁴¹.

Além disto, este foi o primeiro relato que determinou que orquite autoimune não é o mecanismo responsável pelas alterações dos espermatozóides em EA, pelo fato de que anticorpos anti-espermatozóides foram uniformemente ausentes nesses pacientes. Em outras doenças reumáticas, como lúpus eritematoso sistêmico, este auto-anticorpo foi reportado em aproximadamente 10% dos pacientes⁴².

Avaliação hormonal realizada neste estudo revelou que endocrinopatia, uma causa comum de infertilidade masculina⁶, não parece contribuir para anormalidades dos espermatozóides em pacientes com EA com varicocele.

Uma adicional vantagem do presente estudo foi a avaliação urológica detalhada e a avaliação da função testicular e endócrina em pacientes com EA e controles sem outras anormalidades urológicas e comorbidades¹⁰, ou uso de DMARDs⁴³⁻⁵⁰, agentes biológicos^{13,51} e agentes imunossupressores⁵², o que pode levar a deterioração da função testicular¹⁰. Nós também realizamos a mensuração de anticorpos anti-espermatozóides

para excluir auto-imunidade como fator contribuinte para a diminuição da qualidade seminal. Entretanto, uma limitação do nosso estudo foi a inclusão de pacientes com EA em uso apenas de terapia com AINHS e baixa dose de prednisona, o que selecionou pacientes com leve e moderada atividade da doença como refletiu nos valores moderados de PCR e BASDAI. Além disto, não podemos afastar a possibilidade de pacientes com doença ativa mais grave ter alteração na espermatogênese.

Assim sendo, nós identificamos uma alta frequência de varicocele em pacientes com EA associada às anormalidades dos espermatozóides, mas não relacionada à terapia, ao anticorpo anti-espermatozóide, à alteração hormonal ou aos parâmetros da doença em pacientes com doença ativa leve a moderada. Quando avaliamos a infertilidade masculina em EA ou estudamos os efeitos das drogas imunossupressoras na qualidade do sêmen em EA, a presença da varicocele tem que ser obrigatoriamente investigada. Varicocelectomia pode estar indicada em pacientes que desejam paternidade futura.

6 CONCLUSÕES

1. Varicocele foi evidenciada nos pacientes com EA.
 2. Esta alteração da dilatação dos plexos pampiniformes determinou alterações mínimas nos espermatozóides (teratozoospermia).
-

7 REFERÊNCIAS

-
1. Feldtkeller E, Khan MA, Van Der Heijde D, Van Der Linden S, Braun J. Age at disease onset and diagnosis delay in HLA-B27 negative vs. positive patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int.* 2003;23: 61-6.
 2. Cakar E, Dincer U, Kiralp MZ, Taskaynatan MA, Yasar E, Bayman EO, Ozgul A, Dursun H. Sexual problems in male ankylosing spondylitis patients: relationship with functionality, disease activity, quality of life, and emotional status. *Clin Rheumatol* 2007;26:1607-1
 3. Silva CA, Brunner HI. Gonadal functioning and preservation of reproductive fitness with juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2007;16:593-9.
 4. Silva CA, Hallak J, Pasqualotto FF, Barba MF, Salto MI, Kiss MH. Gonadal function in adolescents and young men with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2002;29:2000-5.
 5. Soares PM, Borba EF, Bonfa E, Hallak J, Corrêa AI, Silva CA. Gonad evaluation in male systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2007;56:2352-61.
 6. Suehiro RM, Borba EF, Bonfa E, Okay TS, Cocuzza M, Soares PM, Silva CA. Testicular Sertoli cell function in male systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47:1692-7.
 7. Moraes AJ, Pereira RM, Cocuzza M, Casemiro R, Saito O, Silva CA. Minor sperm abnormalities in young male post-pubertal patients with juvenile dermatomyositis. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41:1142-7.
 8. Sallum AM, Garcia AJ, Saito OC, Silva CA. Scrotum and testicular calcinosis in juvenile dermatomyositis (JDM). A report of two cases. *Clin Exp Rheumatol.* 2009;27:382-3.
 9. Moraes AJ, Pereira RM, Cocuzza M, Casemiro R, Saito O, Silva CA. Gonad evaluation in male dermatomyositis. A pilot study. *Clin Exp Rheumatol.* 2010;28:441-2.
-

-
10. Silva Ca, Bonfa E, Ostensen M. Maintenance of fertility in patients with rheumatic diseases needing anti-inflammatory and immunosuppressive drugs. *Arthritis Care Res* (Hoboken). 2010;62:1682-90.
 11. O'moráin C, Smethurst P, Doré CJ, Levi AJ. Reversible male infertility due to sulphasalazine: studies in man and rat. *Gut*. 1984;25:1078-84.
 12. Kjaergaard N, Christensen LA, Lauritsen JG, Rasmussen SN, Hansen SH. Effects of mesalazine substitution on salicylazosulfapyridine-induced seminal abnormalities in men with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol*. 1989;24:891-6.
 13. Villiger PM, Caliezi G, Cottin V, Förger F, Senn A, Østensen M. Effects of TNF antagonists on sperm characteristics in patients with spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010;69:1842-4.
 14. Montagna GI, Malesci D, Buono R, Valentini G. Asthenozoospermia in patients receiving anti-tumour necrosis factor {alpha} agents. *Ann Rheum Dis*. 2005;64:1667.
 15. Ozgocmen S, Kocakoc E, Kiris A, Ardicoglu A, Ardicoglu O. Incidence of varicoceles in patients with Ankylosing Spondylitis evaluated by physical examination and color duplex sonography. *Urology*. 2002;59:919-22.
 16. Tapia-Serrano R, Jimenez-Balderas FJ, Murrieta S, Bravo-Gatica C, Guerra R, Mintz G. Testicular function in active ankylosing spondylitis. therapeutic response to human chorionic gonadotrophin. *J Rheumatol*. 1991;18:841-8.
 17. Straub RH, Struhárová S, Schölmerich J, Härle P. No alterations of serum levels of adrenal and gonadal hormones in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol*. 2002;20:52-9.
 18. Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mahmoud AM. *World Health Organization (WHO) for the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile men*. 1st ed. Cambridge. Cambridge University Press; 2000:1-86.
-

