



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ
ΟΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**«Η επίδραση χαμηλών δόσεων αναστολέων της Φωσφοδιεστεράσης 5
σε ποιοτικές και ποσοτικές παραμέτρους του σπέρματος»**

**ΚΟΥΚΟΣ ΑΘ. ΣΩΤΗΡΙΟΣ
ΙΑΤΡΟΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΟΥΡΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ
ΟΥΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**«Η επίδραση χαμηλών δόσεων αναστολέων της Φωσφοδιεστεράσης 5
σε ποιοτικές και ποσοτικές παραμέτρους του σπέρματος»**

**ΚΟΥΚΟΣ ΑΘ. ΣΩΤΗΡΙΟΣ
ΙΑΤΡΟΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΟΥΡΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020

“Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)”.

Ημερομηνία αίτησης του κ. Κούκου Σωτηρίου: 19-1-2010

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 677^α/9-2-2010

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Σοφικίτης Νικόλαος, Καθηγητής Ουρολογίας του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας

Μέλη

Γιαννάκης Δημήτριος, Επίκουρος Καθηγητής Ουρολογίας του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας

Μπαλτογιάννης Δημήτριος, Επίκουρος Καθηγητής Ουρολογίας του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 26-2-2010

«Η επίδραση χαμηλών δόσεων αναστολέων της Φωσφοδιεστεράσης 5 σε ποιοτικές και ποσοτικές παραμέτρους του σπέρματος»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 908^α/17-12-2019

Γιαννάκης Δημήτριος	Καθηγητής Ουρολογίας επί του Επιστημονικού Πεδίου της Φυσιοπαθολογίας του Ουροποιητικού Συστήματος και της Ενδοσκοπικής Ουρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γκλαντζούνης Γεώργιος	Καθηγητής Χειρουργικής-Μεταμοσχεύσεων του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μακρυδήμας Γεώργιος	Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Παρασκευαΐδης Ευάγγελος	Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Πασχόπουλος Μηνάς	Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Σοφικίτης Νικόλαος	Καθηγητής Ουρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μπαλτογιάννης Δημήτριος	Μπαλτογιάννης Δημήτριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ουρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 28-1-2020

Ιωάννινα 26-2-2020

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Άννα Μπατισιάτου

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας



*Στην γυναίκα μου για την συμπαράστασή της στο έργο μου
και στα παιδιά μου για τις ώρες που με στερηθήκαν...*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για να καταφέρω να πραγματοποιήσω την εργασία αυτή πολύτιμη ήταν η βοήθεια πολλών ατόμων που στάθηκαν δίπλα μου. Θεωρώ λοιπόν το λιγότερο που μπορώ να κάνω για αυτούς να τους αναφέρω και να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου.

Πρώτους απ' όλους θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Ουρολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και Διευθυντή της Ουρολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου κ. Σοφικίτη Νικόλαο που μου έδωσε την μεγάλη ευκαιρία να κάνω αυτή τη διατριβή. Ήταν δάσκαλός μου στην κλινική, στο χειρουργείο, στα εργαστήρια και στις πρώτες μου ερευνητικές μελέτες. Μου πρόσφερε την δυνατότητα να σχεδιάσω την μελέτη μαζί του, με την σχολαστικότητα και την υπομονή που τον χαρακτηρίζει. Με διακριτικότητα μου παρείχε διαρκή ενθάρρυνση και με καθοδηγούσε στην έρευνα και συγγραφή της μελέτης. Συγκρότησε τα μέλη της επιτροπής επιλέγοντας δασκάλους με σύνεση και γνώση για να με συμβουλεύουν στα βήματά μου.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον κ. Γιαννάκη Δημήτριο, Καθηγητή Ουρολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων που με την μεγάλη κλινική του γνώση, την οργανωτικότητα και την υπομονή του με καθοδηγούσε καθ' όλη την διάρκεια της έρευνας.

Δεν θα μπορούσα να μην αναφερθώ στον κ. Μπαλτογιάννη Δημήτριο, Αναπληρωτή Καθηγητή Ουρολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων που με υπομονή επέβλεπε το έργο μου δίνοντάς μου σημαντικές επιστημονικές, ερευνητικές και συγγραφικές συμβουλές.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

<i>Εισαγωγή</i>	17
1. Στοιχεία ανατομικής του ανδρικού ανατομικού συστήματος	19
1.1. Όρχις	20
1.2. Επιδιδυμίδα	24
1.3. Σπερματικός πόρος	29
1.4. Σπερματοδόχος κύστη	30
1.5. Εκσπερματικός πόρος	31
1.6. Βουμβουρηθραίοι αδένες	31
1.7. Προστάτης αδένας	32
1.8. Πέος	37
2. Στοιχεία εμβρυολογίας του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος	42
2.1. Γονάδες	43
2.2. Γεννητικοί πόροι	44
2.3. Εξωτερικά γεννητικά όργανα	46
3. Κάθοδος του όρχεως	48
3.1. Εξελικτικές θεωρίες της καθόδου των όρχεων στα θηλαστικά	48
3.1.1. Η θεωρία της θερμοκρασιακά εξαρτώμενης σπερματογένεσης	48
3.1.2. Η θεωρία των ρυθμών μετάλλαξης	50
3.1.3. Η θεωρία της επίδειξης των όρχεων	50
3.1.4. Η θεωρία της ψυχρής συντήρησης	51
3.1.5. Η θεωρία της εκπαίδευσης των όρχεων	51
3.2. Φυσιολογία της καθόδου του όρχεως στα θηλαστικά με οσχεϊκούς όρχεις	52
3.3. Διακοιλιακή φάση της καθόδου του όρχεως.....	55
3.3.1. Υποστροφή του κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου	55
3.3.2. Η αντίδραση διόγκωσης του ορχικού οίακα	57
3.3.3. Ενδείξεις μη ανδρογονοεξαρτώμενου ελέγχου της διακοιλιακής φάσης της	57

3.3.4.	<i>Ενδείξεις του αμφιβόλου ρόλου της μυλλέριας ορμόνης στην κάθοδο των</i>	58
3.3.5.	<i>Ο ρόλος της πρωτεΐνης Insulin-like 3</i>	60
3.3.6.	<i>Ο ρόλος των γονιδίων Homeobox</i>	61
3.4.	<i>Βουβωνοσχεϊκή φάση της καθόδου του όρχεως</i>	62
3.4.1.	<i>Ο ρόλος της κοιλιακής πίεσης του οίακα</i>	62
3.4.2.	<i>Η βουβωνοσχεϊκή φάση της καθόδου του όρχεως εξαρτάται από τα</i>	63
3.4.3.	<i>Ο ρόλος της καθόδου της επιδιδυμίδας</i>	63
3.4.4.	<i>Ο ρόλος της ελντροειδούς απόφυσης</i>	64
3.4.5.	<i>Η υπόθεση του μηρογενετικού νεύρου</i>	64
4.	<i>Φυσιολογία της στύσης</i>	66
4.1.	<i>Φάσεις της στύσης</i>	68
5.	<i>Σπερματογένεση</i>	70
5.1.	<i>Σπερματογονιογένεση</i>	71
5.2.	<i>Μείωση</i>	73
5.3.	<i>Σπερμιογένεση</i>	76
5.4.	<i>Απελευθέρωση των σπερματοζωαρίων στον αυλό</i>	80
5.5.	<i>Ο ρόλος των κυττάρων Sertoli στη σπερματογένεση</i>	81
5.6.	<i>Ο ρόλος των περισωληναριακών μυοειδών κυττάρων</i>	85
5.7.	<i>Δυναμική των κυττάρων Leydig και στεροειδογένεση</i>	85
5.8.	<i>Ρύθμιση της σπερματογένεσης</i>	87
5.8.1.	<i>Ενδοκρινικά συστήματα ελέγχου</i>	88
5.8.2.	<i>Ενδογενές-τοπικό σύστημα ελέγχου</i>	89
5.8.3.	<i>Στεροειδείς Ορμόνες</i>	90
5.8.4.	<i>Παράγοντας insulin-like 3</i>	92
5.8.5.	<i>Αυξητικοί παράγοντες</i>	93
5.8.6.	<i>Παράγοντες του ανοσοποιητικού συστήματος</i>	94
6.	<i>Αίτια ανδρικής υπογονιμότητας</i>	96
7.	<i>Διαγνωστική προσέγγιση του υπογόνιμου άνδρα</i>	99
7.1.	<i>Ιστορικό</i>	99

7.2.	Φυσική εξέταση	100
7.3.	Εργαστηριακές εξετάσεις	102
7.3.1.	Εξετάσεις σπέρματος ρουτίνας	102
7.3.2.	Προαιρετικές εξετάσεις σπέρματος	105
7.3.3.	Ερευνητικές εξετάσεις σπέρματος	107
7.3.4.	Ορμονικός έλεγχος	109
7.3.5.	Χρωμοσωμικός έλεγχος	111
7.3.6.	Απεικονιστικός έλεγχος	114
7.3.7.	Βιοψία όρχεων	114
8.	Θεραπευτική προσέγγιση της ανδρικής υπογονιμότητας	116
8.1.	Χειρουργική	116
8.1.1.	Χειρουργική αντιμετώπιση αποφρακτικής αζωοσπερμίας	116
8.1.2.	Χειρουργική αντιμετώπιση κισσοκήλης	117
8.1.3.	Χειρουργική αντιμετώπιση της κρυπορχίας	119
8.1.4.	Βιοψία όρχεως	121
8.2.	Φαρμακευτική	122
8.2.1.	Ορμονική θεραπεία	122
8.2.2.	Μη ορμονική θεραπεία	123
9.	Φωσφοδιεστεράσες (PDEs)	125
9.1.	Η δράση των PDEs στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα	125
9.2.	Ο ρόλος των PDE-5 αναστολέων στους ανδρικούς εκκριτικούς γεννητικούς	126
9.2.1.	Η δράση των PDE-5 αναστολέων στην επιδιδυμίδα	126
9.2.2.	Η δράση των PDE-5 αναστολέων στις σπερματοδόχους κύστεις	126
9.2.3.	Η δράση των PDE-5 αναστολέων στους σπερματικούς πόρους	126
9.2.4.	Η δράση των PDE-5 αναστολέων στον προστάτη	127
9.3.	Η επίδραση των PDE-5 αναστολέων στις παραμέτρους του σπέρματος	128
9.3.1.	Μελέτες In vitro	128
9.3.2.	Μελέτες In vivo	131
10.	Σκοπός της μελέτης	135

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

<i>11.</i>	<i>Υλικά και μέθοδοι</i>	<i>139</i>
<i>12.</i>	<i>Μεθοδολογία</i>	<i>139</i>
<i>13.</i>	<i>Στατιστική ανάλυση</i>	<i>140</i>
<i>14.</i>	<i>Αποτελέσματα</i>	<i>141</i>
<i>15.</i>	<i>Συζήτηση</i>	<i>149</i>
<i>16.</i>	<i>Τελικά συμπεράσματα</i>	<i>153</i>
<i>17.</i>	<i>Περίληψη</i>	<i>155</i>
<i>18.</i>	<i>Abstract</i>	<i>157</i>
<i>19.</i>	<i>Βιβλιογραφία</i>	<i>158</i>

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

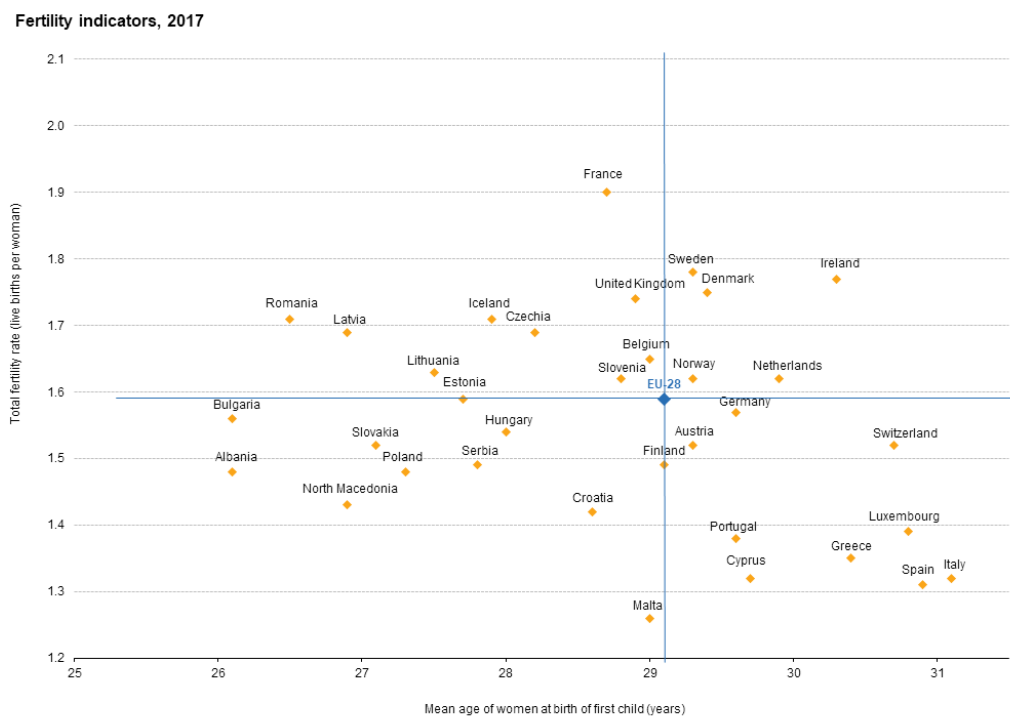
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Από το 1948 που έγινε αποδεκτός από την Παγκόσμια Διάσκεψη Υγείας, ο ορισμός της υγείας παραμένει αμετάβλητος. Σύμφωνα με τον ορισμό αυτόν, η υγεία είναι μια κατάσταση πλήρους φυσικής, πνευματικής και κοινωνικής ευεξίας και όχι απλώς η απουσία ασθένειας ή αναπηρίας. Υπό την ευρεία έννοια του όρου, η υπογονιμότητα, αν και δεν παρουσιάζει ιδιαίτερα συμπτώματα και οι «ασθενείς» δεν φαίνεται να «πάσχουν» από κάποιο εμφανές νόσημα, αποτελεί πράγματι μια φυσική, πνευματική και κοινωνική διαταραχή της υγείας.

Ως υπογονιμότητα ορίζεται η αδυναμία ενός ζευγαριού να επιτύχει σύλληψη και να αποκτήσει τέκνο μετά από τουλάχιστον ένα χρόνο τακτικών σεξουαλικών επαφών χωρίς προφύλαξη ή χρήση άλλων αντισυλληπτικών μέσων. Σύμφωνα με τις επιδημιολογικές μελέτες του Π.Ο.Υ., εκτιμάται ότι το 10-12% περίπου των ζευγαριών που βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία αντιμετωπίζουν κάποιας μορφής δυσκολία στην προσπάθειά τους να αποκτήσουν απογόνους. Σε παγκόσμια κλίμακα, τα υπογόνιμα ζευγάρια υπολογίζονται σε περίπου 80-90 εκατομμύρια, ενώ στον αριθμό αυτόν προστίθενται ετησίως ακόμη 2 περίπου εκατομμύρια νέα ζευγάρια, με μια αυξητική τάση να παρατηρείται κάθε έτος. Αν και δεν υπάρχουν ακόμη πλήρεις επιδημιολογικές μελέτες, στην Ελλάδα εκτιμάται ότι περίπου 300.000 ζευγάρια δυσκολεύονται να αποκτήσουν παιδιά. Δηλαδή ένα στα έξι ζευγάρια που βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία στην Ελλάδα αντιμετωπίζει σήμερα πρόβλημα αναπαραγωγής. Μάλιστα, σύμφωνα με την Eurostat, η Ελλάδα είναι μια από τις χώρες της ΕΕ με τα χαμηλότερα ποσοστά γονιμότητας, καθώς οι Ελληνίδες γεννούν κατά μέσο όρο 1,35 παιδιά. Η συχνότητα της υπογονιμότητας μπορεί να ποικίλλει από πληθυσμό σε πληθυσμό και από περιοχή σε περιοχή (**Εικόνα 1**).

Η υπογονιμότητα είναι μια πολυσύνθετη και πολυπαραγοντική κατάσταση για την οποία μπορεί να ευθύνεται κάποιος ανδρικός παράγοντας, κάποιος γυναικείος παράγοντας, ένας συνδυασμός αυτών ή ένας αδιευκρίνιστος – αδιάγνωστος παράγοντας. Η ανδρική υπογονιμότητα αποτελεί όχι μόνο ένα προσωπικό, αλλά και ένα κοινωνικό πρόβλημα. Αν και τα τελευταία χρόνια η υποβοηθούμενη αναπαραγωγή συνέβαλε αρκετά στο να δώσει λύση σε κάποια ζευγάρια, ένας μεγάλος αριθμός υπογόνιμων ανδρών δεν καταφέρνει να αποκτήσει τα δικά του βιολογικά παιδιά. Η έλλειψη ενός αποδεκτού

αποτελεσματικού φαρμακευτικού παράγοντα για την αντιμετώπιση της ανδρικής υπογονιμότητας καθιστά επιτακτική την ανάγκη για ανάπτυξη νέων φαρμακευτικών ουσιών που μπορούν να βοηθήσουν στην αντιμετώπιση της ανδρικής υπογονιμότητας.¹



Note: the axes do not start at 0.
Source: Eurostat (online data code: demo_find)

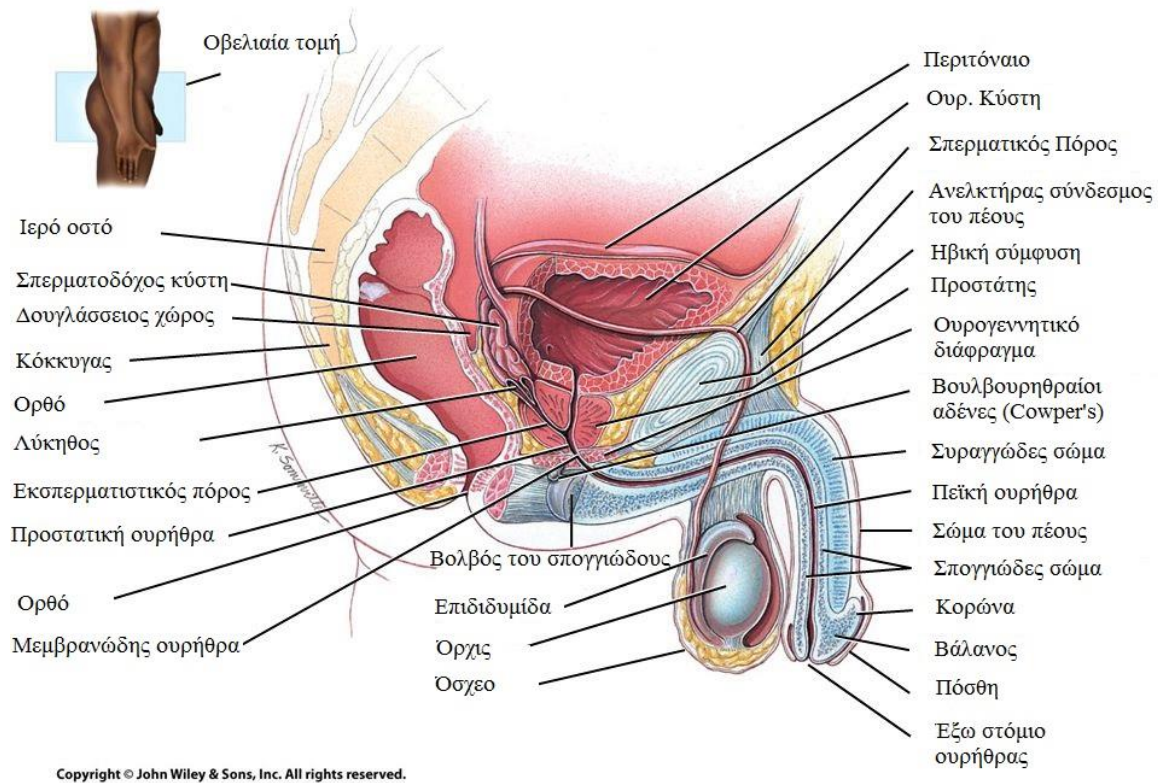


Εικόνα 1. Δίκτης γονιμότητας στις χώρες της Ευρώπη.¹

1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ ΤΟΥ ΑΝΔΡΙΚΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Το ανδρικό γεννητικό σύστημα αποτελείται από τα παρακάτω όργανα (**Εικόνα 2**):

1. Από τους δύο όρχεις που αποτελούν τους γεννητικούς-αναπαραγωγικούς αδένες του άντρα. Είναι όργανα με διπλή λειτουργία: μια εξωκρινής που αποτελεί την παραγωγή σπερματοζωαρίων και μια ενδοκρινής λειτουργία, υπεύθυνη για την παραγωγή των ανδρικών ορμονών και κυρίως της τεστοστερόνης.
2. Από την εκφορητική οδό του σπέρματος που αποτελείται από τις επιδιδυμίδες, τους σπερματικούς πόρους, τους εκσπερματικούς πόρους και την ουρήθρα.
3. Τους επικουρικούς αδένες, που είναι οι σπερματοδόχοι κύστεις, ο προστάτης, οι βολβοουρηθραίοι αδένες του Cowper και οι ουρηθραίοι αδένες του Littre.
4. Από το πέος.



