



Cambio en la secreción pulsátil y en la respuesta de la hormona luteinizante a la naloxona en relación con el daño testicular

Carlos A. Villanueva Díaz,* Rubén Pineda Viedas,* Mirna Guadalupe Echavarría Sánchez,* Armando Juárez Bengoa*

Nivel de evidencia: II-2

RESUMEN

Objetivo: comparar la secreción pulsátil de LH, el tono de opioides endógenos y la masa / concentración de LH ocasionada por la infusión de naloxona a pacientes con oligospermia normogonadotrópica (ON), como modelo de daño testicular progresivo.

Pacientes y métodos: se comparó la secreción pulsátil de LH durante ocho horas en sujetos sanos fértiles (grupo 3, n=5), pacientes con oligospermia normogonadotrópica y relación FSH/LH <1.6 (grupo 1, n=5) y pacientes con oligospermia normogonadotrópica y relación FSH/LH >1.6 (grupo 2, n=5). Además, se calculó el área bajo la curva de respuesta de LH posterior a la infusión de naloxona.

Resultados: los pacientes con oligospermia normogonadotrópica ($p < 0.01$) tuvieron menor concentración de testosterona libre y elevada concentración de estradiol, en comparación con los sujetos del grupo control (1 vs 3: $p = 0.01$; 2 vs 3: $p = 0.001$). La frecuencia pulsátil en el grupo 1 fue de $3.33 \pm 0.57/8$ horas; en el grupo 2, de $4 \pm 1/8$ horas y en el grupo 3, de $2.66 \pm 0.57/8$ horas (2 vs 3 $p < 0.01$; 2 vs 1 $p = 0.05$). El área bajo la curva, después de la infusión de naloxona, fue $19,300.44 \pm 11,403.31$ en el grupo 1; en el grupo 2 de $5,696.09 \pm 1,753.44$ y $3,080.97 \pm 1,159.78$ en el grupo 3 (1 vs 3 Anova $p = 0.01$).

Conclusiones: los pacientes con oligospermia normogonadotrópica tuvieron insuficiencia pantedicular subclínica. El tono de opioides endógenos aumenta en las etapas iniciales de la disfunción testicular, pero disminuye con la evolución de dicha afección.

Palabras clave: oligospermia normogonadotrópica, secreción pulsátil de LH, opioides endógenos.

ABSTRACT

Objective: To compare the pulsatile release of LH, the tone of endogenous opioids and the mass of LH secreted after a naloxone infusion in healthy subjects and patients with normogonadotropic oligospermia (NO) in a model of progressive testicular damage.

Patients and methods: Pulsatile secretion of LH was analyzed in a period of 8 hours in a group of healthy subjects (group 3, n=5), in patients with NO and FSH/LH ratio <1.6 (group 1, n=5) and in patients with NO and FSH/LH ratio >1.6 (group 2, n=5). The area under the curve of LH response after naloxone infusion was also calculated.

Results: Free serum testosterone concentration was lower ($p < 0.01$) and estradiol concentration higher in patients with NO than control subjects (1 vs 3: $p = 0.01$; 2 vs 3: $p = 0.001$). Frequency of pulses in group 1 was $3.33 \pm 0.57/8$ h, in group 2: $4 \pm 1/8$ h; and in group 3: $2.66 \pm 0.57/8$ h (2 vs 3 $p < 0.01$; 2 vs 1 $p = 0.05$). The area under the curve after naloxone infusion was $19,300.44 \pm 11,403.31$ in group 1, $5,696.09 \pm 1,753.44$ in group 2; and $3,080.97 \pm 1,159.78$ in group 3 (1 vs 3 Anova $p = 0.01$).

Conclusions: The data indicate that patients with NO have a subclinical pantedicular failure and that the opioid tone is increased at the initial phase of testicular dysfunction, but it decreases at more advanced stages of testicular damage.

Key words: normogonadotropic oligospermia, pulsatile secretion of LH, endogenous opioids.

RÉSUMÉ

Objectif : comparer la sécrétion pulsatile de LH, le tonus d'opioïdes endogènes et la concentration de LH provoquée par l'infusion de naloxone dans des patients avec oligospermie normogonadotrophique (ON), comme modèle de dommage testiculaire progressif.