-
19. Shefi S, Turek PJ. Definition and current evaluation of subfertile men. *Int Braz J Urol.* 2006;32:385-97.
 20. Silva CA, Cocuzza M, Borba EF, Bonfá E. Cutting-Edge Issues in Autoimmune Orchitis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2011 (in press).
 21. Østensen M, Khamashta M, Lockshin M, Parke A, Brucato A, Carp H, Doria A, Rai R, Meroni P, Cetin I, et al. Anti-inflammatory and immunosuppressive drugs and reproduction. *Arthritis Res Ther.* 2006;8:209.
 22. Van Der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis: a proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum.* 1984;27:361-8.
 23. Tanner JM. *Growth at adolescence.* 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1962.
 24. Ponchietti R, Mondaini N, Bonafè M, Di Loro F, Biscioni S, Masieri L. Penile length and circumference: a study on 3.300 young Italian males. *Eur Urol.* 2001;39:183-6.
 25. Vecchi AP, Borba E, Bonfá E, Cocuzza M, Pieri P, Kim CA, Silva CA. Penile anthropometry in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2011;20:512-8.
 26. Bong GW, Koo HP. The adolescent varicocele: to treat or not treat. *Urol Clin N Am.* 2004;31:509-15.
 27. Atkinson GO, Patrick LE, Ball TI. The normal and abnormal scrotum in children: evaluation with color Doppler sonography. *Am J Roentgenol.* 1992;158:613-7.
 28. World Health Organization (WHO): *Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction.* 4th ed. New York: Cambridge University Press. 1999:1-128.
 29. Calin A, Garrett S, Whitelock H, Kennedy LG, O’Hea J, Mallorie P, Jenkinson T. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *J Rheumatol.* 1994;21:2281-5.
-

-
30. Garrett S, Jenkinson T, Kennedy G, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol*. 1994;21:2286-91.
 31. Doward LC, Spoorenberg A, Cook SA, Whalley D, Helliwell PS, Kay LJ, McKenna SP, Tennant A, Van der Heijde D, Chamberlain MA. The Development of the ASQOL: A quality of life instrument specific to ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2003;62:20-6.
 32. Jenkinson TR, Mallorie PA, Whitelock HC, Kennedy LG, Garrett SI, Calin A. Defining spinal mobility in ankylosing spondylitis (AS). The Bath AS Metrology Index. *J Rheumatol*. 1994;21:1694-8.
 33. Mackay K, Mack C, Brophy S, Calin A. The Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index (BASRI): a new, validated approach to disease assessment. *Arthritis Rheum*. 1998;12:2263-70.
 34. Østensen M. New insights into sexual functioning and fertility in rheumatic diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2004;18:219-32.
 35. Zhang QY, Qiu SD, Ma XN, Yu HM, Wu YW. Effect of experimental varicocele on structure and function of epididymis in adolescent rats. *Asian J Androl*. 2003;5:108-12.
 36. Yoon CJ, Park HJ, Park NC. Reactive oxygen species in the internal spermatic and brachial veins of patients with varicocele-induced infertility. *Korean J Urol*. 2010;51:348-53.
 37. Mostafa T, Anis T, Imam H, El-Nashar AR, Osman IA. Seminal reactive oxygen species-antioxidant relationship in fertile males with and without varicocele. *Andrologia*. 2009;41:125-9.
 38. Turner TT, Lysiak JJ. Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. *J Androl*. 2008;29:488-98.
 39. Spiessens C, Vanderschueren D, Meuleman C, D'hooghe T. Isolated teratozoospermia and intrauterine insemination. *Fertil Steril*. 2003;80:1185-9.
 40. Cakan M, Bakirtas H, Aldemir M, Demirel F, Altug U. Results of varicocelectomy in patients with isolated teratozoospermia. *Urol Int*.
-

2008;80:172-6.

41. Rabelo-Júnior CN, Freire de Carvalho J, Gallinaro AL, Bonfá E, Cocuzza M, Saito O, Silva CA. Primary antiphospholipid syndrome: morphofunctional penile abnormalities with normal sperm analysis. *Lupus*. 2011 (in press).
 42. Shiraishi Y, Shibahara H, Koriyama J, Hirano Y, Okazaki H, Minota S, Suzuki M. Incidence of antisperm antibodies in males with systemic autoimmune diseases. *Am J Reprod Immunol*. 2009;61:183-9.
 43. Sharma RK, Kalla NR. Spermatozoal abnormalities and male infertility in the rat following sulfasalazine treatment. *Int J Fertil Menopausal Stud*. 1994;39:347-54.
 44. Hoyt JA, Fisher LF, Swisher DK. Short-term male reproductive toxicity study with sulfasalazine in the rat. *Reprod Toxicol*. 1995;9:315-26.
 45. Delaere KP, Strijbos WE, Meuleman EJ. Sulphasalazine-induced reversible male infertility. *Acta Urol Belg*. 1989;57:29-33.
 46. Alonso V, Linares V, Bellés M, Albina ML, Sirvent JJ, Domingo JL, Sánchez DJ. Sulfasalazine induced oxidative stress: a possible mechanism of male infertility. *Reprod Toxicol*. 2009;27:35-40.
 47. Riley SA, Lecarpentier J, Mani V, Goodman MJ, Mandal BK, Turnberg LA. Sulphasalazine induced seminal abnormalities in ulcerative colitis: results of mesalazine substitution. *Gut*. 1987;28:1008-12.
 48. Morris LF, Harrod MJ, Menter MA, Silverman AK. Methotrexate and reproduction in men: case report and recommendations. *J Am Acad Dermatol*. 1993;29:913-6.
 49. Sussman A, Leonard JM. Psoriasis, methotrexate, and oligospermia. *Arch Dermatol*. 1980;116:215-7.
 50. Padmanabhan S, Tripathi DN, Vikram A, Ramarao P, Jena GB. Methotrexate-induced cytotoxicity and genotoxicity in germ cells of mice: intervention of folic and folinic acid. *Mutat Res*. 2009;673:43-52.
 51. Paschou S, Voulgari Pv, Vrabie IG, Saougou IG, Drosos AA. Fertility and reproduction in male patients with ankylosing spondylitis treated with infliximab. *J Rheumatol*. 2009;36:351-4.
-