Εικόνα 2. Ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα (τροποποιημένη αναφορά).²

1.1. Όρχις

Ο όρχις αποτελεί έναν εξωκρινή και ενδοκρινή αδένα ελλειπτικού σχήματος σε μέγεθος καρυδιού αποπλατυσμένου από τα πλάγια, βάρους 10-14gr και διαστάσεων 4x2,5x2,5cm. Αν και αποτελεί ένα πολύ ευαίσθητο και σημαντικό όργανο για τον άντρα, πράγμα που θα έπρεπε να το κάνει καλά προφυλαγμένο και τοποθετημένο σε ένα ασφαλές σημείο του σώματός μας, οι όρχις στον άντρα βρίσκονται σε έναν σάκο, το όσχεο, που κρέμεται έξω από το ανθρώπινο σώμα. Παρ' όλα αυτά η συγκεκριμένη ανατομική θέση του οσχέου επιτρέπει τη διατήρηση χαμηλότερων θερμοκρασιών για τους όρχις από τις αντίστοιχες του σώματος, πράγμα που σχετίζεται με τη σωστή σπερματογένεση και γονιμότητα. Περιγραφικά εμφανίζει δύο πόλους, τον άνω και κάτω, το πρόσθιο και οπίσθιο χείλος, και δύο επιφάνειες, την έσω και την έξω. Από τον άνω πόλο του, που φέρεται προς τα εμπρός και λίγο προς τα έξω, βρίσκεται η κεφαλή της επιδιδυμίδας, καθώς και μια μικρή κυστεοειδής απόφυση, η ορχική υδατίδα (υδατίδα Morgagni). Ενώ το πρόσθιο χείλος του όρχεως είναι ελεύθερο, κατά μήκος του οπισθίου χείλους κατέρχεται το σώμα και η ουρά της επιδιδυμίδας, η οποία στη συνέχεια ανέρχεται σχηματίζοντας τον σπερματικό πόρο. Η έσω και η έξω επιφάνεια του όρχεως διαχωρίζεται στο οπίσθιο χείλος με μια ανάκαμψη του ιδίως ελυτροειδούς χιτώνα, τον κόλπο της επιδιδυμίδας, που περιέχει την επιδιδυμίδα. Ο κόλπος αυτός, προς τα πάνω και προς τα κάτω, αφορίζεται από δύο πτυχές, τον άνω σύνδεσμο και τον κάτω οσχεϊκό σύνδεσμο της επιδιδυμίδας ή οίακα του όρχεως.³

Η ιστολογική αρχιτεκτονική του όρχεως αποτελείται από: α) τον ινώδη χιτώνα, β) τα σπερματικά σωληνάρια, γ) τη διάμεση ουσία, δ) αγγεία και νεύρα (**Εικόνα 3**).^{4,5}

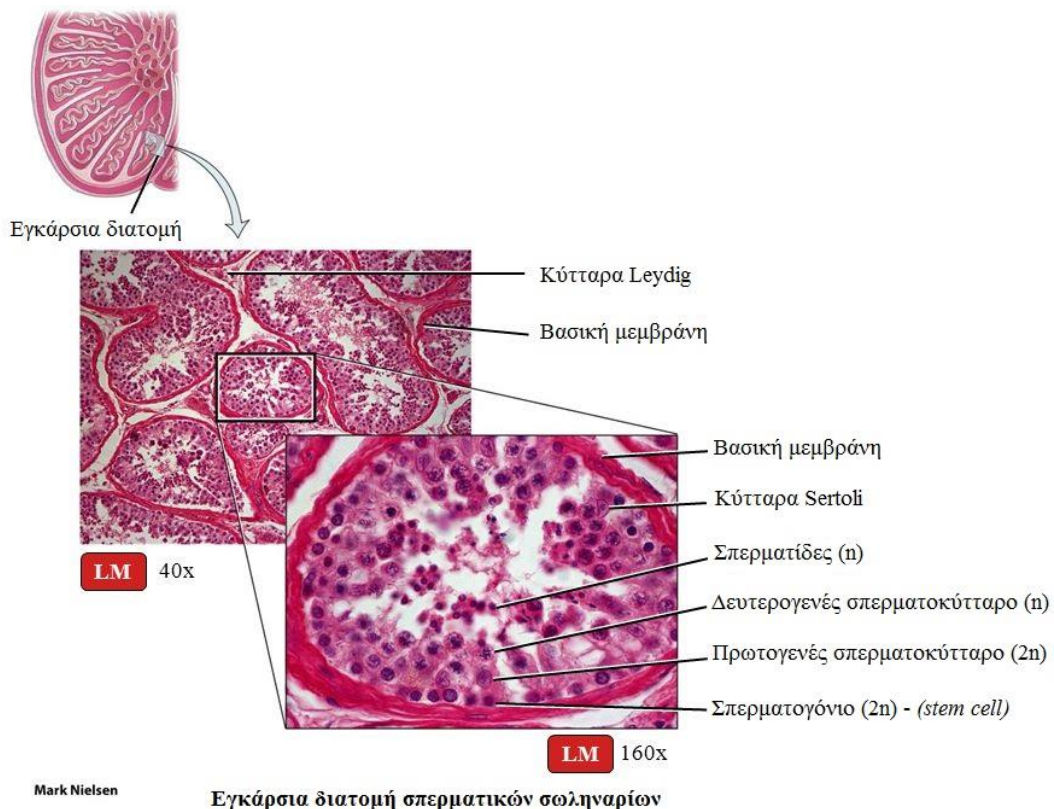
Εξωτερικά, ο όρχις περιβάλλεται από έναν ινώδη χιτώνα, πάχυνση του οποίου στο άνω τριτημόριο του οπισθίου χείλους αυτού σχηματίζει έναν εσωσκελετό, που λέγεται μεσαύλιο του όρχεως ή σώμα του Highmore. Από αυτό ξεκινούν ινώδη πετάλια, τα διαφραγμάτια του όρχεως, που φθάνουν ως τον ινώδη χιτώνα και χωρίζουν το παρέγχυμα του όρχεως σε 200-300 ορχικά λοβία, τα οποία αποτελούν ξεχωριστά διαμερίσματα που περιέχουν σπερματικά σωληνάρια και διάμεση ουσία.

Κάθε ορχικό λοβίο περιέχει 3-4 σπειροειδή σπερματικά σωληνάρια διαμέτρου 150-300μm, που αρχίζουν με ένα τυφλό άκρο κάτω από τον ινώδη χιτώνα και συγκλίνουν προς το μεσαύλιο του όρχεως, κοντά στο οποίο σχηματίζουν ένα βραχύ κοινό σωληνάριο. Στο μεσαύλιο, το σωληνάριο αυτό αναστομώνεται με άλλα όμοια σωληνάρια, σχηματίζοντας

το δίκτυο του Haller (Rete Testis). Στα 300 ορχικά λοβίδια του όρχεως ενός ενήλικου άντρα υπολογίζεται ότι υπάρχουν έως 1200 σπερματικά σωληνάκια, το συνολικό μήκος των οποίων μπορεί να φτάσει τα 250 μέτρα.

Τα σπερματικά σωληνάκια διακρίνονται στα εσπειραμένα και στα ευθέα.

Τα εσπειραμένα σπερματικά σωληνάκια, στα οποία γίνεται παραγωγή και ωρίμανση των σπερματοζωαρίων, αποτελούνται εξωτερικά από τον βασικό υμένα και το επιθήλιο, που απαρτίζεται από δύο είδη κυττάρων, τα βασικά-στηρικτικά κύτταρα (Sertoli) και τα σπερματικά κύτταρα, τα οποία από τη βάση προς τον αυλό διακρίνονται από λιγότερο ώριμα κύτταρα, όπως τα σπερματογόνια, τα σπερματοκύτταρα και οι στρογγυλές σπερματίδες, σε πιο ώριμα κύτταρα, όπως οι ώριμες σπερματίδες. Οι σπερματίδες, που είναι κύτταρα με απλοειδή αριθμό χρωματοσωμάτων, μεταπλάθονται σε σπερματοζωάρια, αποσπώνται από τα βασικά κύτταρα Sertoli, και πέφτουν στον αυλό των σπερματικών σωληναρίων.



Εικόνα 3. Εγκάρσια διατομή σπερματικών σωληναρίων. Σχέσεις σπερματικών κυττάρων και δομικών-λειτουργικών κυττάρων (τροποποιημένη αναφορά).²

Ο ρόλος των ευθέων σπερματικών σωληναρίων είναι η μεταφορά των σπερματοζωαρίων από τα εσπειραμένα σπερματικά σωληνάκια κάθε ορχικού λοβίδιου στο δίκτυο του Haller.

Το ορχικό δίκτυο του Haller είναι ένα σύμπλεγμα από σωληνάκια που σχηματίζεται μέσα στον μεσαύλιο με σκοπό να αποχετεύει τα σπερματοζωάρια από όλα τα σπερματικά σωληνάκια προς την επιδιδυμίδα.

Στο άνω μέρος του οπίσθιου χείλους του όρχεως, το ορχικό δίκτυο συρρέει σε 10-12 σωληνάκια, τα εκφορητικά σωληνάκια, που βγαίνουν από τον όρχι, μεταφέροντας τα σπερματοζωάρια στην κεφαλή της επιδιδυμίδας.

Η διάμεση ουσία του όρχεως αποτελείται από συνδετικό ιστό που περιλαμβάνει μακροφάγα, νεύρα, αιμοφόρα αγγεία, λεμφαγγεία και τα διάμεσα κύτταρα (του Leydig). Τα κύτταρα του Leydig που βρίσκονται ανάμεσα στα εσπειραμένα σπερματικά σωληνάκια αποτελούν την κυρίως ενδοκρινή μοίρα του όρχεως, παράγοντας την τεστοστερόνη, που ρυθμίζει την εμφάνιση των δευτερογενών χαρακτηριστικών του ανδρικού φύλου που αρχίζει με την ήβη. Η τεστοστερόνη, επίσης, ρυθμίζει την έναρξη της ήβης, τη διέγερση της ανάπτυξης του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος, τη γενετήσια ορμή και τη διέγερση της σπερματογένεσης. Ο συνολικός όγκος των πολυεδρικών αυτών κυττάρων του Leydig καταλαμβάνει περίπου το 3% του όγκου του όρχεως. Στον άνθρωπο, η διάμεση ουσία καταλαμβάνει το 20-30% του συνολικού όγκου του όρχεως.³

Ο όρχις αποτελεί ένα όργανο με πλούσια αιμάτωση που προέρχεται από τρεις διαφορετικές αρτηρίες:

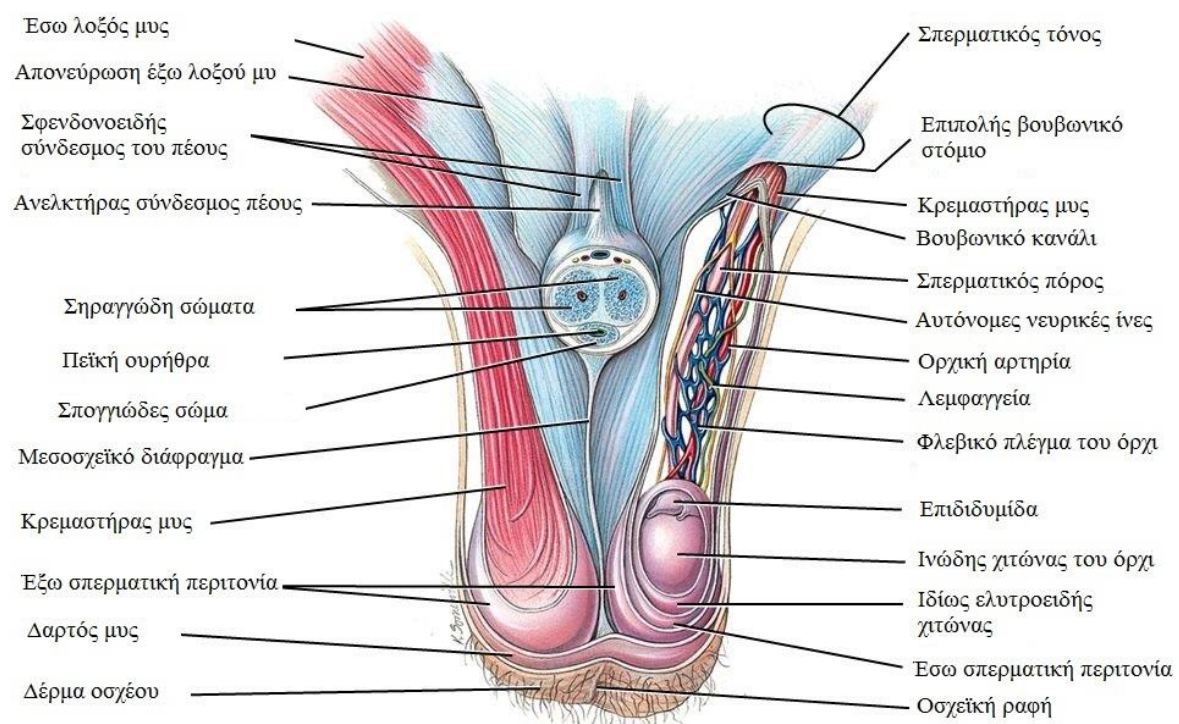
α) Την ορχική ή έσω σπερματική αρτηρία, που αποτελεί την κύρια αρτηρία του όρχι. Είναι κλάδος της κοιλιακής αορτής, που εκβάλλει κάτω από τη νεφρική αρτηρία, συμπορεύεται με τον σπερματικό τόνο αποτελώντας στοιχείο του και διανέμεται στον όρχι και στην επιδιδυμίδα. Στην πορεία της προς τον όρχι, η έσω σπερματική αρτηρία διακλαδίζεται σε έναν κλάδο που διανέμεται στο μεγαλύτερο μέρος του όρχεως, έναν κατώτερο κλάδο που αιματώνει τον κάτω πόλο του όρχεως και ένα κλάδο με κατεύθυνση προς την κεφαλή της επιδιδυμίδας. Έχει παρατηρηθεί σε ένα ποσοστό της τάξης του 31-88% των περιπτώσεων ότι το επίπεδο της διακλάδωσης είναι εντός του βουβωνικού πόρου.

β) Την εκφορητική αρτηρία ή αρτηρία του σπερματικού πόρου. Αποτελεί κλάδο της έσω λαγόνιας αρτηρίας (σπανιότερα της άνω κυστικής και ακόμα πιο σπάνια της

κάτω κυστικής) που εκτός από τη συμμετοχή της στην αιμάτωση του όρχεως συμβάλλει επίσης στην αιμάτωση της επιδιδυμίδας, του σπερματικού πόρου και της σπερματοδόχου κύστης.

γ) Την κρεμαστήρια ή έξω σπερματική αρτηρία, κλάδο της κάτω επιγάστριας, που συμβάλλει και στην αιμάτωση των περιβλημάτων του όρχεως.⁶

Οι ορχικές αρτηρίες εισέρχονται στο μεσαύλιο και διακλαδίζονται στην επιφάνεια του όρχεως, κυρίως στην πρόσθια έσω και έξω πλευρά του κάτω πόλου και στο πρόσθιο τμήμα του άνω πόλου. Τα τριχοειδή αγγεία διατάσσονται παράλληλα προς τα σπερματικά σωληνάρια, διαμορφώνοντας έτσι έναν αιματο-ορχικό φραγμό, στον οποίο συμβαίνουν φαινόμενα εκλεκτικών ανταλλαγών ουσιών που είτε παράγονται στον όρχι είτε βρίσκονται στο αίμα. Η ύπαρξη αναστομωτικών κλάδων μεταξύ της έσω και έξω σπερματικής αρτηρίας και της εκφορητικής αρτηρίας του όρχεως έχει σπουδαία κλινική σημασία γιατί επιτρέπει την αιμάτωση του όρχεως ακόμα και μετά την κάκωση ή απολίνωση της ορχικής αρτηρίας.



Πρόσθια όψη του όσχεου - όρχεως και του εγκάρσιου τμήματος του πέους

Copyright © John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Εικόνα 4. Πρόσθια όψη του οσχέου-όρχεως και του εγκάρσιου τμήματος του πέους (τροποποιημένη αναφορά).²

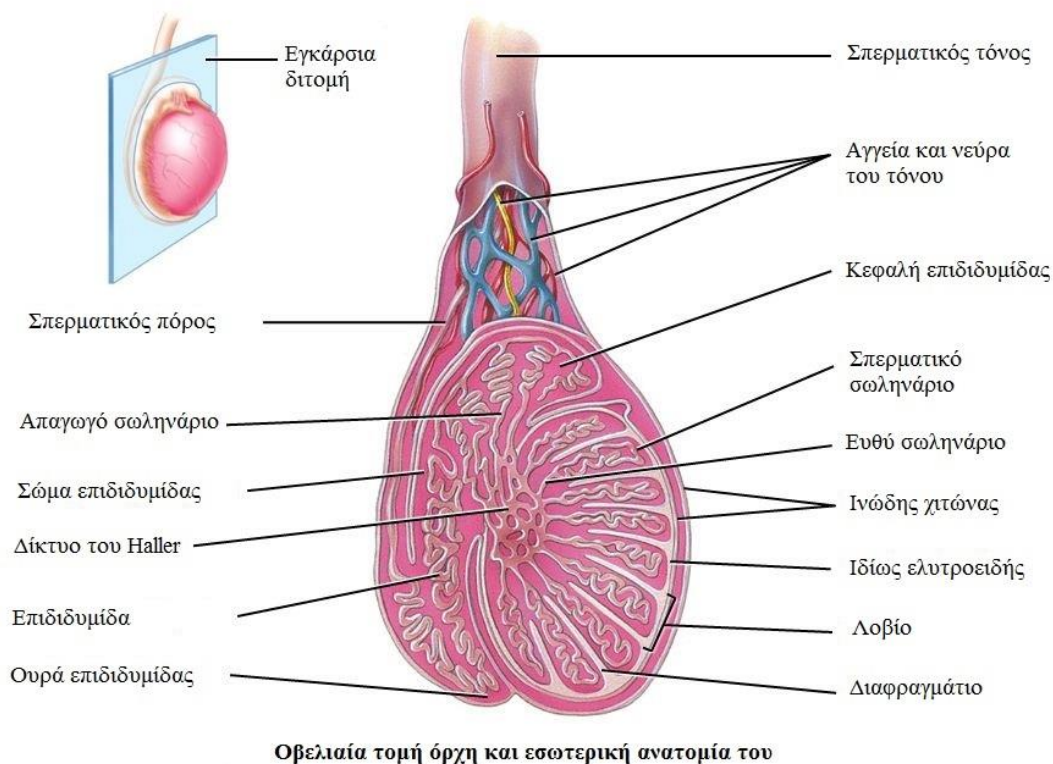
Οι φλέβες είναι αντίστοιχες προς τις αρτηρίες και εκβάλλουν στο ελικοειδές σπερματικό φλεβώδες πλέγμα (Pampiniform Plexus), το οποίο σχηματίζεται μέσα στον σπερματικό τόνο. Το σπερματικό φλεβώδες πλέγμα σχηματίζεται κυρίως από την αναστόμωση της έσω σπερματικής φλέβας (αναδύεται από το οπίσθιο χείλος του όρχεως) και της επιδιδυμικής ή επιχειλίας φλέβας της επιδιδυμίδας. Το σπερματικό φλεβώδες πλέγμα του δεξιού όρχεως αποχετεύεται κυρίως προς την κάτω κοίλη του αριστερού όρχεως, προς τη νεφρική φλέβα, και ένα μικρό μέρος προς την κάτω επιγάστρια φλέβα ή το προστατοκυστικό φλεβώδες πλέγμα.

Τα λεμφαγγεία του όρχεως που αποτελούν μέρος του σπερματικού τόνου εκβάλλουν στα παραορτικά, μεσοθωράκια και υπερκλείδια λεμφογάγγλια, παρουσιάζοντας μια πληθώρα αναστομών μεταξύ των δυο πλευρών με μεγάλη κλινική σημασία στα ογκολογικά περιστατικά.⁴

Τα νεύρα του όρχεως είναι τελικές απολήξεις του ορχικού φυτικού νευρικού πλέγματος, το οποίο συνοδεύει τα ορχικά αγγεία και αποτελεί προσεκβολή του κοιλιακού πλέγματος. Οι προγαγγλιακές συμπαθητικές ίνες του ορχικού πλέγματος, που αποτελούν την πλειοψηφία των νευρικών ινών που απολήγουν στον όρχι, εκφύονται από το 10^ο-11^ο θωρακικό νευροτόμιο. Ο πόνος μεταφέρεται από κεντρομόλες συμπαθητικές ίνες που καταλήγουν μέσω του ελάσσονος σπλαχνικού νεύρου στο 10^ο θωρακικό νευροτόμιο, εκεί που καταλήγουν επίσης και οι ίνες από το νεφρικό πλέγμα. Οι φυγόκεντρες συμπαθητικές ίνες φέρονται βασικά στα αγγεία (αγγειοκινητικές ίνες). Ο τρόπος νύρωσης του όρχεως εξηγεί τη φύση του πόνου που παράγεται ύστερα από σφίξιμο ή κάκωση του όρχι. Είναι έντονος σπλαχνικός πόνος που συνοδεύεται από αγωνία και αίσθημα ναυτίας, εξηγώντας επίσης γιατί ο πόνος του όρχεως αντανακλάται προς το νεφρό (**Εικόνα 4**).

1.2. Επιδιδυμίδα

Η επιδιδυμίδα αποτελεί μέρος της εκφορητικής οδού του όρχεως, έχει σχήμα μηννοειδές και βρίσκεται στον άνω πόλο και στο οπίσθιο χείλος του όρχεως. Το βάρος της είναι περίπου 3gr, το πάχος της 5mm και το μήκος της 50mm (**Εικόνα 5**).



Copyright © John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Εικόνα 5. Οβελιαία τομή όρχεως και εσωτερική ανατομία του (τροποποιημένη αναφορά).²

Μακροσκοπικά διαχωρίζεται σε τρία μέρη: την κεφαλή, το σώμα και την ουρά.

α) Η κεφαλή της επιδιδυμίδας που αποτελεί το άνω άκρο της είναι διογκωμένη και πεπλατυσμένη και βρίσκεται στον άνω πόλο του όρχεως. Τα εκφορητικά σωληνάρια του όρχεως που εξέρχονται από το μεσαύλιο και συνδέονται με την επιδιδυμίδα.