Patients et méthodes : on a comparé la sécrétion pulsatile de LH pendant huit heures dans des individus sains fertiles (groupe 3, n=5), patients avec oligospermie normogonadotrophique et relation FSH/LH < 1.6 (groupe 1, n=5) ; et patients avec ON et relation FSH/LH > 1.6 (groupe 2, n=5). En plus, on a calculé l'aire sous la courbe de réponse de LH postérieure à l'infusion de naloxone.

Résultats : les patients avec oligospermie normogonadotrophique ($p < 0.01$) ont eu une concentration mineure de testostérone libre et concentration d'oestradiol élevée, en comparaison avec les individus du groupe contrôle (1 vs 3 : $p = 0.01$; 2 vs 3 : $p = 0.001$). La fréquence pulsatile dans le groupe 1 a été de $3.33 \pm 0.57/8$ heures ; dans le groupe 2, de $4 \pm 1/8$ heures et dans le groupe 3, de $2.66 \pm 0.57/8$ heures (2 vs 3 $p < 0.01$; 2 vs 1 $p = 0.05$). L'aire sous la courbe, après l'infusion de naloxone, a été 19300.44 ± 11403.31 dans le groupe 1 ; 5696.09 ± 1753.44 dans le groupe 2 et 3080.97 ± 1159.78 dans le groupe 3 (1 vs 3 Anova $p = 0.01$).

Conclusions : les patients avec oligospermie normogonadotrophique ont eu insuffisance testiculaire totale subclinique. Le tonus d'opioïdes endogènes augmente dans les étapes initiales de la dysfonction testiculaire, mais diminue avec l'évolution de cette affection.

Mots-clés : oligospermie normogonadotrophique, sécrétion pulsatile de LH, opioïdes endogènes.

RESUMIO

Objetivo: comparar a secreção pulsátil de LH o tom de opioides endogênicos e a massa / concentração de LH ocasionada pela infusão de naloxona em pacientes com oligospermia normogonadotrópica (ON), como modelo de prejuízo testicular progressivo.

Pacientes e métodos: comparou-se a secreção pulsátil de LH durante oito horas em sujeito são férteis (grupo 3, n=5), pacientes com oligospermia normogonadotrópica e relação FSH/LH <1,6 (grupo 1, n=5); e pacientes com ON e relação FSH/LH >1,6 (grupo 2, n=5). Além do mais, calculou-se a área sob a curva de resposta de LH posterior à infusão de naloxona.

Resultados: os pacientes com oligospermia normogonadotrópica ($p < 0,01$) tiveram menor concentração de testosterona livre e elevada concentração de estradiol, comparada com os sujeitos do grupo controle (1 vs 3: $p = 0,01$; 2 vs 3: $p = 0,001$). A frequência pulsátil no grupo 1 foi de $3,33 \pm 0,57/8$ horas; no grupo 2, de $4 \pm 1/8$ horas e no grupo 3, de $2,66 \pm 0,57/8$ horas (2 vs 3 $p < 0,01$; 2 vs 1 $p = 0,05$). A área sob a curva, depois da infusão de naloxona, foi $19300,44 \pm 11403,31$ no grupo 1; $5696,09 \pm 1753,44$ no grupo 2 e $3080,97 \pm 1159,78$ no grupo 3 (1 vs 3 Anova $p = 0,01$).

Conclusões: os pacientes com oligospermia normogonadotrópica tiveram insuficiência pantesticular subclínica. O tom de opioides endogênicos aumenta nas etapas iniciais da disfunção testicular, mas diminui com a evolução de tal doença.

Palavras chave: oligospermia normogonadotrópica, secreção pulsátil de LH, opioides endogênicos.

La secreción pulsátil de hormona luteinizante (LH) en pacientes con oligospermia normogonadotrópica (también llamada idiopática) muestra datos controversiales, pues varios autores reportan que dicha secreción es menor en los sujetos con este padecimiento,^{1,2} mientras que otros señalan que la frecuencia de pulsos es mayor.^{3,4}

Un estudio en pacientes con azoospermia normogonadotrópica y hallazgos histológicos de daño testicular demostró la relación directamente proporcional entre el grado de daño testicular y la concentración sérica de FSH.⁵ En particular, la relación inversa de LH/FSH es un marcador de daño temprano de la función tubular, aun con concentraciones hormonales dentro de los límites normales. Tal estudio comprobó, al realizar el desafío con citrato de clomifeno, que la insuficiencia tubular compensada ocurre por la elevada secreción de FSH y por diferencias en la relación FSH/LH cuando es >1.6. Algo similar se observa en pacientes con oligospermia idiopática cuando se determina la secreción de gonadotropinas, después de la administración de

la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), lo que supone que en este padecimiento existe un estado subclínico de insuficiencia testicular.⁶