-
52. Latta K, Von Schnakenburg C, Ehrich JH. A meta-analysis of cytotoxic treatment for frequently relapsing nephrotic syndrome in children. *Pediatr Nephrol.* 2001;16:271-82.
-

8 ANEXOS

14– Dec – 2011

Dear Prof. Silva:

The manuscript "GONADAL FUNCTION IN MALE PATIENTS WITH ANKYLOSING SPONDYLITIS" on which you are a co-author, has now been submitted to the Scandinavian Journal of Rheumatology and has been assigned the reference number SJR-2011-0469.

The full list of authors is:
Nukumizu, Lucia; Gonçalves, Carla; Ostensen, Monika; Almeida, Breno; Cocuzza, Marcello; Gonçalves, Celio; Saito, Osmar; Bonfa, Eloisa; Silva, Clovis.

The submitting author may view the status of the manuscript at any time by logging on to his or her account at the Scandinavian Journal of Rheumatology Manuscript Central (<http://mc.manuscriptcentral.com/scandjrheumatol>).

If you need to contact the Editorial Office for any reason, please be prepared to quote the reference number for your manuscript.

Yours

sincerely,

Dorit
Managing Editor

Sylvest

Running Title: Gonadal function in AS

ARTICLE

GONADAL FUNCTION IN MALE PATIENTS WITH ANKYLOSING SPONDYLITIS

Lucia Akemi Nukumizu¹, Carla Gonçalves Saad¹, Monika Ostensen², Breno Pires de Almeida¹, Marcello Cocuzza³, Célio Gonçalves¹, Osmar Saito⁴, Eloísa Bonfá¹ *, Clovis A. Silva^{1,5} *

- ^{1.} Division of Rheumatology of Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo-Brazil
- ^{2.} Pregnancy Research Unit, Department of Rheumatology, University of Bern, Switzerland
- ^{3.} Department of Urology of Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo-Brazil
- ^{4.} Department of Radiology of Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo-Brazil
- ^{5.} Pediatric Reumatology Unit of Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo-Brazil

* These authors contributed equally to this work

Address correspondence and reprint requests to:

Eloisa Bonfa, MD, PhD

Disciplina de Reumatologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Av. Dr. Arnaldo 455, sala 3133, São Paulo, SP, Brazil. CEP: 01246-903

FAX: 55-11-3066-7490.

E-mail:ebonfa@lim17.fm.usp.br

ABSTRACT

Objective: To assess reproductive function in male ankylosing spondylitis (AS) patients in comparison to healthy controls. **Methods:** 20 AS patients were compared to 24 male healthy subjects in regard to demographic data, urologic examination, testicular ultrasound (US), semen analysis, anti-sperm antibodies and hormone profile. Exclusion criteria were present use of sulfasalazine or methotrexate, and ever use of biological/cytotoxic agents. Disease activity of AS was evaluated by clinical and laboratory assessments. **Results:** Demographic data were similar in AS and controls ($p=0.175$). Varicocele was significantly more frequently found in AS patients than in controls (40% vs. 8%, $p=0.027$). Semen analysis revealed no significant differences in sperm quality between AS patients and controls ($p>0.05$). In contrast, the median of normal sperm forms was significantly lower in AS patients with *versus* those without varicocele [13.5 (2-27) vs. 22 (10-32.5)%, $p=0.049$] whereas no difference in sperm morphology was observed comparing AS patients and controls without varicocele ($p=0.670$). Comparison of AS patients with and without varicocele showed that anti-sperm antibodies, hormones, inflammatory markers and disease activity scores did not contribute to the impaired sperm morphology observed in AS patients with varicocele. **Conclusions:** An increased frequency of varicocele was found in AS patients associated with sperm abnormalities, but independent of therapy, anti-sperm antibodies, hormonal alterations or disease parameters. Investigation for varicocele should be routinely done in AS patients with fertility problems.

Keywords: ankylosing spondylitis, male, sperm, varicocele, fertility, anti-sperm antibodies.

INTRODUCTION

Ankylosing spondylitis (AS) is a chronic inflammatory disease that affects predominantly male patients (1). AS most commonly starts in the second or third decade and affects men twice as often as women. Chronic inflammation in joints and at entheses accounts for pain, stiffness and loss of function thereby reducing quality of life. Sexuality and the ability for procreation are essential factors contributing to a satisfactory quality of life (2). Issues related to sexual function and reproductive health are therefore important issues for AS patients of both gender which need to be addressed (3-10). One concern in regard to male reproduction is a possible adverse effect of the inflammatory process on endocrine function or spermatogenesis and the other is the effect of drug therapy which could impair fertility (10-13). There are scarce data in the literature regarding gonadal function in AS patients and the interpretation of the findings is hampered by the lack of controls (14), restricted focus on genital alterations (15), concomitant treatment with drugs that may alter gonadal function¹³ and absence of hormone evaluation (16,17). Assessment of gonadal function requires a complete urological examination in order to exclude semen alterations due to aging (3,10), genital abnormalities (18), hypothalamic-pituitary-axis dysfunction, anti-sperm antibodies (19,20) or due to drug treatment (10,21-23).