β) Η μοίρα της επιδιδυμίδας μετά την κεφαλή ονομάζεται σώμα της επιδιδυμίδας. Φέρεται κατά μήκος του οπίσθιου χείλους και της οπίσθιας μοίρας της έξω επιφάνειας του όρχεως. Το σώμα της επιδιδυμίδας που το εύρος του ελαττώνεται βαθμιαία από τα άνω προς τα κάτω δεν βρίσκεται προσκολλημένο στην έξω επιφάνεια του όρχεως γιατί μεταξύ τους παρεισδύει μια πτυχή του ορογόνου χιτώνα (ίδιου ελυτροειδή), η οποία διαμορφώνει τον σχισμοειδή κόλπο της επιδιδυμίδας.

γ) Η ουρά της επιδιδυμίδας φτάνει ως τον κάτω πόλο του όρχεως, προσκολλημένη σε αυτόν με την παρεμβολή χαλαρού συνδετικού ιστού και με την ύπαρξη κοινού ινώδους περιβλήματος, όπου εκεί ανακάμπτει απότομα προς τα πάνω, μεταπίπτοντας έτσι στον σπέρματικό πόρο.

Η αιμάτωση της επιδιδυμίδας προέρχεται από την έσω σπερματική αρτηρία και την αρτηρία του σπερματικού πόρου.

Η επιδιδυμίδα περιβάλλεται από ινώδη χιτώνα που αποτελεί συνέχεια του ινώδους χιτώνα του όρχεως αν και είναι λεπτότερος από αυτόν.

Τα λοβία της επιδιδυμίδας, που αρχίζουν από τον όρχι και σχηματίζουν την κεφαλή της επιδιδυμίδας, είναι 12-20 κωνοειδείς σχηματισμοί με τη βάση τους προς την κεφαλή της επιδιδυμίδας και την κορυφή προς τον όρχι. Κάθε λοβίο αρχίζει από ένα εκφορητικό σωληνάριο από το δίκτυο του Haller (διαμέτρου περίπου 0,4mm) που στην αρχή πορεύεται ευθέως και ύστερα φέρεται ελικοειδώς έως την κεφαλή της επιδιδυμίδας με μια μέγιστη διάμετρο περί τα 0,6mm. Ενώ το μήκος του λοβιδίου είναι περίπου 1cm, το συνολικό μήκος του σωληναρίου, εάν εκτυλιχθεί, φτάνει τα 15-20cm.

Η ελικοειδής πορεία των σωληναρίων, που σχηματίζουν την κεφαλή της επιδιδυμίδας, αλλά και του αυλού του σώματος της επιδιδυμίδας έχει σαν σκοπό την αύξηση του χρόνου παραμονής των σπερματοζωαρίων στα σωληνάκια της επιδιδυμίδας που είναι περίπου 10-15 μέρες. Κατά το χρόνο αυτόν της μετακίνησης από την κεφαλή προς την ουρά, τα σπερματοζωάρια περνούν μια διαδικασία ωρίμανσης, αποκτούν λειτουργικότητα και κινητικότητα, βελτιώνουν την κατασκευή της μεμβράνης τους και αυξάνουν τη γονιμοποιητική τους ικανότητα.

Οι κύριες λειτουργίες της επιδιδυμίδας είναι η μεταφορά των σπερματοζωαρίων, η συμπύκνωση του σπέρματος, η ωρίμανση των σπερματοζωαρίων, η αποθήκευση και η προστασία τους.

Ο χρόνος μεταφοράς του σπέρματος μέσα από την επιδιδυμίδα είναι πολύ σημαντικός διότι σε αυτό το χρονικό διάστημα το περιεχόμενο του αυλού της επιδιδυμίδας εκτίθεται σε αλλαγές λόγω απορρόφησης και έκκρισης οργανικών μορίων, πρωτεϊνών και ιόντων. Αλλαγές του χρόνου μεταβίβασης του σπέρματος από την επιδιδυμίδα μπορεί να επηρεάσουν όχι μόνο την ενδοαυλική συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων, αλλά και τη συγκέντρωση μορίων σημαντικών για το περιβάλλον, τη συντήρηση και ωρίμανση του σπέρματος. Ο χρόνος αυτός δεν επηρεάζεται από την ηλικία, αλλά από την υψηλή παραγωγή σπέρματος που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο.

Ο χρόνος μεταφοράς εκτιμάται ότι είναι ταχύτερος στα απαγωγά σωληνάκια και το εγγύς τμήμα της επιδιδυμίδας, όπου το περιεχόμενο είναι λιγότερο παχύρρεστο και το νερό απορροφάται ταχέως από τον αυλό, ενώ ο χρόνος μεταφοράς μειώνεται στα πιο άπω σωληνάκια όπου το περιεχόμενο του αυλού γίνεται πιο παχύρρεστο.⁷

Οι άνδρες με υψηλή παραγωγή σπερματοζωαρίων από τους όρχεις έχουν μικρότερο χρόνο μεταφοράς του σπέρματος από την επιδιδυμίδα συγκριτικά με τους άνδρες με χαμηλή παραγωγή σπερματοζωαρίων από τους όρχεις (2 και 6 ημέρες αντίστοιχα). Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι οι όρχεις που παράγουν περισσότερα σπερματοζωάρια, επίσης, παράγουν περισσότερο σπερματικό υγρό, προωθώντας έτσι το περιεχόμενο κατά μήκος την επιδιδυμίδα γρηγορότερα.⁸

Επειδή μόνο το 5-10% όγκου της τελικής εκσπερμάτισης του ανθρώπου συνεισφέρει η ουρά της επιδιδυμίδα,^{9,10} είναι απαραίτητο η ενδοαυλική πυκνότητα του σπέρματος στην ουρά της επιδιδυμίδα να είναι υψηλή ώστε να εξασφαλίσει μια επαρκή συγκέντρωση σπερματοζωαρίων στην τελική εκσπερμάτιση.

Τα σπερματοζωάρια εντός της επιδιδυμίδα βρίσκονται σε ένα μικροπεριβάλλον με πολλές βιοχημικές και μορφολογικές αλλαγές. Οι κύριες βιοχημικές μεταβολές στο επιθήλιο και τον αυλό της επιδιδυμίδα είναι η απορρόφηση εκ νέου του ύδατος, η απορρόφηση ιόντων (κυρίως νατρίου) και η έκκριση ουσιών που συμβάλλουν στην ωρίμανση των σπερματοζωαρίων. Το ενδοαυλικό περιεχόμενο της επιδιδυμίδα περιέχει και διάφορα ιόντα, όπως νάτριο, κάλιο, χλώριο και διτανθρακικά. Η διαφορά αυτή της ωσμωτικής πίεσης μεταξύ των υγρών της επιδιδυμίδα και της χαμηλότερης ωσμωτικής πίεσης των υγρών του όρχεως έχει ως αποτέλεσμα την έξοδο νατρίου, έτσι ώστε τα σπερματοζωάρια να συνεχίσουν να ωριμάζουν.

Άλλες ουσίες που υπάρχουν εντός του αυλού της επιδιδυμίδα είναι η L-καρνιτίνη και η γλυκερυλφωσφορυλχολίνη, που μαζί με τα ιόντα καλίου παίζουν ρόλο στην προετοιμασία της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων.

Η όξινη πρωτεΐνη της επιδιδυμίδα (acid epididymal globulin – AEG) προσδιορίζει το είδος της κινητικότητας και η πρωτεΐνη της προς τα μπροστά κίνησης (forward motility protein - FMP) την προωθητική κίνηση των σπερματοζωαρίων.

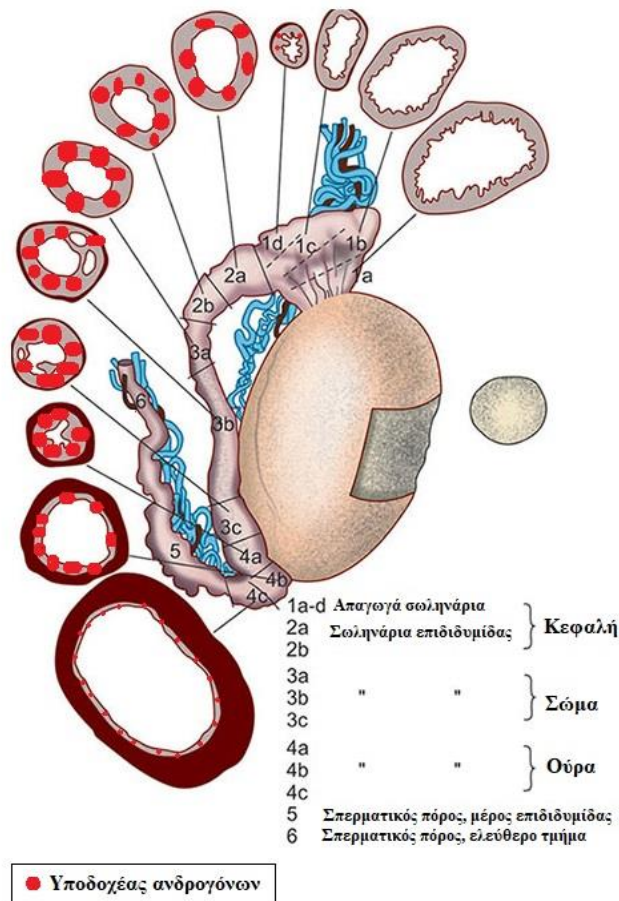
Αλλαγές παρουσιάζει και το pH, το οποίο στην κεφαλή της επιδιδυμίδα είναι 6,5 για να φτάσει στο 6,8 στην ουρά της.

Το σπέρμα μεταφέρεται μέσω της επιδιδυμίδα εν μέρει από υδροστατική πίεση, που προέρχεται από τα υγρά που εκκρίνονται στα σπερματικά σωληνάκια,¹¹ τις κινήσεις των κροσσωτών σχηματισμών των επιθηλιακών κυττάρων και από τις περισταλτικές συσπάσεις των σωληναρίων.¹² Συστολές του ινώδους χιτώνα του όρχεως¹³ παίζουν ρόλο στη δημιουργία θετικών πιέσεων του υγρού στην κεφαλή της επιδιδυμίδα.

Η αποθήκευση του σπέρματος, που αποτελεί μια άλλη σημαντική λειτουργία της επιδιδυμίδας, γίνεται κατά κύριο λόγο στην ουρά της επιδιδυμίδας. Ο χρόνος αποθήκευσης χωρίς αλλοίωση της γονιμοποιητικής ικανότητας εκτιμάται ότι δεν πρέπει να υπερβαίνει τις 2 εβδομάδες,¹⁴ καθώς η παράτασή του ενδεχομένως να αποτελεί αιτία υπογονιμότητας.¹⁵ Κατά το χρόνο παραμονής στην επιδιδυμίδα τα σπερματοζώαρια προστατεύονται από την λιπιδική υπεροξειδωση μέσω ισχυρών αντιοξειδωτικών ουσιών που εκκρίνονται από το επιθήλιο της επιδιδυμίδας, όπως η δισμουτάση, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και άλλες γλυκοσιδάσες.¹⁵

Η λειτουργία της επιδιδυμίδας εξαρτάται άμεσα από τα ανδρογόνα της κυκλοφορίας και την τεστοστερόνη που προέρχεται από τον όρχι δια μέσου των αναστομώνσεων των αρτηριδίων της επιδιδυμίδας και των απαγωγών φλεβών του όρχεως (Εικόνα 6).

Έκφραση υποδοχέων των ανδρογόνων στην ανθρώπινη επιδιδυμίδα



Εικόνα 6. Απεικόνιση της έκφρασης των υποδοχέων των ανδρογόνων στην ανθρώπινη επιδιδυμίδα (τροποποιημένη αναφορά).¹⁶

1.3. Σπερματικός πόρος

Ο σπερματικός πόρος είναι ένας ινομυώδης αγωγός, μήκους 30-40cm που αποτελεί τη συνέχεια της ουράς της επιδιδυμίδας και εκτείνεται έως τον εκσπερματικό πόρο.

Ανάλογα με την θέση του διακρίνεται σε 5 μοίρες:

- την ορχική, που πορεύεται ελικοειδώς κατά μήκος του πρόσθιου χείλους του όρχεως και επί τα εντός της επιδιδυμίδας.
- την τονική, που εκτείνεται εντός του σπερματικού τόνου και προς την οπίσθια μοίρα του. Συνεχίζει από το οπίσθιο χείλος του όρχεως μέχρι το έξω βουβωνικό στόμιο.
- τη βουβωνική, που βρίσκεται εντός του βουβωνικού πόρου και εκτείνεται από το έξω έως το έσω βουβωνικό στόμιο.
- την πυελική, που εκτείνεται από το έσω βουβωνικό στόμιο μέχρι το χιασμό με τον ουρητήρα. Φέρεται στο πλάγιο πυελικό τοίχωμα, χιάζεται με τα έξω λαγόνια αγγεία, τα θυρεοειδή αγγεία, τα νεύρα και τον ουρητήρα.
- την κυστική, που βρίσκεται πίσω από την ουροδόχο κύστη και εκτείνεται από το χιασμό με τον ουρητήρα μέχρι τη βάση του προστάτη.

Η αρτηριακή αιμάτωση του σπερματικού πόρου προέρχεται από την εκφορητική αρτηρία, η οποία είναι κλάδος της κάτω κυστικής αρτηρίας.

Το φλεβικό δίκτυο που επάγει το αίμα από τον σπερματικό τόνο εκβάλλει αφενός στις φλέβες του σπερματικού πόρου και αφετέρου στο προστατοκυστικό φλεβώδες πλέγμα.

Η λεμφική παροχέτευση του σπερματικού πόρου, που είναι πιο έντονη στην περιοχή της σπερματικής ληκύθου, εκβάλλει στα έσω και στα έξω λαγόνια λεμφογάγγλια.

Οι νευρικές απολήξεις που φτάνουν στον σπερματικό πόρο είναι επέκταση του κάτω υπογαστρίου φυτικού πλέγματος. Οι συμπαθητικές ίνες προέρχονται από τα οσφυϊκά σπλαχνικά νεύρα (O₁-O₃ νευροτόμια), ενώ οι παρασυμπαθητικές ίνες εκπορεύονται από τα πυελικά σπλαχνικά νεύρα (I₂-I₄ νευροτόμια). Οι συμπαθητικές ίνες είναι αυτές που μεταφέρουν τις διεγέρσεις για τη σύσπαση του μυϊκού χιτώνα που περιβάλλει τον πόρο κατά τη διάρκεια της εκσπερμάτισης.

Ο σπερματικός πόρος έχει λεπτό αυλό και παχύ τοίχωμα που αποτελείται από το βλεννογόνο, που φέρει δίστιχο ή πολύστιχο κυλινδρικό επιθήλιο, από τον υποβλεννογόνο χιτώνα, από τον μυϊκό χιτώνα στον οποίο διακρίνονται τρεις στιβάδες από λείες μυϊκές ίνες (έξω επιμήκης, μέση κυκλοτερής, έσω επιμήκης) και από τον ινώδη χιτώνα.

Ο σπερματικός πόρος δεν αποτελεί μόνο έναν αγωγό μεταφοράς σπερματοζωαρίων, αλλά και ένα μέσο έλεγχου και ωρίμανσης των σπερματοζωαρίων. Εντός του αυλού του γίνεται ωρίμανση των σπερματοζωαρίων.

Η λειτουργία των κύτταρων του βλεννογόνου του σπερματικού πόρου είναι κυρίως η φαγοκυττάρωση των σπερματοζωαρίων, έχοντας μόνο μικρή εκκριτική λειτουργία.

Ο έλεγχος της λειτουργίας του επιθήλιου αλλά και των λείων μυϊκών ινών του σπερματικού πόρου γίνεται από τα ανδρογόνα. Η μείωση των ανδρογόνων προκαλεί διαταραχές της συστατικότητας των λείων μυϊκών ινών.¹⁷

1.4. Σπερματοδόχος κύστη

Οι σπερματοδόχοι κύστεις αποτελούν παράπλευρα εκκολπώματα του τελικού τμήματος των σπερματικών πόρων και της σπερματικής ληκύθου. Έχουν σχήμα απιοειδές, αποπλατυσμένο από εμπρός προς τα πίσω και παρουσιάζουν δύο άκρα (έξω και έσω) και δύο επιφάνειες (πρόσθια και οπίσθια). Έχουν μήκος 5cm και πλάτος 1-2cm, ενώ όταν είναι γεμάτες είναι δυνατόν να τριπλασιασθούν σε μέγεθος. Τοπογραφικά βρίσκονται κάτω από τον πυθμένα της ουροδόχου κύστης και μεταξύ του προστάτη και του ορθού. Το έσω χείλος ακουμπά στη σπερματική λήκυθο, ενώ το έξω χείλος έρχεται σε επαφή με τον προστάτη. Το έσω άκρο είναι στενό και αναστομώνεται με το σύστοιχο πόρο, αντίστοιχα προς τη βάση του προστάτη, για να σχηματιστεί ο εκσπερματιστικός πόρος.¹⁸

Η αιμάτωση των σπερματοδόχων κύστεων είναι η ίδια με εκείνη του προστάτη, δηλαδή από την άνω και κάτω κυστική αρτηρία, την άνω και μέση αρτηρία του ορθού και την εκφορητική αρτηρία. Η φλεβική παροχέτευση γίνεται μέσω πλέγματος, το οποίο εκβάλλει στην έσω λαγόνιο φλέβα. Η λέμφος παροχετεύεται κυρίως προς τα έσω λαγόνια λεμφογάγγλια.

Η νεύρωση του οργάνου προέρχεται από το κάτω υπογάστριο πλέγμα.^{18,19}

Ιστολογικά η σπερματοδόχος κύστη απαρτίζεται εξωτερικά από την κάψα, το δίστιβο μυϊκό χιτώνα, το υποβλεννογόνιο στρώμα και το βλεννογόνο. Ο βλεννογόνος, που παρουσιάζει πολλές πτυχές, αποτελείται από βασικά κύτταρα και ένα ψευδοπολύστιβο κυλινδρικό επιθήλιο.

Η κύρια λειτουργία της σπερματοδόχου κύστης είναι εκκριτική. Το έκκριμα της αποτελεί το 60-70% της ποσότητας του σπέρματος κατά την εκσπερμάτιση. Βασικός ρόλος αυτής της μεγάλης εκκριτικής ικανότητάς της είναι η πήξη του σπέρματος, η ρύθμιση του

ιξώδους του σπέρματος, η επαγωγή της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων και η αντιοξειδωτική προστασία των σπερματοζωαρίων. Το αλκαλικό έκκριμα της (pH 7,2-7,6) μαζί με διάφορες πρωτεΐνες και συστατικά, όπως φρουκτόζη, προσταγλανδίνες, σπερμολάση, ασκορβικό οξύ, διττανθρακικά, λακτοφερίνη, ψευδάργυρος, κάλιο και μαγνήσιο, σε συνδυασμό με το προστατικό έκκριμα, αποτελούν το κύριο υγρό στοιχείο του σπέρματος, από το οποίο τα σπερματοζωάρια προσπορίζονται ενέργεια και προφυλάσσονται.²⁰

1.5. Εκσπερματικός πόρος

Ο εκσπερματικός πόρος είναι η συνέχεια του τελικού τμήματος του σπερματικού πόρου (σπερματική λήκυθος) και της εκβολής της σπερματοδόχου κύστης. Το μήκος του είναι περί τα 2cm και πορεύεται από τη βάση του προστάτη, διαμέσου της κεντρικής ζώνης του προστάτη λοξά, για να εκβάλλει στο σπερματικό λοφίδιο της προστατικής μοίρας της ουρήθρας.

Το τοίχωμα του εκσπερματιστικού πόρου αποτελείται από μια εξωτερική ινώδη στιβάδα (η οποία σχεδόν απουσιάζει μετά την είσοδό του στον προστάτη), από τον μυϊκό χιτώνα, που απαρτίζεται από δύο στιβάδες, και τον βλεννογόνο, ο οποίος είναι κατασκευασμένος από μονόστιβο κυλινδρικό επιθήλιο.

Τα λεπτά τοιχώματα του εκσπερματικού πόρου, κατά τη διάρκεια της σύρσης, υπό την επίδραση των μυϊκών και των ελαστικών ινών του προστάτη επιτρέπουν την σύγκλεισή τους, παρεμποδίζοντας έτσι την είσοδο των όξινων ούρων προς την εκφορητική οδό του σπέρματος. Από την άλλη, κατά τη διάρκεια της εκσπερμάτισης, το εκσπερμάτιμα παρεμποδίζεται να παλινδρομήσει προς την ουροδόχο κύστη από τον μυϊκό τόνο του έσω σφιγκτήρα της ουρήθρας.¹⁷

1.6. Βουλβουρηθραίοι αδένες

Οι βουλβουρηθραίοι αδένες ή αδένες του Cowper εντοπίζονται στο ουρογεννητικό τρίγωνο, πίσω από το βολβό της ουρήθρας, κάτω από την κορυφή του προστάτη και εκβάλλουν στο κάτω τοίχωμα της σηραγγώδους μοίρας της. Είναι ένα ζεύγος μικρών σφαιρικών αδένων μεγέθους 7mm, που διαθέτουν έναν σχετικά μακρύ εκφορητικό πόρο 3cm, ο οποίος φέρεται λοξά και πλαγίως από την υμενώδη μοίρα της ουρήθρας, διεισδύει στο βολβό του σηραγγώδους σώματος του πέους και εκβάλλει στο κάτω τοίχωμα της σηραγγώδους μοίρας της ουρήθρας.

Οι βουλβουρηθραίοι είναι βλεννώδεις σωληνοκυψελοειδείς αδένες, που αποτελούνται από αδενοκυψέλες, οι οποίες περιβάλλονται από λείες και εγκάρσιες γραμμωτές μυϊκές ίνες, που συνάπτονται η μία με την άλλη με συνδετικό ιστό.