La regulación en la secreción de LH tiene complejidades ocasionadas por la retroalimentación negativa de los corticosteroides sexuales en el hipotálamo y en la hipófisis, y por la retroalimentación negativa mediante la vía del sistema de opioides endógenos.^{7,8} Este sistema se activa durante la pubertad, pues en esta etapa aparece la respuesta de LH a los agentes que bloquean la función de los opioides endógenos.⁹

El propósito de este estudio fue analizar la secreción pulsátil de LH ocasionada por la infusión de naloxona y conocer si la secreción y el tono de los opioides endógenos cambian en relación con el grado de daño testicular.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se seleccionaron tres grupos de cinco pacientes que acudieron al servicio de consulta externa de la Clínica de Andrología del INPer. En el grupo 1 (n=5) se incluyeron sujetos con oligospermia normogonadotrópica con concentraciones espermáticas de 10 a 20 millones/mL (relación FSH/LH <1.6), en el grupo 2 (n=5) hubo sujetos con oligospermia normogonadotrópica con concentraciones espermáticas <5 millones/mL y relación FSH/LH >1.6, y el grupo 3 (n=5) se conformó por sujetos sanos con calidad seminal normal y relación FSH/LH <1.6. En todos los casos se excluyeron las siguientes alteraciones: enfermedad sistémica, desnutrición, ejercicio intenso, endocrinopatías y

* Clínica de Andrología, Instituto Nacional de Perinatología, México, DF.

Correspondencia: Dr. Carlos Villanueva Díaz. Montes Urales 800, 4° piso, Torre de Investigación, colonia Lomas Virreyes, CP 11000, México, DF. Tel.: (55) 5520-9900 ext. 363, 365.

E-mail: villanuevacmx@yahoo.com.mx

Recibido: octubre, 2006. Aceptado: marzo, 2007.

Este artículo debe citarse como: Villanueva DCA, Pineda VR, Echavarría SMG, Juárez BA. Cambio en la secreción pulsátil y en la respuesta de la hormona luteinizante a la naloxona en relación con el daño testicular. Ginecol Obstet Mex 2007;75:200-4.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

prescripción de medicamentos con efecto gonadal, hipofisario o en el sistema nervioso central. Los sujetos firmaron el consentimiento antes de iniciar el estudio. El protocolo fue aprobado por el comité de investigación y ética de la institución.

Obtención de muestras

Se citó a los pacientes en condición de ayuno a las 7:30 h. Después de permanecer 15 minutos en reposo, se les canalizó una vena del antebrazo con un catéter endovenoso que se mantuvo permeable con solución salina al 0.9% y flujo aproximado de 0.5 mL/min. Posteriormente, se lavó el catéter para evitar el fenómeno de dilución y se obtuvieron muestras de 1 mL de sangre venosa (tubos sin anticoagulante) cada 15 minutos durante ocho horas. Al término de este periodo se administraron 2 mg/hora de naloxona y se obtuvieron muestras de 1 mL de sangre venosa cada 15 minutos durante 2 horas.

Las muestras se centrifugaron a 1,500 rpm, a temperatura ambiente, durante 20 minutos para separar el suero; después, se almacenaron en congelación (-20°C) durante dos meses, hasta el momento de realizar las determinaciones hormonales.

Determinaciones hormonales

Para disminuir la variación interensayo, se descongelaron las muestras de cada paciente para analizarlas en la misma prueba. La cuantificación de LH, en muestras por duplicado, se hizo por análisis inmunoradiométrico con estuches comerciales de Amersham (Amersham, New Haven CT, EUA, rango de la curva control de 0.5 a 30 mUI/mL). El coeficiente de variación intraensayo fue de 4.5%, cuyo cálculo se hizo a partir de los valores de dos sueros problema.

Análisis estadístico

El análisis de pulsatilidad de LH se realizó mediante la prueba de la *t* de Student con distribución normal de los duplicados. En el programa se calculó el número de picos y valles de secreción hormonal que ocurrieron durante el muestreo.¹⁰

La respuesta de LH a la naloxona se evaluó de dos formas diferentes: el tiempo en el que apareció la concentración máxima y el área bajo la curva, mediante la fórmula del trapecioide. La diferencia entre grupos

se obtuvo con análisis de variancia (Anova) en el programa "Statgraphics plus".