Semen abnormalities have been described in AS and other spondyloarthropathies under disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs), such as sulfasalazine and methotrexate (10,11,12), and TNF inhibitors (13). Adverse effects of medications can only be assessed correctly when an adverse effect on gonadal function by the underlying disease can be excluded. Vice versa, assessment of the influence of the disease process on gonadal function requires a drug free interval of at least three months for immunosuppressive and cytotoxic drugs (10,11). Therefore, the aim of this study was to perform a global gonadal assessment in male AS patients not on treatment with drugs known to have a toxic effect on the reproductive system. Since one study found the presence of varicocele associated with impaired spermatogenesis in AS patients

(15), a complete urologic examination together with semen analysis, hormone profile, clinical and laboratory findings was performed. For comparison, aged matched healthy men were investigated in the same way.

PATIENTS AND METHODS

AS patients and controls

Twenty AS male patients aged between 17 and 53 years regularly followed at the Spondyloarthritis Clinics of the Rheumatology Division, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo were selected for this study from September 2008 to February 2010. All patients fulfilled the modified New York criteria for AS diagnosis (24). Inclusion criteria were never treated with biological agents, sulfasalazine/methotrexate washout period of at least 3 months and no restriction to the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and/or low dose prednisone ($\leq 10\text{mg/day}$). The control group included 24 healthy subjects followed at the Urology Division of our University Hospital.

Exclusion criteria were: hydrocele, hypospadias, cryptorchidism, testicular infection, testicular cancer, orchitis, testicular vasculitis, ureteral impairment, previous history of any scrotal or inguinal surgery (e.g. varicocoelectomy, vasectomy, hernia repair), diabetes mellitus, previous or current history of alcohol or tobacco use, previous use of any alkylating agents, current use of other DMARDs and refusal to collect sperm sample or incomplete evaluation. The Local Ethics Committee approved the study and an informed consent was obtained from all participants.

Demographic data

Current age and spermarche age were recorded in AS patients and controls, likewise disease onset and disease duration in AS patients.

TESTICULAR FUNCTION EVALUATION

Urological evaluation

A systematic clinical examination of the genitalia was performed in patients and controls, blinded to the other parameters of gonadal function by the same expert urologist and included: evaluation of testicles, epididymis, vas deferens, scrotum and penis (for details see references 25-27) (25-27). Testicles were examined in a warm room with temperature not inferior to 22°C, in both the standing and supine positions, and with and without Valsalva maneuver. Varicocele was graded according to the following criteria: grade I (small) palpable only with concurrent Valsalva maneuver, grade II (medium) palpable with patient standing and grade III (large) visible through scrotal skin, with patient standing (28).

Testicular Doppler ultrasound

Ultrasound was performed in all AS patients and controls by an expert sonographer using a 14-MHz sector scanner (Logic 9-GE-, Milwaukee, WI, USA) blinded to the other parameters of gonadal function. Testes were scanned in axial and longitudinal planes, and at least two measurements of length, width and thickness were obtained and used to calculate the testicular volume (3). The normal testicular volume value in male post-pubertal adolescents and adults is 15 ± 8 ml (29). The assessment of radiographic varicocele and measurement of pampiniform venous plexus (spermatic plexus) were also evaluated in both testicles (3).

Semen analysis

Semen analysis was performed according to the guidelines of the World Health Organization (WHO) (9,30) by two expert medical technologists, blinded to the other parameters of gonadal function. All AS patients and controls were asked to provide two semen samples, collected by masturbation and processed within 1 h of liquefaction, with an interval of 15-30 days after 48-72 hours of sexual abstinence. The median of the two samples was assessed in regard to sperm concentration, sperm motility and sperm morphology. A patient was

considered to have oligozoospermia when a sperm concentration <20 million/ml were found in the ejaculate. Asthenozoospermia was defined as normal sperm motility (“a” + “b” + “c”) in <50% or <25% in progressive motility (“a” + “b”) within 60 minutes of ejaculation. Teratozoospermia was defined as normal sperm morphology in <15% by WHO criteria (18,30).

Anti-sperm antibodies

Anti-sperm antibodies binding to the surface of spermatozoa can cause tissue damage and infertility (20). They were measured at study entry in AS patients and controls by Immunobead[®] rabbit anti-human Ig (IgA, IgG and IgM) kits (Irvine Scientific, Santa Ana, CA, USA) which detects antibodies that bind to the sperm cell surface (sperm head, mid-piece and/or tail). At least 50% of the motile spermatozoa (“a” + “b”) must be coated with immunobeads before the test is considered to be clinically significant (30).

Hormonal profile

For the evaluation of the integrity of the hypothalamic-pituitary-axis function hormonal measurements were performed at study entry in AS patients and controls, blinded to the other parameters of gonadal function. Abnormal results were repeated for confirmation. Follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), prolactin, total testosterone, triiodothyronine (T3), tetraiodothyronine (T4), free T4 and thyrotropin [thyroid-stimulating hormone (TSH)] levels were detected by fluoroimmunoassay using kits from DELPHIA^R time-resolved fluoroimmunoassay (WALLAC Ou, Turku, Finland). Intra- and inter-assay coefficients of variation were limited to 3.5 and 2.1%, respectively.