Η κύρια λειτουργία τους είναι η έκκριση ενός έντονα αλκαλικού υγρού που αποτελεί μέρος του προεκσπερματικού υγρού, το οποίο θεωρείται ότι εξουδετερώνει το όξινο περιβάλλον της ουρήθρας στην οποία εκχέεται πριν από την εκσπερμάτιση. Το έκκριμα των αδένων του Cowper σε συνδυασμό με το έκκριμα των αδένων του Litte (0,1-0,5ml) που εντοπίζονται κατά μήκος της ουρήθρας και εκβάλλουν στον πυθμένα των ουρηθραίων κόλπων, είναι πλούσιο σε βλεννοπρωτεΐνες και γλυκοζαμινογλυκάνες και εκχέεται στην ουρήθρα λίγο πριν την εκσπερμάτιση, έχοντας έναν ρόλο λιπαντικό αλλά και προστατευτικό συγχρόνως.

Οι αρτηρίες και οι φλέβες των βουλβουρηθραίων αδένων αποτελούν κλάδους των αγγείων του βολβού (βολβικά αγγεία) και τα νεύρα κλάδους του αιδοϊκού νεύρου.

1.7. Προστάτης αδένας

Ο προστάτης είναι ένα αδενοϊνομυώδες όργανο με ελαστική σύσταση. Έχει σχήμα και μέγεθος κάστανου, βάρος 20-25g, μήκος 3-3,5cm, πλάτος 4cm και ύψος 2cm, αν και οι διαστάσεις αυτές ποικίλλουν από άντρα σε άντρα, με την ηλικία να αποτελεί σημαντικό παράγοντα.²¹ Αποτελεί όργανο της ελάσσονος πυέλου που εντοπίζεται πίσω από την ηβική σύμφυση, μπροστά από το ορθό και κάτω από την ουροδόχο κύστη. Εμφανίζει βάση που στρέφεται προς τα πάνω και έρχεται σε επαφή με τον αυχένα της ουροδόχου κύστης και κορυφή που βρίσκεται προ τα κάτω και συνάπτεται με το ουρογεννητικό τρίγωνο και τον έξω σφιγκτήρα της ουρήθρας. Η πρόσθια επιφάνεια είναι επίπεδη χωρίς την ύπαρξη αδενικών στοιχείων και εφάπτεται με την ηβική σύμφυση μέσω του ηβοπροστατικού συνδέσμου. Η οπίσθια επιφάνεια, που είναι μεγαλύτερη από την πρόσθια, χωρίζεται από το ορθό με τις σπερματοδόχες κύστες και την περιτονία του Denonvillier. Στο μέσον της παρατηρείται η αύλακα του προστάτη που τοπογραφικά χωρίζει τους δύο πλάγιους λοβούς του προστάτη (αριστερό και δεξιό) που αποτελούν την κύρια μάζα του προστάτη.

Ο προστάτης περιβάλλεται στενά από ένα ινομυώδες πέταλο, την κάψα του προστάτη. Όσον αφορά τη μορφολογία του προστάτη, ο McNeal, για να κατανοήσουμε καλύτερα την ανατομική και ιστολογική δομή του, εισήγαγε ένα μοντέλο στο οποίο περιγράφει τον προστάτη να αποτελείται από τέσσερις διαφορετικές ζώνες, οι οποίες

φαίνεται να έχουν διαφορετικά μορφολογικά, λειτουργικά και παθολογικά χαρακτηριστικά. Βάση του προτύπου αυτού, το ανατομικό στοιχείο αναφοράς είναι η ουρήθρα, η οποία διαχωρίζει τον προστάτη σε ένα μεγάλο οπίσθιο αδενώδες τμήμα και ένα μικρότερο πρόσθιο ινομυώδες.²²⁻²⁶

Το οπίσθιο αδενώδες τμήμα χωρίζεται μορφολογικά σε 3 ζώνες:

1. Τη μεταβατική ζώνη, που αποτελεί το 5% της αδενικής μάζας και βρίσκεται πέριξ της ουρήθρας, λίγο πιο πάνω από το σημείο εκβολής των εκσπερματικών πόρων. Στη ζώνη αυτή ανευρίσκονται μικροί αδένες που εκτείνονται μέσα στον βλεννογόνο, τα στόμια των οποίων παρατηρούνται στον βλεννογόνο κυρίως του άνω τμήματος της προστατικής μοίρας της ουρήθρας.
2. Την κεντρική ζώνη, που αντιπροσωπεύει το 25% του συνόλου της αδενικής μάζας του προστατικού αδένος. Έχει σχήμα πυραμίδας με βάση προς τον αυχένα της ουροδόχου κύστης και κορυφή που καταλήγει στο σπερματικό λοφίδιο, περιλαμβάνοντας όλο το μήκος των εκσπερματικών πόρων. Αποτελείται από υποβλεννογόνιους αδένες, που ο εκφορητικός πόρος τους εκβάλλει στην κοίτη των παραλοφιδίων αυλάκων και στο σπερματικό λοφίδιο.
3. Την περιφερική ζώνη, που απαρτίζει το 75% του αδενώδους ιστού του προστάτη. Συνίσταται από πολύκλαδους αδένες με μακρούς εκφορητικούς πόρους, που αποτελούν τους κύριους αδένες του προστάτη, οι οποίοι εκβάλλουν κυρίως στις παραλοφίδιες αύλακες, αλλά και στα πλάγια τοιχώματα της ουρήθρας

Η πρόσθια ινομυώδης ζώνη του προστάτη, που αποτελεί το ένα τρίτο της μάζας του, δεν περιέχει αδένια και φαίνεται πως δεν διαδραματίζει κάποιο λειτουργικό ρόλο στη φυσιολογία του. Αποτελείται από ένα πυκνό ινομυώδες στρώμα που εκτείνεται στην πρόσθια επιφάνεια του προστάτη, από την κορυφή του και τις ίνες του γραμμοτού σφικτήρα της ουρήθρας έως τον αυχένα της κύστης και τις ίνες του εξωστήρα μυ.

Η αιμάτωση του προστάτη γίνεται μέσω κλάδων των κάτω κυστικών αρτηριών, που εκφύονται από την έσω λαγόνια, ενώ συμμετέχουν και κλάδοι των έσω αιδοϊκών και των μέσων αιμορροϊδικών αρτηριών.²¹

Οι φλέβες εκβάλλουν στο περιπροστατικό πλέγμα (πλέγμα του Santorini) και από εκεί στις υπογάστριες φλέβες. Μέρος της φλεβικής κυκλοφορίας του προστάτη γίνεται διαμέσου της αιμορροϊδικής φλέβας και του πλέγματος του Batson προς τις φλέβες των λαγονίων οστών και των ιερών και οσφυϊκών σπονδύλων. Τα λεμφαγγεία οδηγούν στα υπογάστρια, ιερά, κυστικά, και έξω λαγόνια λεμφογάγγλια.²⁷

Η λεμφική αποχέτευση του προστάτη γίνεται διαμέσου ενός ενδοπροστατικού και περιπροστατικού λεμφικού πλέγματος που εκβάλλει κυρίως στα έσω και έξω λαγόνια και στα ιερά λεμφογάγγλια.²⁸

Η νεύρωση του προστάτη αποτελείται από παρασυμπαθητικές και συμπαθητικές ίνες και είναι κλάδοι του προστατικού φυτικού νευρικού πλέγματος, που αποτελεί επέκταση του κάτω υπογαστρίου (πυελικού) πλέγματος. Οι παρασυμπαθητικές ίνες που κατανέμονται στα αδενικά στοιχεία φέρονται διά του πυελικού νεύρου, το οποίο εκφύεται από τα I₂- I₄ νευροτόμια. Οι συμπαθητικές ίνες, που καταλήγουν στις λείες μυϊκές ίνες του ινομυώδους στρώματος του προστάτη και είναι υπεύθυνες για την εκσπερμάτιση, φέρονται διά των οσφυϊκών σπλαχνικών νεύρων και οι προγαγγλιακές ίνες τους εκφύονται από τα κατώτερα θωρακικά (Θ₁-Θ₁₂) και τα ανώτερα οσφυϊκά νευροτόμια (Ο₁-Ο₂).²⁹

Το προστατικό στρώμα αποτελείται κυρίως από δυο είδη κυττάρων, τα μυϊκά κύτταρα και τους ινοβλάστες, ενώ σε μικρότερη συγκέντρωση ανευρίσκονται και νευρομυϊκά κύτταρα και κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος.

Ο αδενικός ιστός του προστάτη απαρτίζεται από ένα σύνολο πολλών, ανεξάρτητων σωληνοκυψελοειδών αδένων που διαχωρίζονται μεταξύ τους με διαφράγματα συνδετικού ιστού, σχηματίζοντας τα ινομυώδη πέταλα του στρώματος του προστάτη. Η εκφορητική οδός αυτών των 30-50 περίπου αδένων του προστάτη αποτελείται από 12-20 προστατικούς εκφορητικούς πόρους, οι οποίοι εκβάλλουν στο έδαφος της προστατικής μοίρας της ουρήθρας στα πλάγια του σπερματικού λοφιδίου.³⁰

Το επιθήλιο των προστατικών αδένων αποτελείται κυρίως από τρία είδη κυττάρων:

1. Τα επιθηλιακά κύτταρα, που περιέχουν τα εκκριτικά κοκκία, χαρακτηριστικό της μεγάλης τους εκκριτικής ικανότητας.
2. Τα βασικά κύτταρα, που είναι μικρά αδιαφοροποίητα επιθηλιακά κύτταρα που αποτελούν το 10% των επιθηλιακών κυττάρων των αδενίων του προστάτη. Είναι τα πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα του προστάτη απ' όπου παράγονται τα επιθηλιακά εκκριτικά κύτταρα και είναι πλούσια σε κερατίνες.^{31,32}
3. Τα νευροενδοκρινή κύτταρα ή APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) βρίσκονται σε όλο το εκκριτικό επιθήλιο του προστάτη και μπορεί να εκκρίνουν TSH, σεροτονίνη, καλτσιτονίνη και σωματοστατίνη, που ρόλο έχουν τη ρύθμιση της κυτταρικής λειτουργίας του προστάτη.^{30,33,34}

Ο προστάτης αποτελεί τον μεγαλύτερο εξωκρινή αδένα του ανδρικού γεννητικού συστήματος, εκκρίνοντας το 30-50% του σπερματικού πλάσματος, με κύρια λειτουργία την παραγωγή και έκκριση ουσιών που επιδρούν στη μεταφορά, προστασία και ρευστοποίηση του σπέρματος.

Ουσίες που βρίσκονται σε μεγάλη συγκέντρωση στον προστάτη είναι το κιτρικό οξύ και ο ψευδάργυρος. Το κιτρικό οξύ βρίσκεται σε συγκεντρώσεις 240-1300 φορές υψηλότερες στον προστατικό από ότι σε οποιονδήποτε άλλο ιστό του ανθρώπινου σώματος.³⁵ Ρυθμίζει την οσμωτική ισορροπία, προσφέροντας μια καλύτερη ποιοτική και ποσοτική συγκέντρωση ιόντων που συντελούν στην αντιμικροβιακή προστασία του σπέρματος. Το ανθρώπινο προστατικό υγρό περιέχει ένα ισχυρό αντιβακτηριακό παράγοντα (PAF) που είναι βακτηριοκτόνο για πολλούς παθογόνους οργανισμούς.

Πίνακας 1. Σύσταση του προστατικού εκκρίματος

Σύσταση του προστατικού εκκρίματος	
Πρωτεΐνες	25 mg/ml
Λιπίδια	3 mg/ml
Νάτριο	153 mM
Κάλιο	48 mM
Ασβέστιο	30 mM
Μαγνήσιο	20 mM
Χλωριούχα	38 mM
Διττανθρακικά	20 mM
Κιτρικά	98 mM
Ψευδάργυρος	488 µg/ml
Σπερμίνη	2,4 mg/ml
Χοληστερόλη	0,9 mg/ml

Ο παράγοντας αυτός έχει αναγνωρισθεί πιθανώς ως μια ένωση άλατος ψευδαργύρου. Η συγκέντρωση του ψευδαργύρου στον προστάτη είναι 30 φορές μεγαλύτερη απ' ό τι σε άλλο όργανο. Είναι πιθανόν, η υψηλή περιεκτικότητα του ψευδαργύρου στον πυρήνα του σπέρματος να συμβάλλει στην σταθερότητα της τεταρτοταγούς δομής της χρωματίνης των σπερματοζωαρίων.³⁵⁻³⁷

Η περιεκτικότητα του προστατικού εκκρίματος σε λιπίδια, χοληστερόλη και φωσφολιπίδια είναι πολύ υψηλή, και ρόλος τους φαίνεται να είναι η προστασία των σπερματοζωαρίων από το στρες της αλλαγής θερμοκρασίας κατά την εκσπερμάτιση.³⁸

Στο προστατικό έκκριμα περιέχονται ιόντα Ca^{++} , Mg^{++} σε μεγάλη συγκέντρωση. Το μαγνήσιο υπάρχει στα ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό των υδατανθράκων. Έχει φανεί ότι η έλλειψη μαγνησίου που παρατηρείται σε φλεγμονές του προστάτη παρεμβαίνει στο μεταβολισμό των σπερματοζωαρίων, πράγμα που μπορεί να επηρεάσει την γονιμοποιητική τους ικανότητα. Επίσης, στο προστατικό έκκριμα βρίσκονται διάφορα ένζυμα που παρέχουν κυρίως αντιβακτηριακή προστασία στα σπερματοζωάρια, όπως η γαλακτική δεϋδρογενάση, η β-γλυκουρονιδάση, η α-αμυλάση, οι μινοπεπτιδάσες, καθώς και οι διαμίνες, η σπερμίνη και η σπερμιδίνη που ευθύνονται για τη χαρακτηριστική οσμή του σπέρματος.³⁹⁻⁴¹

Πίνακας 2. Πρωτεϊνικές εκκρίσεις του προστάτη αδένου

Πρωτεϊνικές εκκρίσεις του προστάτη
• Ειδικό προστατικό αντιγόνο
• Όξινη προστατική φωσφατάση
• Ειδική προστατική πρωτεΐνη 94
• Zn – α2-γλυκοπρωτεΐνη
• Λευκίνη αμινοπεπτιδάση
• Γαλακτική δεϋδρογενάση
• Τρανσφαιρίνη
• Συμπλήρωμα C3
• Ανοσοσφαιρίνες

Οι πιο σημαντικές πρωτεΐνες που παράγονται από τον προστάτη είναι:

- Το ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA - Prostatic Specific Antigen) που είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται σχεδόν αποκλειστικά από τα επιθηλιακά κύτταρα του προστάτη, γι' αυτό και στην κλινική πράξη χρησιμοποιείται σαν καρκινικός δείκτης του αδενοκαρκινώματος του προστάτη. Στον ορό του σπέρματος βρίσκεται σε μια συγκέντρωση 1000 φορές υψηλότερη από αυτήν του ορού του αίματος και ο ρόλος του φαίνεται να είναι η ρευστοποίηση του σπέρματος.^{42,43}
- Η όξινη προστατική φωσφατάση (PAP) που αποτελεί μια γλυκοπρωτεΐνη με συγκέντρωση στον προστάτη 200 φορές μεγαλύτερη απ' ό,τι στους ιστούς άλλων οργάνων του ανθρώπινου σώματος. Αν και ο ρόλος της δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί, φαίνεται ότι διασπά μια άλλη ουσία που παράγεται στις σπερματοδόχους κύστες, τη γλυκεροφωσφατοχολίνη, δημιουργώντας τη γλυκερυλφωσφατάση, που μπορεί να έχει σημαντική αποστολή στην προστασία και διατήρηση του σπερματοζωαρίου.

1.8. Πέος

Το πέος είναι ένα επίμηκες κυλινδρικό σώμα που βρίσκεται μπροστά και κάτω από την ηβική χώρα και αποτελεί όργανο του ουροποιητικού, αλλά και του αναπαραγωγικού συστήματος του άνδρα. Η λειτουργία του, ως το τελικό όργανο του ουροποιητικού συστήματος, περιορίζεται στη δίοδο και έξοδο των ούρων. Ως όργανο του ανδρικού γεννητικού συστήματος ο ρόλος του είναι η μεταφορά και η εναπόθεση του σπέρματος στο βάθος του γυναικείου κόλπου της γυναίκας που επιτυγχάνεται με τη στύση και τη συνουσία.

Περιγραφικά, το πέος διακρίνεται σε δύο μοίρες:

- Την περινεϊκή μοίρα (ρίζα του πέους), που χρησιμεύει στη στερεή σύνδεση του με το περίνεο. Η ρίζα του πέους βρίσκεται κάτω από την ηβική σύμφυση και αποτελείται από τα δύο σκέλη των σηραγγωδών σωμάτων, τα οποία χωρίζονται μεταξύ τους από το κτενοειδές διάφραγμα και τον βολβό του σπογγώδους σώματος της ουρήθρας

- Την ελεύθερη μοίρα, η οποία κρέμεται μπροστά από την ηβική σύμφυση, και ξεκινάει από αυτήν, καταλήγοντας στη βάλανο. Αποτελείται από δύο μέρη, τη βάλανο που έχει κωνικό σχήμα και είναι κατάληξη του σπογγώδους σώματος της ουρήθρας και το σώμα που χωρίζεται από τη βάλανο με την στεφανιαία αύλακα. Στην κορυφή της βαλάνου (ή κοντά της) παρατηρείται μία κάθετα φερόμενη σχισμή, που αποτελεί το έξω στόμιο της ουρήθρας. Το σώμα απαρτίζεται από τα δύο σηραγγώδη σώματα (αριστερό και το δεξιό) και το σπογγώδες σώμα της ουρήθρας, στην κάτω επιφάνεια του πέους. Το σχήμα του σώματος είναι κυλινδρικό και κατά τη στύση μετατρέπεται σε τριγωνικό πρίσμα.

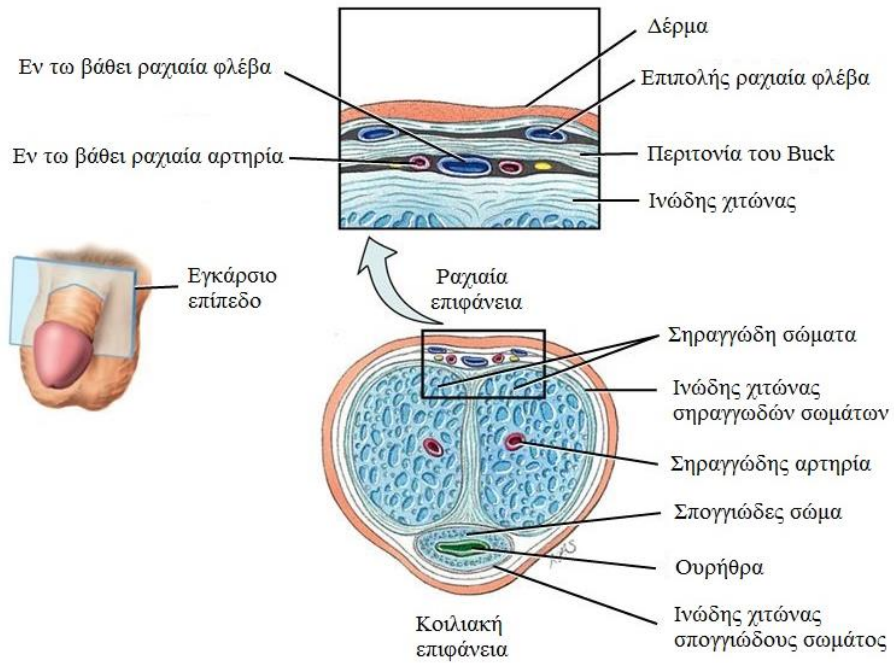
Το πέος συνίσταται από τα ακόλουθα μέρη (**Εικόνα 7**):

- τα περιβλήματα του, δηλαδή το δέρμα, με την πόσθη και την ακροποσθία, την επιπολής και εν τω βάθει περιτονία του πέους και τον ινώδη χιτώνα. Η πόσθη είναι το δερματικό περίβλημα του πέους, αποτελεί τη συνέχεια του δέρματος του εφηβαίου και του οσχέου και συνίσταται από το κυρίως δέρμα, το δαρτό, και από τον υποδόριο συνδετικό ιστό. Ο δαρτός χιτώνας του πέους, που είναι συνέχεια του αντίστοιχου χιτώνα του οσχέου, αποτελεί ινομυώδη χιτώνα, ο οποίος είναι αναπτυγμένος περισσότερο στην ουρηθραία επιφάνεια και περιέχει άφθονες δέσμες λειών μυϊκών ινών. Η ακροποσθία είναι το δέρμα που καλύπτει τη βάλανο και αποτελείται από δύο πέταλα, το έξω και το έσω, το οποίο κοιλιακά σχηματίζει τον χαλινό της ακροποσθίας. Η επιπολής πείκη περιτονία αποτελεί συνέχεια της περιτονίας του Scarpa, ενώ η εν τω βάθει πείκη περιτονία (περιτονία του Buck) καλύπτει τα σηραγγώδη σώματα και το σπογγώδες σώμα, καθώς και τις εν τω βάθει φλέβες και αρτηρίες του πέους. Ο ινώδης χιτώνας του πέους (tunica albuginea) περιβάλλει το κάθε σηραγγώδες και σπογγώδες σώμα ξεχωριστά.
- τους συνδέσμους του πέους. Ο σφενδονοειδής σύνδεσμος εκφύεται από τη λευκή γραμμή και αποσχίζεται σε δύο πέταλα, τα οποία, αφού σχηματίσουν βρόγχο (δίκηνη σφενδόνης), ο οποίος περιβάλλει το πέος, καταφύονται στο διάφραγμα του οσχέου. Ο κρεμαστήρας σύνδεσμος έχει τριγωνικό σχήμα και εκφύεται από την πρόσθια επιφάνεια της ηβικής σύμφυσης και καταφύεται στις πλάγιες πλευρές του εν τω βάθει πετάλου της περιτονίας του πέους, αντίστοιχα προς το όριο ανάμεσα στη ρίζα και την ελεύθερη μοίρα του πέους.