RESULTADOS

Los grupos con oligospermia normogonadotrópica se compararon en relación con la edad y tiempo de esterilidad. La concentración basal de LH fue mayor en los pacientes con FSH/LH >1.6; sin embargo, no fue estadísticamente significativa en los pacientes con FSH/LH <1.6 (grupo 2: 4.63 ± 0.97 vs grupo 1: 3.63 ± 1.29 ; $p=0.12$). La concentración de LH en los pacientes del grupo 2 fue significativamente mayor que en los del grupo control (4.63 ± 0.97 mUI/mL vs 2.43 ± 0.77 mUI/mL; $p=0.005$). La concentración basal de FSH también fue mayor en los grupos con daño testicular, en comparación con los sujetos del grupo control (grupo 1: 6.81 ± 4.76 mUI/mL, grupo 2: 7.56 ± 6.50 mL, grupo 3: 3.16 ± 1.44 mUI/mL; 1 vs 3: $p=0.05$; 2 vs 3: $p=0.01$). La concentración de testosterona libre fue menor en los dos grupos con insuficiencia testicular; en el grupo 1 los valores fueron de 24.53 ± 5.6 pg/mL; en el grupo 2, de 18.33 ± 4.09 pg/mL y en el grupo control, de 36.87 ± 3.26 pg/mL (1 y 2 vs 3, $p=0.01$). No obstante, la concentración sérica de estradiol fue mayor en los pacientes con insuficiencia testicular (grupo 1: 43.21 ± 5.65 , grupo 2: 63 ± 21.48 , grupo 3: 29.76 ± 6.23 ; 1 vs 3, $p=0.01$; 2 vs 3, $p=0.001$).

La frecuencia de pulsos de LH en el grupo 1 fue de $3.33 \pm 0.57/8$ h; en el grupo 2, de $4 \pm 1/8$ h y en el grupo 3, de $2.66 \pm 0.57/8$ h (2 vs 3, $p < 0.01$; 2 vs 1, $p=0.05$). No se encontraron diferencias entre los grupos en relación con amplitud o altura de los picos o en el intervalo interpico.

Del grupo 1 cuatro sujetos tuvieron curvas bimodales de secreción de LH con incrementos a los 15 y 90 minutos, las cuales fluctuaron entre 150 y 350% sobre el valor basal. En el otro sujeto se incrementó a 350% después de 45 minutos de aplicar la infusión. En el grupo 2 (FSH/LH >1.6), el incremento de LH ocurrió 60 a 75 minutos después de la infusión de naloxona, con 170 a 400% sobre el valor basal. En el grupo de sujetos sanos (grupo 3), el incremento de LH apareció alrededor de 45 minutos de recibir la naloxona, con 250 a 350% sobre el valor basal.

El área bajo la curva de respuesta a la aplicación de naloxona fue $19,300.44 \pm 11,403.31$ para el grupo 1, $5,696.09 \pm 1,753.44$ para el grupo 2 y $3,080.97 \pm 1,159.78$ para el grupo 3 (1 vs 3 Anova, $p = 0.01$).

DISCUSIÓN

Debido a las restricciones éticas que implica realizar la biopsia testicular en pacientes con oligospermia, nos preguntamos si es posible asegurar que este modelo de evolución de daño testicular representa la afección progresiva del órgano. Sin embargo, ya se demostró la relación inversamente proporcional entre el daño testicular y la concentración de espermatozoides en el semen.¹¹ Además, el gradiente de concentración de hormonas testiculares e hipofisarias de los grupos de estudio muestra que con el propósito principal de esta investigación se logró.

Los resultados indican que la concentración basal de FSH aumenta en relación con el grado de daño testicular, lo cual refleja la disfunción de las células de Sertoli en los pacientes con oligospermia normogonadotrópica. Lo anterior se basa en que, aunque no se determinaron las concentraciones de inhibina sérica, existe relación inversamente proporcional entre la concentración de inhibina B en el suero y la concentración de FSH. Se ha comprobado que la respuesta de inhibina B a la administración de gonadotropinas o de hCG es baja en pacientes con oligospermia idiopática.¹²⁻¹⁴ En estos pacientes, el decremento en la producción espermática, relacionada con concentraciones elevadas de FSH, indica el daño en las células de Sertoli, además de alteraciones en el epitelio germinal.¹⁵