AS patients - clinical and laboratory evaluation

Clinical data were assessed at study entry including the Bath AS Functional Index (BASFI) (31), Bath AS Disease Activity Index (BASDAI) (32), the AS Quality of Life Questionnaire (ASQoL) (33), Bath AS Metrology index

(BASMI) (34) and Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index (BASRI) (35). The intermalleolar distance was used to define hip involvement (34). Laboratory exams included erythrocyte sedimentation rate (ESR) by Westergreen and C-reactive protein (CRP) by nephelometry.

Statistical analysis

Results are presented as the median (range) for continuous variables and as the number (%) for categorical variables. Data were compared by t-tests or by the Mann-Whitney test for continuous variables to evaluate differences between AS patients and controls, and between AS patients with and without radiographic varicocele. For categorical variables, differences were assessed by Fisher's exact test. *P* values less than 0.05 were considered significant.

RESULTS

AS patients versus controls

There were no significant differences between AS patients and controls in regard to current age, age at spermatarche, penile anthropometry, or testicular volume (Table 1).

The frequency of varicocele by urologic examination and testicular ultrasound was significantly higher in AS patients compared to controls (30% vs. 4%, $p=0.035$; 40% vs. 8%, $p=0.027$; respectively) (Table 1). Varicocele was observed in six AS patients and one healthy control: grade I (one patient and one control), grade II (four patients) and grade III (one patient). The median diameter of pampiniform venous plexus in the left testicle was significantly larger in AS patients compared to controls [0.25 (0.16-0.49) vs. 0.2 (0.2-0.24) mm, $p=0.009$]. None of our AS patients had jobs with high workload or had varicosis in other areas of the body. Semen analysis, anti-sperm antibodies and hormone evaluation showed no significant differences between AS patients and healthy controls (Table 2).

AS patients with and without sonographic varicocele

Clinical and laboratory findings in AS patients with and without sonographic varicocele showed no significant differences in type of peripheral arthritis, presence of hip involvement, clinical scores (BASDAI, BASFI, BASMI, ASQoL and BASRI), CRP, ESR or hormone levels (Table 3). The proportion of normal sperm forms was significantly lower in AS patients with sonographic varicocele *versus* AS patients without [13.5 (2-27) vs. 22 (10-32.5)%, $p=0.049$]. In contrast, proportions of normal sperm forms were alike in AS patients and controls without sonographic varicocele [22 (10-32.5) vs. 22.5 (10-45)%, $p=0.670$].

DISCUSSION

A chronic disease process can impair fertility (36), particularly when systemic inflammation and autoimmunity is present. An evaluation of gonadal function in male patients with rheumatic disease needs to take into account all possible factors that can influence semen quality. Our study is the first to perform a global assessment of urogenital health and fertility in male patients with AS and to compare findings with a healthy control group. The exclusion of AS patients on treatment with drugs able to cause reversible infertility like sulfasalazine or methotrexate, is a relevant aspect of patient selection (10). The results show that the disease process in the absence of other comorbidities or immunosuppressive treatment does not impair endocrine function or spermatogenesis in male patients with AS. By contrast, presence of varicocele did impair sperm quality confirming a previous study (15). Thus the results point to varicocele as a main factor for abnormal sperm morphology in AS.

Varicocele is a dilatation of the testicular vein and the venous plexus pampiniformis (25). The pathophysiology of abnormal spermatogenesis of varicocele is unknown. Hyperthermia of the scrotum and testes, hypoxia and stasis, increased catecholamines, hormonal disturbances (28,37) and elevation of nitric oxide and reactive oxygen species (ROS) (38) have been postulated as

relevant contributing factors to reduced sperm quality in varicocele. ROS seems to play a role in sperm dysfunction (39) since it induces increased germ cell apoptosis with subsequent reduced spermatogenesis (40). The lack of a correlation of systemic inflammatory markers or disease activity scores with varicocele in our AS patients supports a role of oxidative stress in the testicle. In fact, normal sperm morphology was significantly reduced in AS patients with varicocele. Isolated alteration of semen morphology may have a negative effect on reproduction and fertility (41), and there is evidence that varicolectomy improves sperm morphology in infertile men (42).

Which role weak low back muscles necessitating frequent use of a Valsalva manoeuvre thereby increasing abdominal pressure might play in the higher incidence of varicocele (15) in AS remains unsolved. We detected no significant difference in AS patients with and without varicocele in regard to radiographic damage, axial mobility, hip involvement, or daily life function. Moreover, none of our patients had jobs with high workload or had varicosis in other areas of the body.

Testicular volume, penile anthropometry, and parameters of sperm analysis other than morphology were comparable in AS patients with and without varicocele. This finding contrasts our previous observations in systemic lupus erythematosus (4-6,27) and dermatomyositis (7,9) demonstrating multiple sperm abnormalities and reduction of testicular volume, and in primary antiphospholipid syndrome reduction of penile anthropometry (43). In addition, this is the first report to show that autoimmune orchitis is not contributing to sperm alterations in AS in view of the fact that anti-sperm antibodies were uniformly absent in these patients contrasting the presence of anti-sperm antibodies in approximately 10% of patients with other rheumatic diseases (44). Furthermore, hormone assessment revealed that endocrinopathy, a common cause of male infertility (6), does not seem to contribute to the sperm abnormality in AS patients with varicocele.

The strength of the present study design was the detailed urologic evaluation, the assessment of autoimmunity as well as testicular and endocrine function in AS patients and controls without other urologic abnormalities and comorbidities (10), or use of DMARDs (45-52), biological agents (13,53) and immunosuppressive agents (54) which may lead to impairment of testicular function (10). Furthermore, we compared AS patients with and without varicocele in order to detect factors that would shed light on the pathophysiology of the impaired sperm quality. A limitation of our study is the inclusion of AS patients only on therapy with NSAIDs and low dose prednisone, which selects for patients with mild to moderate disease activity as reflected by moderate values for CRP and BASDAI. We cannot rule out the possibility that high disease activity could impair spermatogenesis as well as varicocele.