- τους μύες. Οι ισchioσηραγγώδεις μύες με την σύσπασή τους συμπιέζουν τα σκέλη των σηραγγωδών σωμάτων του πέους και συμβάλλουν στην αύξηση της ενδοσηραγγώδους πίεσης στη φάση της άκαμπτης στύσης. Οι βολβοσηραγγώδεις μύες περιβάλλουν τη βολβική μοίρα του σπογγώδους σώματος της ουρήθρας και ενώνονται μεταξύ τους στη μέση γραμμή της ουρήθρας.
- τα δυο σηραγγώδη σώματα και το σπογγώδες σώμα του πέους, που είναι δυνατό να θεωρηθούν ότι αποτελούν αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις. Το κάθε σηραγγώδες σώμα αποτελείται εξωτερικά από έναν παχύ ινώδη χιτώνα, απ' όπου εξορμούν πολυάριθμες δοκίδες και πετάλια που φέρονται σε ποικίλες διευθύνσεις, ώστε να διαμορφώνονται ανάμεσα τους χώροι ποικίλου σχήματος, οι οποίοι επικοινωνούν μεταξύ τους και ονομάζονται σήραγγες. Οι σήραγγες του ενός σηραγγώδους σώματος βρίσκονται σε επικοινωνία με τις σήραγγες του άλλου, διαμέσου των κενών του κτενιοειδούς διαφράγματος. Οι δοκίδες συνίστανται εκτός από πυκνό ινώδη συνδετικό ιστό και από ελαστικές και λείες μυϊκές ίνες, που καλύπτονται από ενδοθήλιο. Τα μυϊκά στοιχεία κυριαρχούν στην κατασκευή των τοιχωμάτων των σηράγγων σωμάτων. Το σπογγώδες σώμα διαπερνάται κατά μήκος του από την ουρήθρα, ενώ η βάλανος στερείται ινώδους χιτώνα. Οι αιματικοί κόλποι του σπογγώδους σώματος είναι μεγαλύτεροι των αντίστοιχων κόλπων των σηραγγωδών σωμάτων και οι λείες μυϊκές ίνες είναι λιγότερες.¹⁹
- τα αγγεία του πέους. Τα περιβλήματα του πέους αιματώνονται κυρίως από κλάδους των έξω αιδοϊκών αρτηριών, που προέρχονται από την κοινή μηριαία αρτηρία, καθώς επίσης και από κλαδίσκους της ραχιαίας αρτηρίας του πέους. Οι αρτηρίες που αιματώνουν τα σηραγγώδη σώματα και αποτελούν κλάδους της αρτηρίας του πέους είναι η ραχιαία, η εν τω βάθει, η βολβική και η ουρηθραία αρτηρία του πέους. Η βολβική και η ουρηθραία αρτηρία αιματώνουν το σπογγώδες σώμα της ουρήθρας έως τη βάλανο. Τα σηραγγώδη σώματα του πέους αιματώνονται από τις εν τω βάθει και από τις ραχιαίες αρτηρίες του πέους. Η εν τω βάθει αρτηρία του πέους διεισδύει στα σηραγγώδη σώματα από την έσω επιφάνειά τους, στην περιοχή όπου ενώνονται το ένα με το άλλο και πορεύεται στη συνέχεια στον επιμήκη άξονα του σώματος. Κατά την πορεία της αυτή αναστομώνεται πολλαπλώς με την

αρτηρία του αντίθετου σπυρραγγώδους σώματος, διαμέσου εγκάρσιων αναστομωτικών κλάδων, διασφαλίζοντας έτσι την ταυτόχρονη διόγκωση των σπυράγγων των δύο σπυρραγγωδών σωμάτων του πέους κατά τη στύση. Οι φλέβες που αποχετεύουν το αίμα από το πέος διακρίνονται στις επιπολής φλέβες, που αθροίζουν το αίμα από τα περιβλήματα του και εκβάλλουν στην επιπολής ραχιαία φλέβα του πέους, και στις εν τω βάθει ή φλέβες σπυρραγγωδών σωμάτων. Η επιπολής (υποδόρια) ραχιαία φλέβα πορεύεται κάτω από το δαρτό χιτώνα με κατεύθυνση προς την ηβική σύμφυση και εκβάλλει στις έξω αιδοϊκές φλέβες, όπου αναστομώνεται με προστατοκυστικό φλεβικό πλέγμα. Οι εν τω βάθει φλέβες που αποχετεύουν το αίμα των σπυρραγγωδών σωμάτων αρχίζουν από τη βάση της βαλάνου και στρέφονται προς τη ράχη του πέους, σχηματίζοντας την εν τω βάθει ραχιαία φλέβα του πέους. Το αίμα των σπυρραγγωδών σωμάτων εκβάλλει στην εν τω βάθει ραχιαία φλέβα είτε με τις άνω και τις κάτω φλέβες των σπυρραγγωδών σωμάτων είτε με τις περισπωμένες φλέβες. Οι περισπωμένες (κυκλοτερείς) φλέβες σχηματίζονται στην περιοχή της ουρηθραίας αύλακας και με πορεία εγκάρσια προς τον επιμήκη άξονα του πέους φέρονται τοξοειδώς έως την εν τω βάθει ραχιαία φλέβα. Τα λεμφαγγεία του πέους διακρίνονται στα επιπολής και στα εν τω βάθει. Τα επιπολής αποχετεύουν τη λέμφο των περιβλημάτων του πέους. Αρχίζουν από την ακροποσθία και τον χαλινό της, συμπορεύονται με την επιπολής (υποδόρια) ραχιαία φλέβα και εκβάλλουν στην άνω έσω ομάδα των επιπολής βουβωνικών λεμφαδένων. Τα εν τω βάθει αποχετεύουν τη λέμφο των σπυρραγγωδών σωμάτων και της βαλάνου, συμπορεύονται με την εν τω βάθει ραχιαία φλέβα του πέους και εκβάλλουν, άλλα στα επιπολής βουβωνικά λεμφογάγγλια και άλλα στα εν τω βάθει βουβωνικά ή στα έξω λαγόνια λεμφογάγγλια.

- νεύρα. Το ραχιαίο νεύρο του πέους πορεύεται στη ραχιαία επιφάνεια του οργάνου, κάτω από την περιτονία του Buck και προσφέρει την αισθητική κεντρομόλο οδό του αντανακλαστικού της στύσης με ερεθίσματα από το δέρμα του πέους, την πόσθη και τη βάλανο. Έχει συμπαθητική και παρασυμπαθητική νεύρωση.¹⁹



Εσωτερική ανατομία εγκάρσιας διατομής πέους

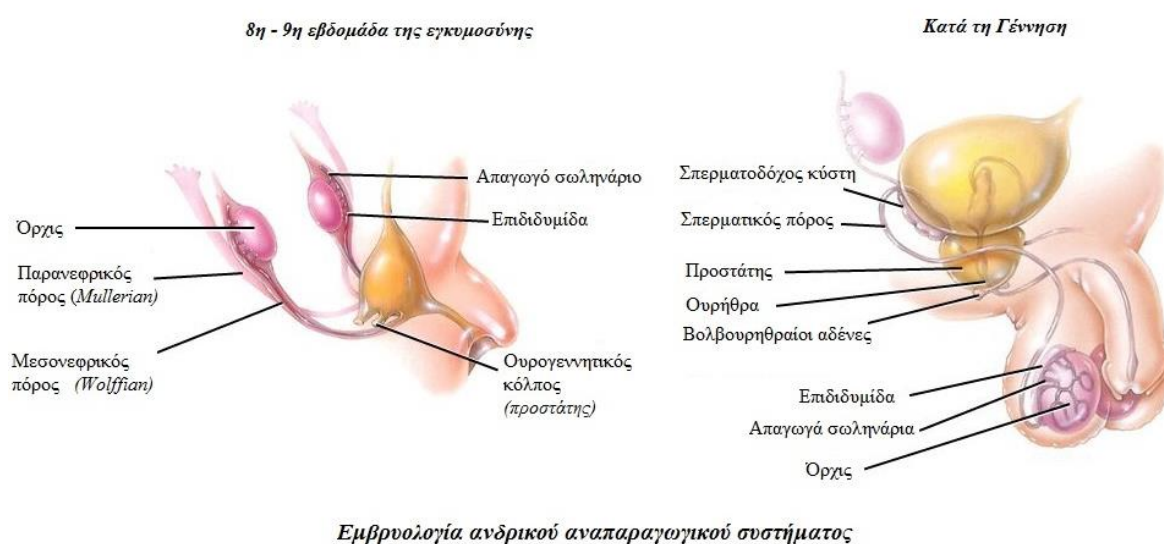
Copyright © John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Εικόνα 7. Εσωτερική ανατομία εγκάρσιας διατομής του πέους (τροποποιημένη αναφορά).²

2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΑΝΔΡΙΚΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Το γεννητικό και το ουροποιητικό σύστημα, από εμβρυολογικής και ανατομικής άποψης, είναι στενά συνυφασμένα και γι' αυτό περιγράφονται πολλές φορές ως ενιαίο σύστημα, το ουρογεννητικό. Και τα δυο αναπτύσσονται από κοινό μεσοδερμικό όγκωμα, το διάμεσο μεσόδερμα (κοινή μοίρα του μέσου βλαστικού δέρματος), το οποίο πορεύεται κατά μήκος του οπίσθιου τοιχώματος της κοιλιακής κοιλότητας, ενώ οι απεκκριτικοί πόροι και των δυο συστημάτων εκβάλλουν αρχικά σε κοινή κοιλότητα, την αμάρα (Εικόνα 8).

Κατά την εμβρυική τους ανάπτυξη, τα δύο συστήματα καθίστανται αλληλένδετα, κυρίως στον άντρα. Ο αρχέγονος απεκκριτικός πόρος λειτουργεί αρχικά ως ουρικός πόρος, αλλά αργότερα μεταμορφώνεται σε κύριο γεννητικό πόρο.



Copyright © John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Εικόνα 8. Εμβρυολογία ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος (τροποποιημένη αναφορά).²

Κατά την 3^η εβδομάδα της ανάπτυξης, το μεσόδερμα (μέσο βλαστικό δέρμα) διαφοροποιείται σε 3 μοίρες-περιοχές: την οπίσθια, την πλάγια και την ενδιάμεση, η οποία παράγει τμήματα των γονάδων, καθώς και τους γεννητικούς πόρους του άρρενος.

Το γεννητικό σύστημα του άντρα και της γυναίκας είναι ουσιαστικά πανομοιότυπο μέχρι το τέλος της 6^{ης} εβδομάδας. Αν και στο τέλος της 6^{ης} εβδομάδας δεν υπάρχουν εμφανείς μορφολογικές διαφορές ανάμεσα στα δύο φύλα, υπάρχουν ήδη μικρές κυτταρικές διαφορές. Και στα δύο φύλα υφίστανται γεννητικά κύτταρα και φυλετικές δοκίδες, τόσο στις φλοιώδεις όσο και στις μυελώδεις περιοχές των μελλοντικών γονάδων, καθώς και πλήρως σχηματισμένοι μεσονεφρικοί και παραμεσονεφρικοί πόροι κείμενοι παραπλεύρως ο ένας στον άλλο. Η αδιαφοροποίητη φάση της γεννητικής ανάπτυξης (αμφιφυλετική) τελειώνει σε αυτό το σημείο και από την 7^η εβδομάδα και έπειτα το γεννητικό σύστημα του άντρα και της γυναίκας διαφοροποιούνται κατά την ανάπτυξή τους. Στο τέλος της αδιαφοροποίητης φάσης της φυλετικής ανάπτυξης, η αρχέγονη γεννητική οδός και στα δύο φύλα αποτελείται από τρία τμήματα: τις γονάδες, τα δυο συστήματα των γεννητικών πόρων και των έξω γεννητικών οργάνων.^{44,45}

2.1. Γονάδες

Αν και το φύλο του εμβρύου καθορίζεται γενετικά κατά τη γονιμοποίηση, μέχρι την 7^η εβδομάδα της ανάπτυξης οι γονάδες δεν αποκτούν μορφολογικούς χαρακτήρες άρρενος ή θήλεος. Οι γονάδες εμφανίζονται αρχικά με τη μορφή ενός ζεύγους επιμήκων ακρολοφιών, τους γεννητικούς ή γοναδικούς κρημνούς, και σχηματίζονται με πολλαπλασιασμό του βλαστικού επιθηλίου και πύκνωση του υποκειμένου μεσεγγύματος στις δυο πλευρές του ραχιαίου μεσεντερίου, στην επιφάνεια του μεσόνεφρου. Ο μεσόνεφρος και η γονάδα έχουν μεσοδερματική προέλευση. Η γοναδική καταβολή εμφανίζεται αρχικά σαν πάχυνση του εσωτερικού τοιχώματος του μεσόνεφρου που, καθώς αναπτύσσεται, προβάλλει στο σπλαχνικό κοίλωμα και χωρίζεται βαθμιαία από το μεσόνεφρο, με το οποίο παραμένει συνδεδεμένη στην περιοχή της πύλης με το μεσόρχιο για τον όρχι και το μεσοωθήκιο για την ωοθήκη. Στα ανθρώπινα έμβρυα, τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα εμφανίζονται σε ένα πρώιμο στάδιο της ανάπτυξης ανάμεσα στα ενδοδερμικά κύτταρα στο τοίχωμα του λεκιθικού ασκού, κοντά στην αλλαντοΐδα. Βλαστικά κύτταρα δεν εμφανίζονται στους γεννητικούς κρημνούς πριν από την 6^η εβδομάδα της ανάπτυξης. Τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα μεταναστεύουν κατά μήκος του ραχιαίου μεσεντερίου του οπισθίου εντέρου, φθάνουν στις αρχέγονες γονάδες στην αρχή της 5^{ης} εβδομάδας και εισχωρούν στους γεννητικούς κρημνούς την 6^η εβδομάδα της

ανάπτυξης. Αν δεν κατορθώσουν να φθάσουν στους γεννητικούς κρημνούς, οι γονάδες δεν αναπτύσσονται. Επομένως, τα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα επιδρούν επαγωγικά στην εξέλιξη των γονάδων σε ωοθήκες ή όρχεις.^{44,45}

2.2. Γεννητικοί πόροι

Τόσο το άρρεν όσο και το θήλυ έμβρυο παρουσιάζουν αρχικά δύο ζεύγη γεννητικών πόρων: α) τους μεσονεφρικούς πόρους ή πόρους του Wolff και β) τους παραμεσονεφρικούς πόρους ή πόρους του Müller. Την 6^η εβδομάδα αρχίζει να σχηματίζεται τόσο στα άρρενα όσο και στα θήλεα έμβρυα ένα νέο ζεύγος πόρων, οι παραμεσονεφρικοί πόροι, σε αμέσως εξωτερική θέση ως προς τους μεσονεφρικούς πόρους. Οι πόροι αυτοί εμφανίζονται με κεφαλουραία εγκόλπωση μιας ταινίας πεπαχυσμένου κοιλωματικού επιθηλίου, εκτεινόμενης από το 3^ο θωρακικό τμήμα μέχρι ουραίως του οπισθίου τοιχώματος του ουρογεννητικού κόλπου. Στο μεγαλύτερο μήκος τους οι εν λόγω πόροι περικλείονται από τη βασική μεμβράνη των παρακείμενων μεσονεφρικών πόρων. Στη συνέχεια, τα ουραία άκρα των παραμεσονεφρικών πόρων αναπτύσσονται, διασταυρώνονται με τους μεσονεφρικούς πόρους και συνδέονται με την πυελική ουρήθρα σε αμέσως εσωτερική θέση ως προς τα στόμια του δεξιού και του αριστερού μεσονεφρικού πόρου. Τα άκρα των δύο παραμεσονεφρικών πόρων συνενώνονται λίγο πριν έλθουν σε επαφή με την πυελική ουρήθρα. Τα άνω άκρα των παραμεσονεφρικών πόρων σχηματίζουν χωνοειδή στόμια προς την σπλαχνική κοιλότητα.

Ο σχηματισμός της γεννητικής οδού του άρρενος εμβρύου αρχίζει από την εκφύλιση - ατροφία των πόρων του Müller υπό την επίδραση της anti Mullerian hormone και συνεχίζεται με τη σταθεροποίηση και ανάπτυξη των πόρων του Wolff. Το αντίθετο συμβαίνει στο θηλυκό έμβρυο.

Στην παρεμπόδιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου των πόρων του Wolff, κατά τη φάση εξέλιξης του αμφιφυλετικού σταδίου της φυλετικής διαφοροποίησης, τα ανδρογόνα έχουν καθοριστικό ρόλο. Θεωρείται ότι το δραστικό ενδοκυττάριο ανδρογόνο είναι η τεστοστερόνη, επειδή στους πόρους ανιχνεύεται ελάχιστη ποσότητα 5α-αναγωγήσης.

Μετά τη σταθεροποίηση των πόρων του Wolff αρχίζει η τμηματική διαφοροποίηση. Από το ανώτερο τμήμα του πόρου που συνδέεται με τους όρχεις αναπτύσσεται η επιδιδυμίδα, από το κεντρικό τμήμα οι σπερματικοί πόροι, και από το τελικό τμήμα οι σπερματοδόχοι κύστες και οι εκσπερματικοί πόροι. Το ουραίο άκρο του πόρου, που στο

έμβρυο των 30 ημερών έχει ήδη αναπτυχθεί, εκβάλλει στον ουρογεννητικό κόλπο. Από το ενδόδεσμα του ουρογεννητικού κόλπου αναπτύσσονται οι καταβολές των επιθηλιακών πόρων του προστάτη αδένου (ενδοδερματικές εκβλαστήσεις της αρχέγονης ουρήθρας).

Οι σπερματοδόχοι κύστες αρχίζουν να εμφανίζονται στο τέλος του 3^{ου} μήνα της κύησης ως εγκοιλώσεις του κατώτερου άκρου των μεσονεφρικών πόρων. Αυτές οι επιθηλιακές εγκοιλώσεις αναπτύσσονται προς το κεφαλικό άκρο σαν τυφλοί ελικοειδείς σωλήνες κατά τον 4^ο μήνα. Κατά την περίοδο αυτή, ο βλεννογόνος καλύπτεται από επιθήλιο όμοιο με αυτό του σπερματικού πόρου. Μεταξύ 6^{ου} και 7^{ου} μήνα γίνεται ο σχηματισμός των αδένων των σπερματοδόχων κύστεων με τη χαρακτηριστική τους πτύχωση και την ωρίμανση του βλεννογόνου σε μονόστοιβο ή ψευδοπολύστοιβο κυλινδρικό, ενώ αρχίζει ήδη να παρουσιάζει κάποιο βαθμό εκκριτικής λειτουργίας. Υπό την επίδραση της τεστοστερόνης οι εγκοιλώσεις αναπτύσσονται κεφαλικά και, περί το τέλος της κύησης, το τυφλό τους άκρο κάμπτεται ουραία. Αμέσως μετά τη γέννηση, οι σπερματοδόχοι κύστες αναγνωρίζονται ως απλές σωληνωτές αποφύσεις των σπερματικών πόρων, που μοιάζουν με μαστούνι. Η μορφογένεση των σπερματοδόχων κύστεων και η δημιουργία των παράπλευρων κλάδων αρχίζει την 3^η ημέρα και νέες διακλαδώσεις αναπτύσσονται, μεταξύ 6^{ης} και 9^{ης} ημέρας. Την 30^η εβδομάδα τοποθετούνται όπισθεν του τριγώνου της ουροδόχου κύστης και συγκοινωνούν με τους σπερματικούς πόρους στη βάση του προστάτη, όπου και σχηματίζονται οι εκσπερματικοί πόροι.

Ο σπερματικός πόρος προέρχεται από το άνω τμήμα του πόρου του Wolff και κατά τη 12^η εβδομάδα κατέρχεται πίσω από την ουροδόχο κύστη.

Ο προστάτης αναπτύσσεται κατά τη διάρκεια του 3^{ου} μήνα της κύησης από πολλαπλές συμπαγείς προεκβολές του ουρηθρικού επιθηλίου άνωθεν και υπό της εισόδου του μεσονεφρικού πόρου, που εισβάλλουν στον περιβάλλοντα μεσεγγυματικό ιστό. Οι προεκβολές αυτές σχηματίζουν 5 ομάδες, οι οποίες από την 11^η έως την 16^η εβδομάδα διακλαδίζονται συνεχώς, σχηματίζοντας τους 5 λοβούς του προστάτη. Γύρω από το σύστημα των σωληνίσκων, κατά την 16^η εβδομάδα, μέρος του μεσεγγύματος αναπτύσσεται και διαμορφώνει την προστατική κάψα. Οι πόροι του Wolff εκβάλλουν στην περιοχή του σπερματικού λοφιδίου.