La disminución en la concentración de testosterona y el incremento de estradiol demuestran la insuficiencia subclínica de la función endocrina testicular en los pacientes con oligospermia normogonadotrópica. Estas alteraciones pueden deberse a deficiencias en la función de las células de Leydig, las cuales se relacionan directamente con la vía esteroidogénica (encargada de la producción de testosterona) y con el incremento en la aromatización de andrógenos, pues dichas células son las únicas que realizan esta función en los testículos.¹⁶ Con base en esto, se ha observado que la respuesta de la testosterona a la gonadotropina coriónica es menor en los pacientes con oligospermia idiopática.¹⁷

En los pacientes con oligospermia normogonadotrópica, las alteraciones subclínicas (función endocrina testicular) se relacionan con incremento en la frecuencia de secreción pulsátil de LH, lo cual indica que el hipotálamo y la hipófisis son muy sensibles a la retroalimentación negativa que ejercen los corticoesteroides sexuales;^{18,19} sin embargo, no se puede saber cómo influyen la disminución de testosterona libre o el incremento de estradiol, en forma aislada o combinada, en la regulación de las gonadotropinas secretadas.

En el grupo de sujetos oligospermicos con FSH/LH <1.6 , la masa / concentración de LH liberada por la infusión de naloxona fue mayor que en los pacientes con FSH/LH > 1.6 . Esto se explica de dos maneras diferentes:

1) La disminución en la concentración de testosterona libre produce la secreción no controlada de opioides endógenos, mientras que el incremento en la frecuencia de pulsos de GnRH agota la reserva hipofisaria de LH. Esta hipótesis explica por qué la respuesta a la naloxona está ausente en pacientes agonádicos o en los que tienen síndrome de Klinefelter y no se modifica con la prescripción de testosterona.^{20,21}

2) Los efectos no son dependientes de opioides endógenos,²² sino que pueden atribuirse a los efectos regulatorios divergentes que ejercen los andrógenos y los estrógenos en el hipotálamo y la hipófisis.²³ Si esta hipótesis es cierta, es probable que en los pacientes con oligospermia grave y con elevación de ambas gonadotropinas, la respuesta de LH a la naloxona sea nula.

La trascendencia clínica de este estudio implica aspectos de diagnóstico y tratamiento en los pacientes con oligospermia idiopática. En lo que a diagnóstico se refiere, los datos indican que aun con concentraciones normales de gonadotropinas, existe insuficiencia pan-testicular incipiente en los sujetos con oligospermia normogonadotrópica y por lo tanto, el diagnóstico de oligospermia idiopática tendrá que demostrar, además, que la relación LH/FSH esté conservada y su respuesta hormonal sea normal (pruebas de desafío con GnRH o con citrato de clomifeno). En cuanto al tratamiento, los hallazgos son controvertidos por la respuesta en la calidad seminal de los pacientes con oligospermia de varios estudios.²⁴⁻²⁶

Los pacientes con oligospermia normogonadotrópica representaron un grupo heterogéneo de sujetos con daño testicular incipiente o inicial; esto explica las diferencias encontradas en el tratamiento de dicha enfermedad.