In conclusion, we have confirmed an increased frequency of varicocele in AS and found it associated with sperm abnormalities, but not with therapy, anti-sperm antibodies, hormonal alterations or disease parameters in patients with mild to moderate disease activity. When assessing male infertility in AS, or studying the effects of immunosuppressive drugs on sperm quality in AS, the presence of varicocele must be looked for and taken into account. Varicocelectomy may be indicated in AS patients who desire future parenthood.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (2009/51897-5 to EB), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ (grants 301411/2009-3 to EB and 300248/2008-3 to CAS) and Federico Foundation Grants to EB and CAS. Our gratitude to Aline Braga and Kelly Athayde for technical support and Ulysses Dória Filho for the statistical analysis.

REFERENCES

-
1. Feldtkeller E, Khan MA, Van Der Heijde D, Van Der Linden S, Braun J. Age at disease onset and diagnosis delay in HLA-B27 negative vs. positive patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2003; 23: 61-6.
 2. Cakar E, Dincer U, Kiralp MZ, Taskaynatan MA, Yasar E, Bayman EO, et al. Sexual problems in male ankylosing spondylitis patients: relationship with functionality, disease activity, quality of life, and emotional status. *Clin Rheumatol* 2007;26:1607-1
 3. Silva CA, Brunner HI. Gonadal functioning and preservation of reproductive fitness with juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007; 16: 593-9.
 4. Silva CA, Hallak J, Pasqualotto FF, Barba MF, Salto MI, Kiss MH. Gonadal function in adolescents and young men with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2002; 29: 2000-5.
 5. Soares PM, Borba EF, Bonfa E, Hallak J, Corrêa AI, Silva CA. Gonad evaluation in male systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2352-61.
 6. Suehiro RM, Borba EF, Bonfa E, Okay TS, Cocuzza M, Soares PM, et al: Testicular Sertoli cell function in male systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47:1692-7.
 7. Moraes AJ, Pereira RM, Cocuzza M, Casemiro R, Saito O, Silva CA. Minor sperm abnormalities in young male post-pubertal patients with juvenile dermatomyositis. *Braz J Med Biol Res* 2008;41:1142-7.
 8. Sallum AM, Garcia AJ, Saito OC, Silva CA. Scrotum and testicular calcinosis in juvenile dermatomyositis (JDM). A report of two cases. *Clin Exp Rheumatol* 2009;27:382-3.
 9. Moraes AJ, Pereira RM, Cocuzza M, Casemiro R, Saito O, Silva CA. Gonad evaluation in male dermatomyositis. A pilot study. *Clin Exp Rheumatol* 2010;28:441-2.
-

-
10. Silva Ca, Bonfa E, Ostensen M. Maintenance of fertility in patients with rheumatic diseases needing anti-inflammatory and immunosuppressive drugs. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010;62:1682-90.
 11. O'moráin C, Smethurst P, Doré CJ, Levi AJ. Reversible male infertility due to sulphasalazine: studies in man and rat. *Gut* 1984;25:1078-84.
 12. Kjaergaard N, Christensen LA, Lauritsen JG, Rasmussen SN, Hansen SH. Effects of mesalazine substitution on salicylazosulfapyridine-induced seminal abnormalities in men with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol* 1989;24:891-6.
 13. Villiger PM, Caliezi G, Cottin V, Förger F, Senn A, Østensen M. Effects of TNF antagonists on sperm characteristics in patients with spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1842-4.
 14. Montagna GI, Malesci D, Buono R, Valentini G. Asthenoazoospermia in patients receiving anti-tumour necrosis factor alpha agents. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1667.
 15. Ozgocmen S, Kocakoc E, Kiris A, Ardicoglu A, Ardicoglu O. Incidence of varicoceles in patients with Ankylosing Spondylitis evaluated by physical examination and color duplex sonography. *Urology* 2002;59:919-22.
 16. Tapia-Serrano R, Jimenez-Balderas FJ, Murrieta S, Bravo-Gatica C, Guerra R, Mintz G. Testicular function in active ankylosing spondylitis. therapeutic response to human chorionic gonadotrophin. *J Rheumatol* 1991;18:841-8.
 17. Straub RH, Struhárová S, Schölmerich J, Härle P. No alterations of serum levels of adrenal and gonadal hormones in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol* 2002;20:52-9.
 18. Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mahmoud AM. World Health Organization (WHO) for the standardized investigation, diagnosis and management of the infertile men. 1st ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2000:1-86.
-

-
19. Shefi S, Turek PJ. Definition and current evaluation of subfertile men. *Int Braz J Urol* 2006;32:385-97.
 20. Silva CA, Cocuzza M, Borba EF, Bonfá E. Cutting-Edge Issues in Autoimmune Orchitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2011 (in press).
 21. Østensen M, Khamashta M, Lockshin M, Parke A, Brucato A, Carp H, et al. Anti-inflammatory and immunosuppressive drugs and reproduction. *Arthritis Res Ther* 2006;8:209.
 22. Østensen M, Lockshin M, Doria A, Valesini G, Meroni P, Gordon C, et al. Update on safety during pregnancy of biological agents and some immunosuppressive anti-rheumatic drugs. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47:28-31.
 23. Ostensen M, Brucato A, Carp H, Chambers C, Dolhain RJ, Doria A, et al. Pregnancy and reproduction in autoimmune rheumatic diseases. *Rheumatology (Oxford)* 2011;50:657-64.
 24. Van Der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis: a proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum* 1984;27:361-8.
 25. Tanner JM. Growth at adolescence. 2nd edition. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1962.
 26. Ponchietti R, Mondaini N, Bonafè M, Di Loro F, Biscioni S, Masieri L. Penile length and circumference: a study on 3.300 young Italian males. *Eur Urol* 2001;39:183-6.
 27. Vecchi AP, Borba EF, Bonfá E, Cocuzza M, Pieri P, Kim CA, et al: Penile anthropometry in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2011;20:512-8.
 28. Bong GW, Koo HP. The adolescent varicocele: to treat or not treat. *Urol Clin N Am* 2004;31:509-15.
 29. Atkinson GO, Patrick LE, Ball TI. The normal and abnormal scrotum in children: evaluation with color Doppler sonography. *Am J Roentgenol* 1992;158:613-7.
-