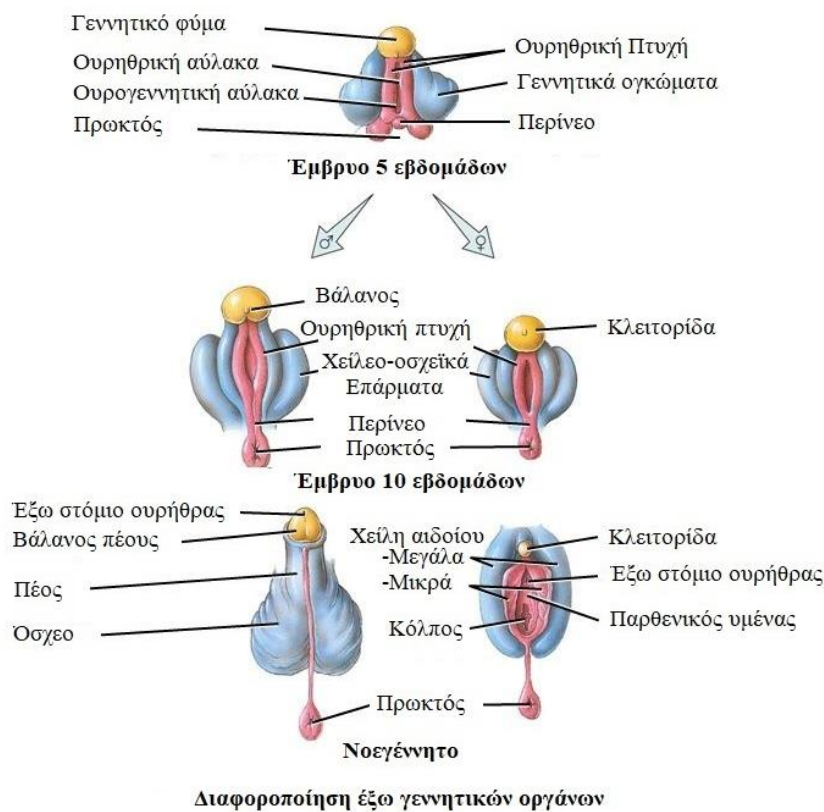
Οι βολβοουρηθριαίοι αδένες (του Cowper) προέρχονται από δύο ενδοδερματικές επιθηλιακές εκβλαστήσεις της πυελικής μοίρας του ουρογεννητικού κόλπου, ενώ οι ουρηθριαίοι αδένες (του Littre) αναπτύσσονται στην αρχή του 5^{ου} μήνα από

ενδοδερματικές εκβλαστήσεις της σφραγγώδους μοίρας της ουρήθρας. Συγχρόνως, εμφανίζονται ως μικρές εκβλαστήσεις από το εξώδερμα και οι αδένες της ακροποσθίας. Μέρος της ήδη διαφοροποιημένης ουροδόχου κύστης συμμετέχει στο σχηματισμό της προστατικής μοίρας της ουρήθρας.^{45,46}

2.3. Εξωτερικά γεννητικά όργανα

Αποτελούν την κοινή έξοδο των πόρων του ουροποιητικού και του γεννητικού συστήματος στο κοιλιακό τοίχωμα, μέσα από τις γεννητικές πτυχές.

Στην 4^η εμβρυϊκή εβδομάδα, το ραχιαίο μέρος του λεκιθικού ασκού ενσωματώνεται στο έμβρυο, σχηματίζοντας τον πρωτογενή πεπτικό σωλήνα. Το οπίσθιο έντερο, το οποίο εκτείνεται από το μέσο έντερο, και το μελλοντικό ουρογεννητικό σύστημα προσεγγίζουν την κοιλιακή επιφάνεια του εμβρύου στην αμαρική μεμβράνη. Η αμάρα, όπου καταλήγει η αλλαντοΐδα και οι μεσονεφρικοί πόροι (πόροι του Wolf), σχηματίζεται από τη διεύρυνση της τελικής μοίρας του οπισθίου εντέρου⁴⁷ (Εικόνα 9).



Εικόνα 9. Διαφοροποίηση έξω γεννητικών οργάνων (τροποποιημένη αναφορά).²

Η αμάρα, μεταξύ της 4^{ης}-7^{ης} εμβρυϊκής εβδομάδας, διαιρείται από το ουροορθικό διάφραγμα σε δύο χώρους: τον οπίσθιο ή ορθοπρωκτικό σωλήνα και τον πρόσθιο ή αρχέγονο ουρογεννητικό κόλπο. Η αμαρική μεμβράνη διαιρείται επίσης σε ουρογεννητική (πρόσθια) και πρωκτική (οπίσθια) μεμβράνη.⁴⁷ Από τον ουρογεννητικό κόλπο θα προέλθουν αργότερα τρεις διαφορετικές μοίρες: α) η άνω και πιο διευρυμένη, από την οποία θα προέλθει η ουροδόχος κύστη, β) η μέση, από όπου στον άνδρα θα προέλθει η προστατική και μέρος της υμενώδους μοίρας της ουρήθρας και γ) η τελική που θα αποτελέσει το φαλλικό τμήμα.⁴⁷

Την 5^η εβδομάδα της κύησης, με την εμφάνιση ενός απλού αρχέγονου οργάνου, καθορίζεται η θέση των έξω γεννητικών οργάνων, ενώ μέχρι και την 7^η εμβρυϊκή εβδομάδα τα έξω γεννητικά όργανα του αρρενοσ και του θήλεος εμβρύου είναι ακόμη όμοια.⁴⁸ Γύρω από την ουρογεννητική μεμβράνη διακρίνονται τρία επάρματα: το γεννητικό φύμα, οι ουρογεννητικές πτυχές και τα χειλεοσχεϊκά επάρματα.⁴⁹

Στον άντρα, η ουρήθρα προέρχεται από την ουρηθρική πλάκα, η οποία εκφύεται από τα τοιχώματα της αμάρας και του ουρογεννητικού κόλπου μεταξύ 8^{ης}-16^{ης} εβδομάδας της κύησης υπό την επίδραση των ανδρογόνων. Η ανάπτυξη των ουρηθραίων πτυχών στην κοιλιακή επιφάνεια του φαλλικού τμήματος του ουρογεννητικού κόλπου εκατέρωθεν της ουρηθρικής πλάκας δημιουργεί την πρωτογενή ουρηθρική αύλακα. Περί την 11^η εμβρυϊκή εβδομάδα, πάντα υπό την επίδραση των ανδρογόνων, οι ουρηθραίες πτυχές αρχίζουν να συγχωνεύονται κατά μήκος της μέσης γραμμής της κοιλιακής επιφανείας του πεικού κορμού με φυγόκεντρο κατεύθυνση, υπεγείροντας την ουρηθρική πλάκα προκειμένου να σχηματιστεί η ουρήθρα.⁵⁰ Μέχρι την 12^η εβδομάδα της κύησης έχει ολοκληρωθεί η συγχώνευση των ουρηθραίων πτυχών και η στεφανιαία αύλακα διαχωρίζει τη βάλανο από το σώμα του πέους. Η βαλανική ουρήθρα εμφανίζεται την 16^η εμβρυϊκή εβδομάδα, προφανώς από ένα τμήμα της ουρηθρικής πλάκας (ενδοδερμική προέλευση), με μηχανισμό ανάλογο του σχηματισμού της πεικής μοίρας.⁵¹

Η ακροποσθιακή πτυχή απ' όπου θα προκύψει η ακροποσθία θα αρχίσει να εμφανίζεται χαμηλά σε κάθε πλευρά του πεικού κορμού κατά την 8^η εμβρυϊκή εβδομάδα περίπου. Η διαδικασία ανάπτυξης και μετακίνησης της ακροποσθιακής πτυχής συνεχίζεται μέχρι να καλυφθεί ολόκληρη η βάλανος, περί την 20^η εμβρυϊκή εβδομάδα.⁵²

3. ΚΑΘΟΔΟΣ ΤΟΥ ΟΡΧΕΩΣ

3.1. Εξελικτικές θεωρίες της καθόδου των όρχεων στα θηλαστικά

Η εξελικτικά δαπανηρή διεργασία της καθόδου των όρχεων στα θηλαστικά από την αρχική τους θέση δίπλα στην ουρογενετική πτυχή στο όσχεο αποτελεί διαδικασία απαραίτητη για την παραγωγή και διατήρηση βιώσιμου σπέρματος. Αν και αποτελεί διαδικασία η οποία συναντάται στα οσχεοφόρα ή μη θηλαστικά, ο βαθμός καθόδου και η θέση ποικίλει ανάλογα με το είδος. Υπάρχουν θηλαστικά με οσχεϊκούς, με οσχεοβουβωνικούς ή με κοιλιακούς όρχεις.^{53,54}

Εξελικτικά μιλώντας, η κάθοδος των όρχεων είναι μία ενεργειακά ασύμφορη διαδικασία, η οποία θα εκλείψει στα θηλαστικά μόλις βρεθεί μία εναλλακτική λύση στο πρόβλημα της σπερματογένεσης που δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί στις σχετικά υψηλές ενδοκοιλιακές θερμοκρασίες.⁵⁵ Φαίνεται ότι η εξέλιξη των ειδών κατευθύνεται σε γενικές γραμμές προς τη σταδιακή εξαφάνιση του οσχέου και η οσχεϊκή εντόπιση των όρχεων αποτελεί την αρχέγονη κατάσταση όλων των θηλαστικών.

Στην προσπάθεια να δοθεί εξήγηση σε αυτήν την ασύμφορη διαδικασία καθόδου του όρχεως και την ανάπτυξη του οσχέου, πολλές θεωρίες έχουν διατυπωθεί.

3.1.1. Η θεωρία της θερμοκρασιακά εξαρτώμενης σπερματογένεσης

Βάσει της θεωρίας αυτής, ο όρχις κατεβαίνει σε ένα εξαιρετικά εξειδικευμένο, χαμηλής θερμοκρασίας περιβάλλον (όσχεο) κάτι που είναι απαραίτητο για την παραγωγή βιώσιμου και λειτουργικού σπέρματος.⁵⁵ Είναι γνωστό ότι σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 35-38°C η σπερματογένεση πραγματοποιείται χωρίς προβλήματα,⁵⁶ ενώ υψηλότερες θερμοκρασίες, όπως εκείνες που επικρατούν στο εσωτερικό της κοιλιάς, μπορούν μακροπρόθεσμα να προκαλέσουν πρόβλημα στην παραγωγή ή την αποθήκευση του σπέρματος.⁵⁶⁻⁶³ Έτσι, για τη διατήρηση του όρχεως και της επιδιδυμίδας σε θερμοκρασίες 3-5°C χαμηλότερα από τη θερμοκρασία του σώματος, ο άνθρωπος αλλά και τα περισσότερα θηλαστικά έχουν αναπτύξει ένα μεγάλο αριθμό εξειδικευμένων ανατομικών και φυσιολογικών προσαρμογών του οσχέου.^{58,61,63-68} Η υπόθεση αυτή επικρίθηκε από αρκετούς συγγραφείς^{57,58,66,69} κυρίως για τη σχέση ανάμεσα στην κεντρική θερμοκρασία του σώματος και στη θερμοκρασία του όρχεως σε είδη με ή χωρίς όσχεο. Αμφισβητήθηκε επίσης, και λόγω της αδυναμίας να εξηγηθεί διαμέσου αυτής της θεωρίας, η

ποικιλομορφία που παρατηρείται στο βαθμό της καθόδου του όρχι.⁵³ Παρ' όλα αυτά, η υπόθεση ενισχύεται από τα δεδομένα που υποστηρίζουν ότι η μεγάλη πλειοψηφία των μη οσχεοφόρων θηλαστικών ειδών που έχουν διασωθεί δεν αναπτύσσουν υψηλότερες ορχικές θερμοκρασίες συγκριτικά με τα οσχεοφόρα είδη.⁵³

Σε ορισμένες ζωικές τάξεις που δεν διαθέτουν όσχεο, όπως ο νότιος θαλάσσιος ελέφαντας, η φώκια,^{70,71} και τα θαλάσσια θηλαστικά, όπως το δελφίνι και η φάλαινα,^{72,73} έχουν βρεθεί ιδιαίτεροι μηχανισμοί ψύξης του όρχεως, όπως φλεβικά πλέγματα που μεταφέρουν ψυχρό αίμα γύρω από τις αρτηρίες που αιματώνουν τον όρχι (countercurrent heat exchangers). Κάποια πρωτεύοντα testiconda, όπως τα μονοτρημάτα (ορνιθόρυγχος),⁷⁴ χυρακοειδή (χύραξ) και προβοσκιδοειδή (ελέφαντες), δεν χρειάζονται τέτοιους μηχανισμούς επειδή η κεντρική θερμοκρασία του σώματός τους είναι χαμηλή, πιθανώς ως συνέπεια εξελικτικής προσαρμογής στην ανοσχεϊκή τους κατάσταση.⁷⁵ Στον αφρικανικό τρωκτικοειδή χύρακα είναι γνωστό ότι το μικρό μέγεθος του σώματός του, με τους όρχεις τοποθετημένους στο οπίσθιο σωματικό τοίχωμα, και την εποχική αναπαραγωγική δραστηριότητα, καθιστά εύκολη σχετικά τη ρύθμιση της θερμοκρασίας των όρχεων σε επίπεδα τέτοια ώστε η σπερματογένεση να είναι εφικτή.^{74,76} Οι ελέφαντες, που θεωρούνται ζώα ανθεκτικά στις βλαπτικές συνέπειες της υψηλής θερμοκρασίας στη βιωσιμότητα του σπέρματος,⁷⁵ έχουν ορχική θερμοκρασία ίδια με τη θερμοκρασία του σώματός τους (>36°C),⁵⁷ αν και οι σπερματικές τους φλέβες καταλήγουν στην οπίσθια κήλη φλέβα, χωρίς εμφανή ύπαρξη κληματοειδούς φλεβικού πλέγματος, που θα μπορούσε να ψύξει τον όρχι.⁷⁷ Ωστόσο, θερμοκρασίες μεταξύ 36-38°C δεν θεωρούνται τόσο υψηλές ώστε να προκαλέσουν ασπερμία, όπως οι θερμοκρασίες άνω των 38°C που θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε αυτό το αποτέλεσμα.⁷⁸ Λαμβάνοντας υπόψη τα δεδομένα αυτά, δεν μπορούμε να απορρίψουμε την υπόθεση της θερμοκρασιακά εξαρτώμενης σπερματογένεσης μιας και οι ελέφαντες ανήκουν στα πρωτεύοντα testiconda.⁵³ Η υπόθεση αυτή του Moore υποστηρίζεται ακόμη και από τη φυλογενετική άποψη,⁵³ η οποία παρέχει ισχυρή απόδειξη της επιλεκτικής μεταβίβασης από μία κατάσταση με παρουσία οσχέου σε μία κατάσταση όπου το όσχεο λείπει. Μπορεί να θεωρηθεί, επομένως, ότι αυτή η διακύμανση της ορχικής θέσης στα διάφορα είδη θηλαστικών μπορεί να είναι το αποτέλεσμα αναπτυξιακών και φυσιολογικών δυσκολιών υπό την πίεση της εξέλιξης των ειδών.

3.1.2. Η θεωρία των ρυθμών μετάλλαξης

Στην προσπάθεια να εξηγηθεί αυτή η ασύμφορη διαδικασία καθόδου του όρχεως και η ανάπτυξη του όσχεου, μία πιο πρόσφατη υπόθεση διατυπώθηκε πρόσφατα από τον Short.⁷⁹ Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, η ορχική κάθοδος και η εξέλιξη του οσχέου στοχεύει να διατηρήσει το ρυθμό των μεταλλάξεων στον αρσενικό γαμέτη υπό έλεγχο. Αν λάβουμε υπόψη ότι υψηλές θερμοκρασίες προκαλούν αύξηση του ρυθμού των μεταλλάξεων και σε αυτό προσθέσουμε το γεγονός ότι στον άνθρωπο ο ρυθμός των μεταλλάξεων είναι υψηλότερος στον άνδρα από ότι στη γυναίκα,^{80,81} τότε εύκολα μπορούμε να υποθέσουμε ότι η ψύξη του όρχεως θα βοηθήσει στη διατήρηση του ρυθμού μεταλλάξεων των αρσενικών γαμετών σε αποδεκτά επίπεδα.^{82,83}

3.1.3. Η θεωρία της επίδειξης των όρχεων

Η θεωρία της επίδειξης βασίζεται στην προϋπόθεση ότι η κάθοδος του όρχεως στο όσχεο και, επομένως, σε μια ευδιάκριτη θέση έχει μεγάλη σημασία στον κοινωνικό ανταγωνισμό είτε ως ένα χαρακτηριστικό προσέλκυσης θηλυκής συντρόφου είτε ως ένα σημάδι κυριαρχίας στον ανταγωνισμό των αρσενικών.⁸⁴ Σε ορισμένες ζωικές τάξεις θηλαστικών, τα αρσενικά για να προσελκύσουν την προσοχή των θηλυκών εξέλιξαν την περιοχή του οσχέου με φωτεινά ή ζωνρά χρώματα. Αυτή η τακτική προσέλκυσης συντρόφου συναντάται σε ορισμένα πρωτεύοντα, όπου ένα στικτό όσχεο συνδυάζεται με πολυγαμικά ή έκλυτα αναπαραγωγικά συστήματα, με σαφή και έντονο ανταγωνισμό μεταξύ των αρσενικών.⁶⁶ Υπάρχουν, πράγματι, αρκετές παρατηρήσεις που στηρίζουν τη θεωρία αυτή, που προτάθηκε από τον Portman, αν και η συγκεκριμένη υπόθεση αδυνατεί να εξηγήσει την ποικιλομορφία της θέσης του όρχεως ανάμεσα στα διάφορα είδη που δεν διαθέτουν όσχεο, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι το στικτό όσχεο δεν είναι πάντοτε ορατό από το τρίχωμα ή τη γούνα τους.⁶⁶ Είναι πιθανότερο ότι το όσχεο είχε εξελιχθεί αρχικά ως όργανο επιτέλεσης άλλης λειτουργίας, ακολούθως διατηρήθηκε και, επιπλέον, υιοθετήθηκε από μερικά είδη και ιδιαίτερα από τα πρωτεύοντα θηλαστικά ως συσκευή εκπομπής σημάτων λόγω των ιδιαίτερων συστημάτων της σεξουαλικής τους συμπεριφοράς.⁸⁵ Για το λόγο αυτό, η κοινωνική συμπεριφορά μπορεί να δρα μάλλον ως περιορισμός ενάντια στις προσαρμοστικές πιέσεις προς την κατεύθυνση της απώλειας του οσχέου παρά ως ένας εξελικτικός μηχανισμός προς την κατεύθυνση της ανάπτυξής του.⁵³

3.1.4. Η θεωρία της ψυχρής συντήρησης

Τη θεωρία της ψυχρής συντήρησης ανέπτυξε για πρώτη φορά ο Bedford⁵⁸. Σύμφωνα με αυτήν, η κάθοδος του όρχεως στο όσχεο, που ως κύρια λειτουργία έχει την αποθήκευση του σπέρματος σε ψυχρό περιβάλλον, είναι δευτερεύον φαινόμενο και ακολουθεί την κάθοδο της επιδιδυμίδας που αποτελεί εξελικτικά τον κύριο ρόλο στην ανάπτυξη του οσχέου. Σύμφωνα λοιπόν με τη θεωρία αυτή, κύρια λειτουργία είναι η κάθοδος της επιδιδυμίδας, την οποία ακολουθεί ο όρχις, και η διαμόρφωση του οσχέου προσφέροντας κατ' αυτόν τον τρόπο δομική στήριξη στις επιδιδυμίδες ορισμένων ειδών. Η επιδιδυμίδα με τις σπερματοδόχες κύστεις και τους σπερματικούς πόρους, που αποτελούν τα όργανα αποθήκευσης του σπέρματος, προηγούνται του όρχεως κατά τη διαδικασία της καθόδου, κατεβαίνοντας στο σωματικό τοίχωμα ή μέσα σε σχηματισμούς που προσομοιάζουν το όσχεο στα περισσότερα είδη με ενδοκοιλιακό όρχι, ακόμη και σε μη θηλαστικά. Για παράδειγμα, στις όρνιθες το σπέρμα αποθηκεύεται σε μία αμαρική προεξοχή κοντά στους πνεύμονες, με αρκετούς βαθμούς χαμηλότερη θερμοκρασία από αυτή του σώματος.^{69,76,86-88} Μειονέκτημα αυτής της υπόθεσης είναι η ασυμβατότητα με το γεγονός ότι σε ορισμένες ζωικές τάξεις, που δεν διαθέτουν όσχεο, η επιδιδυμίδα εντοπίζεται υποδόρια ή ενδοκοιλιακά, όπως συμβαίνει στον χύρακα⁷⁶ και τη μυγαλή ελέφαντα.⁸⁹ Από φυλογενετικής άποψης, η υπόθεση του Bedford δεν ευσταθεί⁵³ αν και εξηγεί γιατί η επιδιδυμίδα μένει σε απομακρυσμένη θέση σε ορισμένες τάξεις ζώων, ενώ ο όρχις μεταφέρεται εκτός οσχέου, κατά τη διαδικασία απώλειας του τελευταίου.

3.1.5. Η θεωρία της εκπαίδευσης των όρχεων

Η θεωρία της εκπαίδευσης των όρχεων είναι μια διαφορετική προσέγγιση του θέματος σε σχέση με τις προηγούμενες υποθέσεις, η οποία υποστηρίζει ότι το όσχεο αποτελεί εχθρικό –και όχι ιδανικό- περιβάλλον για τη λειτουργία του σπέρματος. Η κύρια ιδέα της θεωρίας αυτής, που προτάθηκε αρχικά από το Zahavi,⁶⁶ είναι ότι ο βασικός σκοπός της καθόδου του όρχεως στο όσχεο είναι η εκπαίδευση των σπερματοζωαρίων για τη μελλοντική τους προσπάθεια στο αυστηρό περιβάλλον του γυναικείου γενετικού συστήματος. Η κύρια ιδέα της θεωρίας αυτής στηρίζεται στην υπόθεση ότι ο βαθμός καθόδου του όρχεως είναι αντιστρόφως εξαρτώμενος από την αιμάτωσή του,^{68,90} αλλά ευθέως εξαρτώμενος από τη συνάφεια της αιμοσφαιρίνης για το οξυγόνο στις χαμηλότερες θερμοκρασίες όσχεου.⁹¹ Επομένως, η ωρίμανση του σπέρματος εξαρτάται ευθέως από το βαθμό στρες που

μπορούν να προκαλέσουν τα επίπεδα οξυγόνου και η τιμή οξύτητας (pH). Η διατάραξη των επιπέδων οξυγόνου και των τιμών του pH στη σπερματογένεση έχει ως άμεσο επακόλουθο την αύξηση του μεγέθους, του αριθμού και της ικανότητας των μιτοχονδρίων στα υπό ωρίμανση σπερματοκύτταρα, με τρόπο ανάλογο με αυτό που συμβαίνει στα γραμμωτά μυϊκά κύτταρα κατά την αναερόβια λειτουργία. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εκπαίδευση των μιτοχονδρίων των σπερματοζωαρίων στον οσχεϊκό όρχι, έτσι ώστε να δραστηριοποιούνται αποτελεσματικότερα κατά τη μεταφορά τους στο γυναικείο γεννητικό σύστημα. Επομένως, η κάθοδος του όρχεως συνεισφέρει στην παραγωγή ενός φυσιολογικά ανώτερου σπέρματος, το οποίο έχει μεγαλύτερες πιθανότητες επιτυχίας στον ανταγωνισμό μεταξύ των σπερματοζωαρίων που παρατηρείται στις συνήθειες ζευγαρώματος πολλών θηλαστικών ειδών.⁹² Η υπόθεση αυτή στηρίζεται κυρίως στο γεγονός ότι μπορεί να εξηγήσει όλες τις πιθανές θέσεις του όρχεως στα θηλαστικά και των στρατηγικών παραγωγής σπέρματος ανάμεσα στον οσχεϊκό ή μη οσχεϊκό όρχι. Ο οσχεϊκός όρχις παράγει λιγότερο, αλλά καλύτερης ποιότητας σπέρμα, ενώ ο μη οσχεϊκός παράγει περισσότερο σπέρμα, κατώτερο όμως ποιοτικά.