REFERENCIAS

1. Wagner TOF, Brabant G, Warsch F, von zur Muhlen A. Slow pulsing LH in oligospermia. *Acta Endocrinol* 1984;105(Suppl 264):152-7.
2. Gross KM, Matsumoto AM, Southworth MB, Bremner WJ. Evidence for decreased luteinizing hormone-releasing hormone pulse frequency in men with selective elevations of follicle stimulating hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;60:197-203.
3. Bennet A, Bujan L, Plantavid M, Barbe P, et al. Luteinizing hormone pulse frequency and *in vitro* bioactivity in male idiopathic infertility. *Fertil Steril* 1991;55:612-8.
4. Levalle OA, Aszenmil G, Espinola B, Romo A, et al. Altered pulsatile pattern of luteinizing hormone in men with idiopathic normogonadotropic oligospermia. *Fertil Steril* 1988;50(2):337-42.
5. Echavarría-Sánchez M, Barrón-González A, Torres-Martínez A, Carranza-Lira S, et al. Cambios en la reserva hipofisaria de gonadotropinas en relación al daño testicular. *Perinatol Reprod Hum* 1994;8:83-90.
6. Fujisawa M, Kansaki M, Hayashi A, Tanaka H, et al. Alteration of the hypothalamus-pituitary-testis axis in oligozoospermic men with normal gonadotropin levels. *Int J Urol* 1995;2(4):273-6.
7. Finkelstein JS, Whitcomb RW, O'Dea LS, Longcope C, et al. Sex steroid control of gonadotropin secretion in the human male. I. Effects of testosterone administration in normal and gonadotropin-releasing hormone-deficient men. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73(3):609-20.
8. Kletter JB, Foster CM, Beitins IZ, Marshall JC, Kelch RP. Acute effects of testosterone infusion and naloxone on luteinizing hormone secretion in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75(5):1215-9.
9. Ulloa-Aguirre A, Mendez JP, Gonzalez-Castillo A, Carranza-Lira S, et al. Changes in the responsiveness of luteinizing hormone secretion to infusion of the opioid antagonist naloxone throughout male sexual maturation. *Clin Endocrinol* 1988;29(1):17-28.
10. Veldhuis JD, Johnson ML. Cluster analysis: a simple, versatile and robust algorithm for endocrine pulse detection. *Am J Physiol* 1986;250(4 pt 1):E486-93.
11. Silber SJ, Rodriguez-Rigau LJ. Quantitative analysis of testicle biopsy: determination of partial obstruction and prediction of sperm count after surgery for obstruction. *Fertil Steril* 1981;36(4):480-5.
12. Yalti S, Gurbuz B, Ficioglu C. Serum levels of inhibin B in men and their relationship with gonadal hormones, testicular volume, testicular biopsy results and sperm parameters. *J Obstet Gynaecol* 2002;22(6):649-54.
13. Kinniburgh D, Anderson RA. Differential patterns of inhibin secretion in response to gonadotrophin stimulation in normal men. *Int J Androl* 2001;24(2):95-101.
14. Kubini K, Zachmann M, Albers N, Hiort O, et al. Basal inhibin B and the testosterone response to human chorionic gonadotropin correlate in prepubertal boys. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(1):134-8.
15. Foresta C, Betella A, Moro E, Roverato A, et al. Sertoli cell function in patients with and without microdeletions of the azoospermia factors on the Y chromosome long arm. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(6):2414-9.
16. Brodie A, Inkster S, Yue W. Aromatase expression in the human male. *Mol Cell Endocrinol* 2001;178(1-2):23-28.
17. Scaglia HE, Carrere CA, Mariani VA, Zylbersztein CC, et al. Altered testicular hormone production in infertile patients with idiopathic oligoasthenospermia. *J Androl* 1991;12(5):273-80.
18. Hayes FJ, Seminara SB, Decruz S, Boepple PA, Crowley WF Jr. Aromatase inhibition in the human male reveals a hypothalamic site of estrogen feedback. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(9):3027-35.
19. Kerrigan JR, Veldhuis JD, Rogol AD. Androgen-receptor blockade enhances pulsatile luteinizing hormone production in late pubertal males: evidence for a hypothalamic site of physiologic androgen feedback action. *Pediatr Res* 1994;35(1):102-6.
20. De Feo ML, Maggi M, Guardabasso V, Rodbard D, et al. Naloxone administration does not affect gonadotropin secretion in agonal men either basally or during testosterone treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;63(1):257-61.
21. Forti G, De Feo ML, Maggi M, Genazzani AD, et al. Naloxone administration does not affect gonadotropin secretion in patients with Klinefelter's syndrome. *Acta Endocrinol* 1987;115(3):320-4.
22. Kletter GB, Foster CM, Beitins IZ, Marshall JC, Kelch RP. Acute effects of testosterone infusion and naloxone on luteinizing hormone secretion in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75(5):1215-9.
23. Spijstra JJ, Spinder T, Gooren L, van Kessel H. Divergent effects of the antiestrogen tamoxifen on luteinizing hormone (LH) pulse frequency, but not on basal LH levels and LH pulse amplitude in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66(2):355-60.
24. Wang C, Chan CW, Wong KK, Yeung KK. Comparison of the effectiveness of placebo, clomiphene citrate, mesterolone, pentoxifylline, and testosterone rebound therapy for the treatment of idiopathic oligospermia. *Fertil Steril* 1983;40(3):358-65.
25. Vandekerckhove P, Lilford R, Vail A, Hughes E. Clomiphene or tamoxifen for idiopathic oligo/asthenospermia. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;(2):CD000151.
26. Vandekerckhove P, Lilford R, Vail A, Hughes E. Androgens versus placebo or no treatment for idiopathic oligo/asthenospermia. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;(2):CD000150.