-
30. World Health Organization (WHO): Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th edition. New York: Cambridge University Press 1999:1-128.
 31. Calin A, Garrett S, Whitelock H, Kennedy LG, O'Hea J, Mallorie P, et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *J Rheumatol* 1994;21:2281-5.
 32. Garrett S, Jenkinson T, Kennedy G, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol* 1994;21:2286-91.
 33. Doward LC, Spoorenberg A, Cook SA, Whalley D, Helliwell PS, Kay LJ, et al. The Development of the ASQOL: A quality of life instrument specific to ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:20-6.
 34. Jenkinson TR, Mallorie PA, Whitelock HC, Kennedy LG, Garrett SI, Calin A. Defining spinal mobility in ankylosing spondylitis (AS). The Bath AS Metrolog Index. *J Rheumatol* 1994;21:1694-8.
 35. Mackay K, Mack C, Brophy S, Calin A. The Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index (BASRI): a new, validated approach to disease assessment. *Arthritis & Rheum* 1998;12:2263-70.
 36. Østensen M. New insights into sexual functioning and fertility in rheumatic diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004;18:219-32.
 37. Zhang QY, Qiu SD, Ma XN, Yu HM, Wu YW. Effect of experimental varicocele on structure and function of epididymis in adolescent rats. *Asian J Androl* 2003;5:108-12.
 38. Yoon CJ, Park HJ, Park NC. Reactive oxygen species in the internal spermatic and brachial veins of patients with varicocele-induced infertility. *Korean J Urol* 2010;51:348-53.
 39. Mostafa T, Anis T, Imam H, El-Nashar AR, Osman IA. Seminal reactive oxygen species-antioxidant relationship in fertile males with and without
-

-
- varicocele. *Andrologia* 2009;41:125-9.
40. Turner TT, Lysiak JJ. Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. *J Androl* 2008;29:488-98.
41. Spiessens C, Vanderschueren D, Meuleman C, D'hooghe T. Isolated teratozoospermia and intrauterine insemination. *Fertil Steril* 2003;80:1185-9.
42. Cakan M, Bakirtas H, Aldemir M, Demirel F, Altug U. Results of varicocelectomy in patients with isolated teratozoospermia. *Urol Int* 2008;80:172-6.
43. Rabelo-Júnior CN, Freire de Carvalho J, Gallinaro AL, Bonfá E, Cocuzza M, Saito O, et al. Primary antiphospholipid syndrome: morphofunctional penile abnormalities with normal sperm analysis. *Lupus* 2011 (in press).
44. Shiraishi Y, Shibahara H, Koriyama J et al. Incidence of antisperm antibodies in males with systemic autoimmune diseases. *Am J Reprod Immunol* 2009;61:183-9.
45. Sharma RK, Kalla NR. Spermatozoal abnormalities and male infertility in the rat following sulfasalazine treatment. *Int J Fertil Menopausal Stud* 1994;39:347-54.
46. Hoyt JA, Fisher LF, Swisher DK. Short-term male reproductive toxicity study with sulfasalazine in the rat. *Reprod Toxicol* 1995;9:315-26.
47. Delaere KP, Strijbos WE, Meuleman EJ. Sulphasalazine-induced reversible male infertility. *Acta Urol Belg* 1989;57:29-33.
48. Alonso V, Linares V, Bellés M, Albina ML, Sirvent JJ, Domingo JL, et al. Sulfasalazine induced oxidative stress: a possible mechanism of male infertility. *Reprod Toxicol* 2009;27:35-40.
49. Riley SA, Lecarpentier J, Mani V, Goodman MJ, Mandal BK, Turnberg LA. Sulphasalazine induced seminal abnormalities in ulcerative colitis: results of mesalazine substitution. *Gut* 1987;28:1008-12.
50. Morris LF, Harrod MJ, Menter MA, Silverman AK. Methotrexate and reproduction in men: case report and recommendations. *J Am Acad*
-

-
- Dermatol 1993;29:913-6.
51. Sussman A, Leonard JM. Psoriasis, methotrexate, and oligospermia. Arch Dermatol 1980;116:215-7.
52. Padmanabhan S, Tripathi DN, Vikram A, Ramarao P, Jena GB. Methotrexate-induced cytotoxicity and genotoxicity in germ cells of mice: intervention of folic and folinic acid. Mutat Res 2009;673:43-52.
53. Paschou S, Voulgari Pv, Vrabie IG, Saougou IG, Drosos AA. Fertility and reproduction in male patients with ankylosing spondylitis treated with infliximab. J Rheumatol 2009;36:351-4.
54. Latta K, Von Schnakenburg C, Ehrich JH. A meta-analysis of cytotoxic treatment for frequently relapsing nephrotic syndrome in children. Pediatr Nephrol 2001;16:271-82.
-

Table 1 - Demographic data, penis anthropometry, testicular volume and varicocele in ankylosing spondylitis (AS) patients and healthy controls.