3.2. Φυσιολογία της καθόδου του όρχεως στα θηλαστικά με οσχεϊκούς όρχεις

Ήδη από παλαιότερες εποχές, η παρατήρηση διαφόρων θηλαστικών κατέστησε γνωστό ότι οι όρχεις κατέρχονται από την κοιλιακή κοιλότητα στο όσχεο κατά τη διάρκεια της κύησης. Αργότερα, κατά τον 17^ο αιώνα, ένας Άγγλος ανατόμος, ο John Hunter, περιέγραψε τη διαδικασία της καθόδου του εμβρυϊκού όρχι και της επιδιδυμίδας από την κοιλιακή χώρα στο όσχεο, κάνοντας λόγο για μια δομή του όρχεως που καθοδηγούσε την πορεία του στο όσχεο, ονομάζοντάς το «gubernaculum» (πηδάλιο).⁹³⁻⁹⁵ Η ανατομική αυτή δομή είναι ο ορχικός οίακας, που πολλοί ερευνητές από παλιά θεωρούσαν ότι καταλαμβάνει αναμφισβήτητη κεντρική θέση στο μηχανισμό της ορχικής καθόδου.^{65,96} Η ορχική κάθοδος αποτελεί μια πολύπλοκη διαδικασία, που επιτελείται σε περισσότερα από ένα στάδιο, εμπλέκοντας την αλληλεπίδραση διαφόρων ανατομικών δομών και ορμονικών παραγόντων. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων αιώνων, παρά τις πολλές μακρόχρονες μελέτες σχετικές με την κατανόηση του μηχανισμού της ορχικής καθόδου, το θέμα εξακολουθεί να παραμένει αμφισβητούμενο, καθώς δεν έχει αναπτυχθεί ακόμη μια ενιαία υπόθεση που να το ερμηνεύει ικανοποιητικά. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε πολλούς παράγοντες όπως: α) η ανάπτυξη θεωριών στηριζόμενων σε εσφαλμένες ή ανακριβείς

παρατηρήσεις, β) το είδος του υλικού που χρησιμοποιείται στη μελέτη και κυρίως γ) το είδος μοντέλου που χρησιμοποιείται και η γενίκευση των ευρημάτων, χωρίς διάκριση μεταξύ των διαφόρων ειδών.⁹⁶ Αυτό όμως που έχει τη μεγαλύτερη σημασία είναι ότι δεν υπάρχει ένα πλήρως ικανοποιητικό μοντέλο για τη μελέτη της ορχικής καθόδου και γι' αυτό έχει επισημανθεί ήδη από παλιά ότι η ορχική κάθοδος πρέπει να μελετάται κυρίως στον άνθρωπο, έτσι ώστε να αποφεύγονται αυτές οι λανθασμένες ερμηνείες.⁹⁷

Πρώτοι οι ερευνητές Gier και Marion⁹¹ διαχώρισαν την κάθοδο του όρχεως στο ανθρώπινο έμβρυο σε πολλές φάσεις. Η πολυφασική κάθοδος του όρχεως που πρότειναν αποτελείται από ένα πρώτο στάδιο, κατά την 7^η-8^η εβδομάδα της κύησης, στο οποίο πραγματοποιείται η αρχική μετατόπιση των γονάδων προς τα κάτω δια της εκφύλισης του μεσόνεφρου. Το στάδιο αυτό ακολουθεί μια δεύτερη φάση που ορίζεται κατά την 21^η εβδομάδα της κύησης, στην οποία γίνεται το διακοιλιακό πέρασμα του όρχεως από το μετάνεφρο στο έσω βουβωνικό δακτύλιο. Τελικά, την 28^η εβδομάδα κύησης, ο όρχις βρισκόμενος ήδη στο έσω βουβωνικό στόμιο μετοικίζει κατά μήκος της ελυτροειδούς απόφυσης από την περιτοναϊκή κοιλότητα προς το όσχεο. Το γεγονός ότι με βάση αυτό το μοντέλο το πρώτο στάδιο της ορχικής καθόδου ολοκληρώνεται πολύ σύντομα κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης αποκλείει την πιθανότητα αυτό το στάδιο να παίζει κάποιο σημαντικό ρόλο στο φυλετικό διμορφισμό.⁹⁸ Πιο πρόσφατα, ένα διφασικό μοντέλο με δύο ξεχωριστές μορφολογικές και ορμονικές φάσεις προτάθηκε από τον Hutson, προκειμένου να εξηγηθεί η κάθοδος του όρχεως στους φυσιολογικούς άρρενες.⁹⁹ Το μοντέλο αυτό αποτελείται από δύο μορφολογικά και ορμονικά διακριτές φάσεις: α) μια διακοιλιακή 1^η φάση της καθόδου του όρχεως κατά την 8^η εβδομάδα κύησης, που περιλαμβάνει τη σχετική μετακίνηση του όρχεως από την αρχική οπισθοκοιλιακή του θέση, δίπλα στο νεφρό, προς το έσω βουβωνικό στόμιο. β) μια 2^η βουβωνο-οσχεϊκή φάση καθόδου του όρχεως, που ξεκινάει την 26^η εβδομάδα κύησης, και χαρακτηρίζεται από την ανδρογονο-εξαρτώμενη κάθοδο του όρχεως από το έσω βουβωνικό στόμιο προς το όσχεο.^{100,101} Ο όρχις κατεβαίνει σχετικά γρήγορα, δια μέσω του βουβωνικού καναλιού, μεταξύ της 26^{ης}-28^{ης} εβδομάδας κύησης, για να κινηθεί στη συνέχεια πιο αργά ώσπου να φτάσει στο όσχεο την 35^η-40^η εβδομάδα κύησης.¹⁰⁰ Σύμφωνα με την υπόθεση του Hutson, η πρώτη φάση της ορχικής καθόδου είναι ορμονικά μη ανδρογονοεξαρτώμενη, κατά τη διάρκεια της οποίας πιθανό ρόλο μπορεί να διαδραματίζει η μυλλέριος ανασταλτική ουσία (MIS), ενώ η δεύτερη φάση βρίσκεται υπό ανδρογονικό έλεγχο και, επομένως, θεωρείται

ανδρογονοεξαρτώμενη. Στον άνθρωπο, η μετατόπιση του όρχεως και του οίακα πραγματοποιούνται ταυτόχρονα, σε αντίθεση με τα τρωκτικά, όπου η μετανάστευση του ορχικού οίακα προηγείται της ορχικής καθόδου.^{102,103}

Οι δύο μεσεντερικοί σύνδεσμοι, οι οποίοι παίζουν σημαντικό ρόλο στην διφασική κάθοδο του όρχεως, είναι ο κεφαλαίος στηρικτικός σύνδεσμος, που συγκρατεί τον όρχι από πάνω, και ο οίακας (ή ουραίος βουβονογεννητικός σύνδεσμος), που έλκει τον όρχι προς τα κάτω. Ο κρανιακός στηρικτικός σύνδεσμος συνδέει τον όρχι με το οπίσθιο κοιλιακό τοίχωμα, ενώ ο οίακας ενώνεται με τον όρχι διαμέσου της επιδιδυμίδας στον μελλοντικό ενδοκοιλιακό εσωτερικό δακτύλιο του βουβονικού πόρου. Ο οίακας εμφανίζεται την 7^η εβδομάδα κύησης¹⁰⁴ ως μία πάχυνση μεσεγχυματικού ιστού μέσα στην υποπεταλική περιτονία σε κάθε μία πλευρά της σπονδυλικής στήλης, επεκτεινόμενος από τη γονάδα ως την περιτονία, ανάμεσα στον αναπτυσσόμενο έσω και έξω λοξό μυ. Κατά τη διακοιλιακή κάθοδο του όρχεως, μεταξύ της 10^{ης}-15^{ης} εβδομάδας κύησης, ο κρανιακός στηρικτικός σύνδεσμος, ο οποίος κρατάει το ουρογεννητικό σύστημα κοντά στο αναπτυσσόμενο διάφραγμα, υποστρέφεται, ενώ ταυτόχρονα κατά την 8^η-15^η εβδομάδα κύησης ο οίακας αναπτύσσεται ουραία.⁹⁸ Η ουραία ανάπτυξη του οίακα κρατάει αγκιστρωμένο τον όρχι κοντά στη βουβωνική περιοχή, έλκοντας τη διάμεση οιακική χορδή, η οποία βραχύνεται καθώς ενσωματώνεται στο βολβό.^{105,106} Η αλλαγή αυτή των δυο μεσεντερικών συνδέσμων έχει ως αποτέλεσμα τη σχετική κάθοδο του όρχεως και την καθήλωση του κοντά στο βουβώνα και την κεφαλαία μετανάστευση του νεφρού, καθώς η κοιλιακή κοιλότητα σταδιακά μεγαλώνει.⁹⁸

Η βουβονοσχεϊκή κάθοδος του όρχεως απαιτεί την ανάπτυξη της ελυτροειδούς απόφυσης, τη διαστολή του καναλιού από το βολβό, και μία σχετική κοιλιακή πίεση που θα ωθήσει τον όρχι μέσα στο βουβωνικό κανάλι.⁹⁸

Η περιφερική προσκόλληση του οίακα παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη της ελυτροειδούς απόφυσης, όπως έχει αποδειχθεί σε πειραματικά μοντέλα.¹⁰⁷ Κατά τη διάρκεια της 8^{ης} εβδομάδα κύησης, το βουβωνικό κανάλι αρχίζει να αναπτύσσεται ως μία ουραία εγκολπωματώση του κοιλιακού τοιχώματος σε συνεργασία με την ουραία ανάπτυξη της ελυτροειδούς πτυχής.¹⁰⁴ Η ελυτροειδής απόφυση αναπτύσσεται ως μια περιτοναϊκή κοιλική προπέτεια στο έσω βουβωνικό δακτύλιο, στην πρόσθια επιφάνεια του οίακα. Το περιτοναϊκό αυτό εκκόλπωμα αργότερα επιμηκύνεται, με τον οίακα να σχηματίζει μία δακτυλοειδή κοιλότητα, διαιρώντας έτσι τον οίακα σε μία κεντρική μεσεγχυματική στήλη και μια εξωτερική τοιχωματική στιβάδα. Με την ολοκλήρωση της

καθόδου του όρχεως, η κεντρική στήλη του οίακα υποστρέφεται από την αποσύνθεση της εξωκυττάριας ουσίας, προσκολλώντας τελικά τον όρχι στο όσχεο. Μελέτες σε παρασκευάσματα δείχνουν ότι το περιφερικό άκρο του ορχικού οίακα είναι ελεύθερο στον άνθρωπο, χωρίς σταθερή προσκόλληση στο όσχεο, αποτελώντας μία ένδειξη ενάντια στη θεωρία που θέλει τον οίακα να έλκει τον όρχι κάτω προς το όσχεο, μιας που στο κατώτατο σημείο δεν αγκιστρώνεται.^{100,108} Πιθανώς η ενδοκοιλιακή πίεση είναι αυτή που δίνει την ώθηση της κίνησης,^{96,103,109-113} η οποία μεταφέρεται στον όρχι είτε άμεσα διά του αυλού της ελυτροειδούς απόφυσης είτε έμμεσα δια μέσω της οιακικής χορδής.^{114,115} Ο ορχικός οίακας νευρώνεται δια μέσω του γεννητικού κλάδου του μηρογενετικού νεύρου.¹¹⁶ Ο κρεμαστήρας μυς σχηματίζεται μαζί με το έξω σωματικό πέταλο του οίακα, διαμορφώνοντας στα πρωτεύοντα θηλαστικά μία μυϊκή λωρίδα.¹¹⁷ Αυτή η πρόσφυση του κρεμαστήρα μυ στο βουβωνικό τοίχωμα διαφέρει από είδος σε είδος.¹⁰²

3.3. Διακοιλιακή φάση της καθόδου του όρχεως

Η διακοιλιακή φάση αποτελεί το πρώτο στάδιο της καθόδου του όρχεως, σύμφωνα με το διαφασικό μοντέλο του Hutson. Αρχίζει να πραγματοποιείται κατά την 8^η εβδομάδα κύησης που περιλαμβάνει τη μετακίνηση του όρχεως από την αρχική οπισθοκοιλιακή του θέση δίπλα στο νεφρό, προς το έσω βουβωνικό στόμιο.

3.3.1. Υποστροφική του κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου

Ο κρανιακός στηρικτικός-κρεμαστήριος σύνδεσμος, που προέρχεται από το μεσονεφρικό μεσέγγυμα, είναι μία μυϊκή κατασκευή υπό τη μορφή ταινίας, η οποία συνορεύει με την κρανιακή πλευρά του μεσονεφρικού μεσεντερίου, προσκολλώντας την ωθήκη και το γενετικό σωλήνα στην κρανιακή-έξω επιφάνεια του ραχιαίου κοιλιακού τοιχώματος, κοντά στην κοιλιακή επιφάνεια. Η αρχέγονη καταβολή αυτού του στηρικτικού συνδέσμου συναντάται και στα δύο φύλα στον άνθρωπο, αλλά και σε διάφορα άλλα είδη θηλαστικών.^{118,119} Σε μοντέλα αρσενικών τρωκτικών έχει φανεί ότι η ανάπτυξη του εμβρυϊκού κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου είναι μία διαδικασία που εξαρτάται από τα ανδρογόνα. Ενώ αρσενικά τρωκτικά, τα οποία εκτίθενται προ της γέννησής τους σε αντί-ανδρογόνα εμφανίζουν ανάπτυξη κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου ανάλογο με εκείνο των φυσιολογικών θηλυκών του ίδιου είδους, η ενδομήτρια έκθεση θηλυκών εμβρύων σε ανδρογόνα οδηγεί σε αναστολή της ανάπτυξης του κρανιακού στηρικτικού

συνδέσμου.^{120,121} Το ίδιο έχει παρατηρηθεί και σε άλλα θηλαστικά, όπως ο άνθρωπος, όπου άτομα με σύνδρομο ολικής ή μερικής αντοχής στα ανδρογόνα (CAIS/PAIS) διατηρούν τον κρανιακό στηρικτικό σύνδεσμο.^{119,122}

Μελέτες σε αρσενικούς αρουραίους έχουν δείξει πως υπάρχει μία κρίσιμη περίοδος περίπου μεταξύ 17^{ης}-18^{ης} μέρας μετά τη σύλληψη, κατά την οποία τα ανδρογόνα μπορούν να καταργήσουν την ανάπτυξη του κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου.¹¹⁹ Περίπου 15,5-16,5 μέρες μετά τη σύλληψη, που ο όρχις αρχίζει να παράγει τεστοστερόνη, αρχίζει μια αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη του συνδέσμου, με αποκορύφωμα τη 18,5 μέρα που παρατηρείται η μέγιστη παραγωγή εμβρυϊκής τεστοστερόνης.^{123,124} Κατά τη διάρκεια της κρίσιμης αυτής περιόδου, ο υποδοχέας ανδρογόνων εκφράζεται στα αρχέγονα κύτταρα του κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου και στα δυο φύλα.¹²⁵ Παρ' όλα αυτά, ο υποδοχέας ανδρογόνων, μετά τη 18^η μέρα σύλληψης, εκφράζεται έντονα μόνο στον πρώιμο κρανιακό στηρικτικό σύνδεσμο των αρσενικών παρά την απώλεια της ευαισθησίας που παρουσιάζει απέναντι στα ανδρογόνα. Τα μεσεγχοματικά κύτταρα του κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου μπορούν να θεωρηθούν επομένως ένας άμεσος στόχος των εμβρυϊκών ορμικών ανδρογόνων, τα οποία όμως έχουν μια αυστηρά χρονοεξαρτώμενη μορφογενετική επίδραση επάνω στο σύνδεσμο. Σε μοντέλα αρουραίων έχει παρατηρηθεί ότι τα λεία μυϊκά κύτταρα του κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου των θηλυκών εμβρύων απουσιάζουν από τα αρσενικά. Από αυτό μπορούμε να συμπεράνουμε ότι τα ανδρογόνα αναστέλλουν τη διαφοροποίηση των λείων μυϊκών κυττάρων στον κρανιακό στηρικτικό σύνδεσμο, πιθανώς μέσω μιας σύνθετης αλληλεπίδρασης ανάμεσα στα μακρομόρια (κολλαγόνο, ινονεκτίνη, λαμινίνη) της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και πεπτιδικούς παράγοντες ανάπτυξης (π.χ. TGFβ1).¹²⁵ Αν και η κρίσιμη αυτή περίοδος φαίνεται να αντιστοιχεί με τον χρόνο επίδρασης των ανδρογόνων στην κάθοδο του όρχεως.^{126,127} Φαίνεται πως η υποστροφή του κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου αποτελεί προϋπόθεση για την κάθοδο του όρχεως, χωρίς να είναι σίγουρο αν αποτελεί τον παράγοντα κλειδί της διαδικασίας αυτής.¹²⁵ Το γεγονός ότι άτομα με φυσιολογικό καρύοτυπο θήλεος (46XX), τα οποία εκτέθηκαν κατά την ενδομήτρια ζωή τους σε ανδρογόνα, διατήρησαν τις ωοθήκες τους στη φυσιολογική τους θέση αποδεικνύει ότι η υποστροφή του κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου από μόνη της δεν επαρκεί για να προκαλέσει κάθοδο των γονάδων.¹²⁸

Η παρατήρηση ότι σε ποντικούς με θηλεοποίηση όρχεων (Tfm) οι όρχεις κατέβηκαν στον έσω βουβωνικό δακτύλιο, καθώς και σε ασθενείς με σύνδρομο πλήρους ή μερικής έλλειψης ανδρογονικής ευαισθησίας (CAIS/PAIS) οι όρχεις κατέβηκαν στον έσω

βουβωνικό δακτύλιο ή πιο κάτω ενισχύει την υπόθεση ότι η διακοιλιακή φάση της ορχικής καθόδου δεν φαίνεται να παρακωλύεται στις περιπτώσεις όπου διατηρείται ο κρανιακός κρεμαστήριος σύνδεσμος.¹²⁹ Αντιθέτως, στο σκύλο έχουν αναφερθεί ενδοκοιλιακοί όρχεις σε συνδυασμό με αμφίπλευρη διατήρηση του κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου.¹¹⁸ Μελέτες που υποδηλώνουν μία πιθανή εμπλοκή της διατήρησης του κρανιακού στηρικτικού συνδέσμου στην διακοιλιακή κάθοδο του όρχεως έχουν γίνει στον αρουραίο, όπου η θηλεοποίηση του όρχεως προκαλεί ενδοκοιλιακή, βουβωνική, ή οσχεϊκή εντόπιση αυτού σε ποσοστά 20%, 67% και 13% αντίστοιχα. Από τη βιβλιογραφία προκύπτει ότι οι περισσότεροι συγγραφείς συμφωνούν στο ότι ο κρανιακός στηρικτικός σύνδεσμος έχει περιορισμένο ρόλο, τουλάχιστον σε ορισμένα είδη.^{120,130}

3.3.2. Η αντίδραση διόγκωσης του ορχικού οίακα

Κατά τη διακοιλιακή φάση καθόδου του όρχεως, η ουραία διόγκωση του οίακα που προκαλείται από την αιφνίδια υπερπλασία των κυττάρων και την εναπόθεση μεγάλης ποσότητας εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, που αποτελείται από γλυκοζαμινογλυκάνες και υαλουρονικό οξύ, είναι γνώστη ως αντίδραση διόγκωσης του ορχικού οίακα.^{100,131-133} Η υδροφιλική φύση της θεμέλιας ουσίας αυξάνει την ποσότητα νερού στο τελικό άκρο του οίακα, κάνοντάς το πιο ογκώδες και ζελατινώδες, παραπλήσιο με αυτό που συναντάται στον ομφάλιο λώρο, της γέλης του Wharton's. Αν και η αντίδραση διόγκωσης του οίακα σχετίστηκε στενά με τη διακοιλιακή κάθοδο του όρχεως, παραμένει υπό αμφισβήτηση ο ορμονικός της έλεγχος.¹³⁴ Μελέτες σε αρσενικά βοοειδή και σε θηλυκά έμβρυα κουνελιού στοχοποιούν τη συμμετοχή κάποιου εμβρυϊκού παράγοντα στην ανάπτυξη του οίακα και την κάθοδο της γονάδας.¹³⁵⁻¹³⁷ Παρότι δεν είναι ακόμη σαφές ποιος είναι αυτός ο παράγοντας – ορμόνη που ενεργοποιεί την αντίδραση διόγκωσης του ορχικού οίακα ελέγχοντας τη διακοιλιακή φάση καθόδου του όρχεως, του έχουν δοθεί ονομασίες όπως «παράγοντας X»,¹³⁸ και «τρίτη ορμόνη».¹³⁹