Variables	AS (n=20)	Controls (n=24)	p
Demographic data			
Current age, yrs	33 (17-53)	28.5 (15-54)	0.175
Spermarche age, yrs	13 (9-18)	12 (11-15)	0.358
Penis anthropometry, cm			
Length	10 (6.5-12)	10 (8-13)	0.480
Circumference	9.0 (8-10)	10 (7-11)	0.075
Testicular volume by US, ml			
Right testicle	13.15 (5.7-22.6)	12.5 (7.1-20.6)	0.839
Left testicle	12.8 (4.7-19.7)	11.95 (6-21.2)	0.917
Varicocele			
Urologic evaluation	6 (30)	1 (4)	0.035
Left testicle	6 (30)	1 (4)	0.035
Bilateral	0	0	1.0
By ultrasound	8 (40)	2 (8)	0.027
Left testicle	6 (30)	1 (4)	0.035
Bilateral	2 (10)	1 (4)	0.583

Values expressed in median (range) or n (%), n – number of patients and controls, US – testicular ultrasound.

Table 2 – Semen analysis, anti-sperm antibodies and hormone evaluation in ankylosing spondylitis (AS) patients and healthy controls.

Variables	Referenc evalue	AS (n=20)	Controls (n=24)	p
Sperm analysis				
Sperm concentration, X 10 ⁶ /ml	≥ 20	91.75 (11.6-252.2)	71.3 (22-329)	0.786
Oligozoospermia		2 (10)	0 (0)	0.201
Total sperm count, X 10 ⁶	≥ 40	231.45 (37.1-1261.2)	219.4 (41.3-1176)	0.579
Sperm motility,% *	≥ 50	66 (40-85)	69.5 (53-82)	0.662
Asthenozoospermia		2 (10)	0 (0)	0.201
Normal sperm forms, %	≥ 15	17.25 (2-32.5)	22.5 (1.5-45)	0.215
Teratozoospermia		9 (45)	7 (28)	0.352
Anti-sperm antibodies, %	> 50	0/18 (0)	0/24 (0)	1.0
Hormone evaluation				
FSH, IU/l	1-10.5	3.45 (1.4-10.7)	3.65 (1.8-5.8)	0.795
LH, IU/l	1-8.4	3.65 (1.2-7.4)	3.35 (1-9.9)	0.604
Prolactin, ng/mL	2-10	4.9 (1.9-10.7)	6.15 (2.7-17.5)	0.117
Morning total testosterone, ng/dL	271-965	473 (167-688)	521.5 (230-1078)	0.248

Values expressed in median (range) or n (%), n – number of patients and controls, WHO – World Health Organization, FSH - follicle-stimulating hormone, LH - luteinizing hormone *Sperm motility reference value - 50% or more motile (grades “a” + “b”+ “c”) or 25% or more with grade “a” + “b” (World Health Organization criteria) (30).

Table 3 – Demographic data, semen analysis, hormone evaluation, ESR and CRP and clinical assessments in ankylosing spondylitis (AS) patients with and without sonographic varicocele.

Variables	Reference Value	With varicocele (n=8)	Without varicocele (n=12)	p
Demographic data				
Current age, yrs		31.5 (23-44)	34 (17-53)	0.353
Disease onset, yrs		20 (13-26)	17 (9-33)	0.969
Disease duration, yrs		11.5 (3-30)	16.5 (4-33)	0.785
Spermarche age, yrs		13 (12-15)	13 (9-18)	0.817
Semen analysis				
Sperm concentration, X 10 ⁶ /ml	≥ 20	66.25 (11.6-109.7)	112.93 (13.1-252.2)	0.075
Oligozoospermia		1 (12.5)	1 (8)	1.0
Total sperm count, X 10 ⁶	≥ 40	280.3 (37.1-780)	153.75 (42.35-1261.2)	0.734
Sperm motility,% *	≥ 50	67.5 (51-85)	66 (40-82.5)	0.662
Asthenozoospermia		0 (0)	2 (17)	0.494
Normal sperm forms, %	≥ 15	13.5 (2-27)	22 (10-32.5)	0.049
Teratozoospermia		5 (63)	4 (33)	0.361
Hormone evaluation				
FSH, IU/l	1-10.5	3.3 (1.4-6.0)	3.5 (2.1-10.7)	0.343
LH, IU/l	1-8.4	3.15 (2.3-4.7)	4.65 (1.2-7.4)	0.384
Prolactin, ng/mL	2-10	5.55 (1.9-10.7)	4.35 (2.3-8.4)	0.343
Morning total testosterone, ng/dL	271-965	540 (226-688)	387.5 (167-656)	0.521
Laboratory findings				
C-reactive protein, mg/L		9.59 (0.19-60.2)	20.3 (0.67-57)	0.678
ESR, mm/1 st hour		10 (1-48)	10 (1-49)	0.938
AS scores				
BASDAI	0-10	4.21 (1.66-6)	3.95 (1.04-8.68)	0.899
BASFI	0-10	4.06 (1.4-7.79)	3.77 (0-8.41)	0.819
BASMI	0-10	4.5 (0-7)	6 (0-8)	0.486
ASQoL	0-18	5.5 (0-12)	6 (0-18)	0.899
BASRI	0-16	9 (6-16)	10 (5-16)	0.463

Values expressed in median (range) or n (%), n – number of patients and controls, BMI – body mass index, US – testicular ultrasound, FSH – follicle-stimulating hormone, LH – luteinizing hormone *Sperm motility reference value – 50% or more motile (grades “a” + “b”) or 25% or more with grade “a” (World Health Organization criteria) (30). ESR – erythrocyte sedimentation rate, BASDAI – Bath AS Disease Activity Index, BASFI – Bath AS Functional Index, BASMI – Bath AS Metrology index, ASQoL – AS Quality of Life Questionnaire, BASRI – Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index.