3.3.3. Ενδείξεις μη ανδρογονοεξαρτώμενου ελέγχου της διακοιλιακής φάσης της καθόδου του όρχεως

Ισχυρές είναι οι ενδείξεις σε μεγάλο αριθμό θηλαστικών ειδών ότι η αντίδραση διόγκωσης του οίακα και η διακοιλιακή κάθοδος του όρχεως δεν ελέγχονται από τα ανδρογόνα. Στον μεσεγχυματικό πυρήνα του ορχικού οίακα του αρουραίου¹⁴⁰ και του χοίρου¹⁴¹ έχουν απομονωθεί κύτταρα θετικά για υποδοχείς ανδρογόνων. Ωστόσο, στον αρουραίο η μέγιστη

έκφραση των ανδρογονικών υποδοχέων παρατηρείται τη στιγμή που η αντίδραση διόγκωσης του οίακα σχεδόν ολοκληρώνεται,¹⁴⁰ ενώ στο χοίρο η δεσμευτική ικανότητα των ανδρογονικών υποδοχέων του ορχικού οίακα είναι χαμηλότερη από εκείνες γνωστών ιστών «στόχων» ευαίσθητων στα ανδρογόνα (προστάτης).¹⁴¹ Κλινικά παραδείγματα που επιβεβαιώνουν αυτή τη θεωρία περιλαμβάνουν το γεγονός ότι η πλειοψηφία των ασθενών που πάσχουν από CAIS/PAIS με αμφοτερόπλευρη κρυψορχία έχουν όρχεις που ψηλαφούνται αμφοτερόπλευρα, στις χειλεο-οσχεϊκές πτυχές ή στις βουβωνικές χώρες αντίστοιχα.^{129,142} Επιπροσθέτως, μεγάλος αριθμός μελετών σε πειραματικά μοντέλα θηλαστικών, εκτός του ανθρώπου, υποστηρίζουν αυτήν την υπόθεση. Σε μοντέλα εμβρύων του χοίρου, του σκύλου και του ποντικού με σύνδρομο θηλεοποίησης των όρχεων, η αντίδραση διόγκωσης του ορχικού οίακα και η διακοιλιακή κάθοδος του όρχεως παραμένουν φυσιολογικές.^{129,143,144} Επιπλέον, η χορήγηση κρυπτοτερόνης σε έμβρυα πιθήκων, αρουραίων, ποντικών και κουνελιών πριν τη γέννησή τους και η χορήγηση φλουταμίδης σε σκυλιά μετά τη γέννησή τους δεν φαίνεται να αναστέλλει την αντίδραση διόγκωσης του οίακα και τη διακοιλιακή κάθοδο του όρχεως.^{134,145-147} Έχει φανεί, επίσης, ότι η υποκατάσταση ανδρογόνων μετά από ορχεκτομή δεν προλαμβάνει την ατροφία του οίακα σε έμβρυο σκύλου.^{148,149} Επιπλέον “in vitro” μελέτες πάνω στην επίδραση των ανδρογόνων στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό του οίακα καταλήγουν σε αντιφατικά αποτελέσματα, πράγμα που πιθανόν μπορεί να οφείλεται σε ανατομικές ή δομικές διαφορές του οίακα ανάμεσα στα διάφορα είδη που μελετήθηκαν.¹⁵⁰⁻¹⁵³ Για παράδειγμα, ο ορχικός οίακας του χοίρου αποτελείται φυσιολογικά αποκλειστικά μόνο από μεσεγγυματικά κύτταρα, σε αντίθεση με τον οίακα του αρουραίου, ο οποίος έχει ένα εξωτερικό μυϊκό περίβλημα, το οποίο αντιστοιχεί στον κρεμαστήρα μυ του χοίρου.¹⁰²

3.3.4. Ενδείξεις του αμφιβόλου ρόλου της μυλλέριος ορμόνης στην κάθοδο των όρχεων

Η αντίδραση διόγκωσης του οσχεϊκού οίακα κατά τη διακοιλιακή κάθοδο του όρχεως, σύμφωνα με το διαφασικό μοντέλο της καθόδου του όρχεως που προτάθηκε από τον Hutson, φαίνεται να ρυθμίζεται από μια μη ανδρογονική ορμόνη, πιθανόν τη μυλλέριο ανασταλτική ουσία (MIS).⁹⁹ Η σύλληψη της ιδέας αυτής βασίστηκε σε δεδομένα από πειραματικά μοντέλα εμβρύων ποντικού, η έκθεση των οποίων σε εξωγενή οιστρογόνα προκαλεί διατήρηση των μυλλέριων αγωγών,¹⁵⁴ αναστολή της αντίδρασης διόγκωσης του οίακα^{155,156} και πλήρη διακοπή της διακοιλιακής φάσης καθόδου του όρχεως,¹⁵⁷ η οποία

δεν αναστρέφεται με ταυτόχρονη έκθεση σε εξωγενή ανδρογόνα.¹⁵⁸ Αυτά τα αποτελέσματα οδήγησαν στην υπόθεση ότι τα οιστρογόνα έχουν άμεση δράση στην αναστολή της υποστροφής των μυλλέριων αγωγών, όπως επίσης και μία παράλληλη απευθείας δράση στην αναστολή της αντίδρασης διόγκωσης του οίακα. Παράλληλα, φάνηκε να εμποδίζουν τη διακοιλιακή κάθοδο του όρχεως, μάλλον μέσω καταστολής μίας πιθανής δράσης της MIS στον οίακα¹⁵⁷⁻¹⁵⁹ και όχι αναστέλλοντας την έκκριση των ανδρογόνων, όπως αρχικά ήταν αποδεκτό.¹⁰³ Σε ασθενείς με σύνδρομο εμμένοντα μυλλέριου πόρου, το οποίο είναι μία συγγενής αυτοσωμική υπολειπόμενη ανωμαλία λόγω μεταλλάξεων στα γονίδια του υποδοχέα MAO και/ή MAO II382, ο οίακας είναι λεπτός και επιμήκης όπως στα φυσιολογικά θηλυκά,¹⁶⁰ ενώ οι δύο όρχεις εντοπίζονται στη θέση των ωοθηκών περίπου στο 60–70% των περιπτώσεων.¹⁵⁷ Υπάρχουν πολλές ενδείξεις σε πειραματικά μοντέλα οι οποίες ενισχύουν τον ήπιο ρυθμιστικό ρόλο της MIS στην αντίδραση διόγκωσης του οίακα και τη διακοιλιακή κάθοδο του όρχεως. Πράγματι, σε έμβρυα κουνελιού με ανοσία κατά βόειας MIS παρατηρήθηκε φυσιολογική κάθοδος του όρχεως παρά την εν μέρει διατήρηση του μυλλέριου πόρου.¹⁶¹ Επίσης, σε καλλιέργειες ινοβλαστών που πάρθηκαν από οίακες εμβρύων χοίρου ημικαθαρή βόειος μυλλέριος ανασταλτική ουσία δεν μπόρεσε να προάγει «in vitro» σύνθεση DNA ούτε κυτταρική διαίρεση.¹⁶² Μελέτες σε καλλιέργειες κυττάρων οίακα αρουραίου έδειξαν ότι η MIS προάγει μία ελάχιστη πολλαπλασιαστική δραστηριότητα που μάλλον οφείλεται σε μια ασθενή έκφραση των υποδοχέων τύπου II της MIS.¹⁵² Επίσης, ομόζυγες για στοχευόμενες μεταλλάξεις γονιδίων των υποδοχέων των MIS ή MIS II σε ποντίκια φάνηκε να εμφανίζουν φυσιολογική αντίδραση διόγκωσης του οίακα, προκαλώντας φυσιολογική κάθοδο του όρχεως, ενώ δεν παρατηρείται κάθοδος ωοθηκών σε διαγονιδιακά θηλυκά ποντίκια με υπερέκφραση της MIS.¹⁶³⁻¹⁶⁵ Θα πρέπει πάντως να σημειωθεί ότι σε αρσενικά ποντίκια τα οποία έχουν υποστεί διπλή μετάλλαξη ορχική θηλεοποίηση/MIS εμφανίζονται χαρακτηριστικά ψευδοερμαφροδιτισμού με σοβαρά επηρεασμένη τη διακοιλιακή φάση ορχικής καθόδου, αν και τα στελέχη που φέρουν μεμονωμένα καθεμία από τις γενετικές αυτές ανωμαλίες δεν προκαλούν πρόβλημα στη διακοιλιακή κάθοδο του όρχεως.¹⁶⁴ Οι παρατηρήσεις αυτές μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει ένας μέχρι στιγμής άγνωστος μηχανισμός, δια μέσω του οποίου τα ανδρογόνα μπορούν να ρυθμίζουν τη δραστηριότητα του MIS στον οίακα¹⁶⁶ ή αμφίδρομα να ελέγχουν τη διακοιλιακή κάθοδο του όρχεως. Ένα περαιτέρω στοιχείο υπέρ του μικρού ρόλου της MIS στην αντίδραση διόγκωσης του οίακα και τη διακοιλιακή κάθοδο του όρχεως είναι ότι όλοι σχεδόν οι

ασθενείς με ενδοκοιλιακή κρυπορχία δεν παρουσιάζουν παραμονή του μυλλέριου πόρο. Αντιθέτως, σε περιπτώσεις συνδρόμου εμμένοντα μυλλέριου πόρου η ενδοκοιλιακή εντόπιση των όρχεων πιστεύεται ότι οφείλεται σε ανατομική σύνδεση των όρχεων με τους μυλλέριους πόρους, παρά λόγω αναστολής της αντίδρασης διόγκωσης του οίακα.^{159,167,168}

3.3.5. Ο ρόλος της πρωτεΐνης Insulin-like 3

Κατά την ενδοκοιλιακή φάση καθόδου των όρχων του χοίρου, σε μια «in vitro» μελέτη βρέθηκε ότι το εκχύλισμα εμβρυϊκών όρχεων περιείχε ένα κλάσμα χαμηλού μοριακού βάρους (<3,5kD), στο οποίο τα κύτταρα του ορχικού οίακα αντιδρούν.¹⁶² Τα βιοενεργά αυτά κλάσματα περιέχουν, πιθανότατα, κάποιον ή κάποιους παράγοντες που προάγουν την κάθοδο του όρχεως. Πολυπεπτιδικοί αυξητικοί παράγοντες, όπως ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), η ινσουλίνη, ο ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας, ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας και ο μεταμορφωσιακός αυξητικός παράγοντας β, καθώς και κάποιες ορχικές ορμόνες, όπως τα ανδρογόνα, η MIS, και η ανασταλίνη, παρουσίασαν μικρή διεγερτική δραστηριότητα στα κύτταρα του οίακα, πράγμα που τους αποκλείει από πιθανούς ρυθμιστές της διακοιλιακής καθόδου του όρχεως. Ο άγνωστος αυτός παράγοντας στην αρχή πήρε το όνομα «καθοδίνη» (descendin) και αργότερα το όνομα «οιακοτροπίνη» (gubernaculotropin) όταν προτάθηκε ότι αντιστοιχεί σε ένα ορμονικό πεπτίδιο με μοριακό βάρος περίπου 26kD, το οποίο εκκρίνεται από τα ορχικά εμβρυϊκά κύτταρα.¹⁵³ Γονιδιακές μελέτες σε ποντίκια (knock-out) για κάποια γονίδια ταυτοποίησαν την ύπαρξη μίας νέας ορμόνης με δράση όμοια με εκείνη του άγνωστου αυτού παράγοντα.¹⁶⁹⁻¹⁷¹ Το γονίδιο του Insl3 παράγει ένα προϊόν, το οποίο είναι γνωστό επίσης σαν insulin-like 3 (Insl3), «Leydig cell insulin-like (Ley I-L)» ή «relaxin-like factor (RLF)» και αποτελεί μέρος της υπερομάδας πεπτιδικών ορμονών της ινσουλίνης.¹⁷²⁻¹⁷⁴ Η ορμόνη ενώνεται με τον G-πρωτεϊνικό του υποδοχέα RXFP2 (γνωστός και ως LGR8 ή GREAT 402) και σηματοδοτεί τη ρύθμιση διαφόρων βιολογικών λειτουργιών, όπως η κυτταρική ανάπτυξη, η κυτταρική διαφοροποίηση και το ενεργειακό ισοζύγιο των κυττάρων. Όπως και η ινσουλίνη, η ώριμη ορμόνη Insl3 αποτελείται από μία αλυσίδα Α και μία αλυσίδα Β, οι οποίες δένονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς.¹⁷² Την κύρια πηγή της Insl3 αποτελούν τα ώριμα κύτταρα Leydig μιας και σε αυτά παρατηρείται μέγιστη έκφραση (στον ώριμο άνδρα τα περιφερικά επίπεδα κυμαίνονται από 0,5-2ng/ml).¹⁷⁵⁻¹⁷⁷ Η έκφραση είναι ασθενής στα προεφηβικά ανώριμα κύτταρα Leydig και στην ωοθήκη (με εξαίρεση την ωοθήκη των μηρυκαστικών, η οποία παρουσιάζει πολύ υψηλή έκφραση).^{174,178}

Η παραγωγή και η συγκέντρωση της *Insl3* φαίνεται να είναι διαρκής και σχετικά σταθερή, ενώ θεωρείται ότι έχει αντι-αποπτωτική/προστατευτική δράση στα σπερματικά κύτταρα των ώριμων ανδρών.^{176,179}

Έρευνες σε αρσενικά ποντίκια δείχνουν ότι ο παράγοντας αυτός επάγει την ανάπτυξη και διαφοροποίηση του οίακα, χωρίς να σχετίζεται με την παρουσία ή όχι ανδρογόνων και χωρίς να επηρεάζει την ανδρογόνο-εξαρτώμενη υποστροφή του κраниακού στήρικτικού συνδέσμου.^{169,170}

Μελέτες σε πειραματόζωα υποστηρίζουν ότι η *Insl3* έχει καθοριστικό ρόλο στη διαφοροποίηση και μυϊκή ανάπτυξη του οίακα, αλλά και στο σχηματισμό του μεσεγχυματικού πυρήνα.^{163,171,180} Αν και η έκφραση της *Insl3* αυξάνεται κατά πολύ στην εφηβεία, γεγονός που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι ενδεχομένως σχετίζεται με την ανδρική γονιμότητα, η ιστολογία των κρυπορχικών όρχεων σε νεογέννητα ποντίκια με εξουδετερωμένο γονίδιο *Insl3* είναι φυσιολογική.¹⁸¹

Η *Insl3* φαίνεται να έχει ένα σημαντικό ρόλο στη διακοιλιακή φάση καθόδου του όρχεως, χωρίς να επηρεάζει τη σπερματογένεση, αλλά κάτι τέτοιο αποτελεί αντικείμενο περαιτέρω μελέτης.

3.3.6. Ο ρόλος των γονιδίων Homeobox

Τα γονίδια Homeobox (*Hox*) απομονώθηκαν για πρώτη φορά στη δροσόφyllη.¹⁸² Αργότερα, στα θηλαστικά εντοπίστηκαν, σε 4 διαφορετικά χρωμοσώματα, 39 γονίδια που εκφράζουν 4 συμπλέγματα *Hox* (*Hox A, B, C* και *D*).¹⁸³ Στον άνθρωπο, τα *Hox A, B, C* και *D* βρίσκονται στα χρωμοσώματα 6,11,15 και 2 αντίστοιχα, ενώ στον ποντικό στα χρωμοσώματα 7,17,12 και 2.¹⁸⁴ Τα γονίδια αυτά, κατά τη διαδικασία της εξέλιξης, διατηρούν τη δομή τους, όπως παρατηρείται από την ομοιότητά τους στον άνθρωπο και τον ποντικό.¹⁸⁵ Φαίνεται να ελέγχουν την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των κυττάρων δρώντας ως ρυθμιστικοί ή μεταγραφικοί παράγοντες και εκφράζονται σε ένα μεγάλο πλήθος κυττάρων.¹⁸⁶ Μελέτες σε θηλαστικά έχουν δείξει ότι τα γονίδια αυτά και πιο συγκεκριμένα το *Hox-10* εμπλέκονται στην ανάπτυξη του ουρογεννητικού συστήματος, καθώς και των γονάδων, μιας και εκφράζονται στο ενδιάμεσο μεσόδερμα.¹⁸⁷⁻¹⁸⁹

Έρευνες σε *Hox-10* εξουδετερωμένα μοντέλα ποντικού ανέδειξαν ότι τα πειραματόζωα αυτά παρουσίαζαν κρυπορχία σε συνδυασμό με ανωμαλίες ανάπτυξης του οίακα, καθώς και του μηρογενετικού νεύρου, οι οποίες είχαν ως αποτέλεσμα δυσλειτουργία στη σπερματογένεση. Επίσης, στα ζώα αυτά παρατηρήθηκε μια μείωση του

αριθμού των μυϊκών κυττάρων στον κρεμαστήρα μυ, σε συνδυασμό με ανωμαλίες ανάπτυξης του βουβωνικού καναλιού και του οσχεικού σάκου, σπονδύλων και νωτιαίων νεύρων. Από τις παραπάνω παρατηρήσεις, οι ερευνητές οδηγήθηκαν στην υπόθεση ότι η κρυπορχία στα ζώα αυτά μπορεί να οφείλεται σε μία λανθασμένη διαφοροποίηση των κινητικών νευρώνων του μηρογενετικού νεύρου ή των στόχων τους.¹⁸⁸⁻¹⁹²

Σε περιπτώσεις παιδιών με κρυπορχία έχουν αναφερθεί γενετικές αλλοιώσεις στο εξόνιο 1 του χρωμοσώματος 7, που εντοπίζεται το HOXA-10 στο ανθρώπινο χρωμόσωμα.¹⁸⁴ Μένει βέβαια να μελετηθεί ακόμα η έκφραση των μεταλλάξεων αυτών και η σχέση τους με τη διακοιλιακή φάση καθόδου του όρχεως.

3.4. Βουβωνοσχεϊκή φάση της καθόδου του όρχεως

3.4.1. Ο ρόλος της κοιλιακής πίεσης του οίακα

Σήμερα, φαίνεται να επικρατεί η άποψη ότι η βουβωνοσχεϊκή φάση καθόδου του όρχεως ελέγχεται από ένα συνδυασμό ορμονικών και μηχανικών παραγόντων. Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι οι δομικές και μορφολογικές αλλαγές του οίακα σε συνδυασμό με την ανάπτυξη των σπλάχνων, που έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενδοκοιλιακής πίεσης, συμβάλλουν στην προώθηση του όρχεως, διαμέσου του βουβωνικού καναλιού, στο όσχεο.^{98,111-113} Αυτή η υπόθεση ενισχύεται από την παρατήρηση της ύπαρξης κρυπορχίας σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις, που προκαλούν χαμηλή ενδοκοιλιακή πίεση, όπως το σύνδρομο Prune-Belly, η αμαρική εξτροφία, η ομφαλοκήλη, η γαστροσχιστία καθώς και συγγενείς ανωμαλίες του μυϊκού κοιλιακού τοιχώματος ή αγενεσία αυτού.^{193,194}

Αν και στις πρώτες μελέτες σε θηλαστικά παρατηρήθηκε ότι η υποστροφή του ογκώδους βολβού του οίακα ήταν αρκετή προκειμένου ο όρχις να φτάσει στο όσχεο τόσο στα τρωκτικά, όσο και στον άνθρωπο, αργότερα κάτι τέτοιο αμφισβητήθηκε από άλλους μελετητές.^{101,110,134,195-197} Νέες έρευνες αναφέρουν ότι ενώ στα τρωκτικά ο συνδετικός ιστός του βολβού του οίακα διαφοροποιείται σε νέα μυϊκά κύτταρα, στον άνθρωπο αναδιοργανώνεται σε μια νέα δομή, πλούσια σε ίνες ελαστίνης και κολλαγόνου.^{198,199} Έτσι λοιπόν, στο άνθρωπο ο οίακας έχει λιγότερες μυϊκές ίνες που ασκούν μικρότερη έλξη του όρχεως στον οσχεικό σάκο, καθιστώντας διαφορετικό το ρόλο του οίακα στη βουβωνοσχεϊκή κάθοδο του όρχεως.

3.4.2. Η βουβωνοσχεϊκή φάση της καθόδου του όρχεως εξαρτάται από τα ανδρογόνα

Ο Frey και οι συνεργάτες του, το 1983, εμφυτεύοντας προθέσεις σιλκόνης στην κοιλιά πειραματόζωων, παρατήρησαν ότι αυτές κατέβαιναν από την κοιλιακή χώρα στο όσχεο, πράγμα που δεν γινόταν συχνά στα πειραματόζωα, από τα οποία στερούσε τα ανδρογόνα.¹¹¹ Σε άνδρες ή ζώα με πλήρη αντοχή στα ανδρογόνα και σε ζώα με γοναδοτροπική ανεπάρκεια δεν παρατηρείται η υποστροφή του οίακα πέρα από τη βουβωνική περιοχή.^{159,200} Η χορήγηση φλουταμίδης που έχει αντιανδρογόνο δράση σε πειραματόζωα πριν τη γέννησή τους προκάλεσε σε ένα σημαντικό ποσοστό καθυστέρηση και διαταραχή της υποστροφής του οίακα.^{126,127,201-203} Επίσης, μελέτες ανέδειξαν μια αδυναμία επαναπορρόφησης της εξωκυττάριας ουσίας του οίακα σε άνδρες με πλήρη ανδρογονική ανοχή.^{159,197}

Αν και ο μηχανισμός δράσης των ανδρογόνων στη βουβωνοσχεϊκή φάση καθόδου του όρχεως δεν είναι πλήρως γνωστός φαίνεται ότι βασίζεται στην άμεση επίδραση τους στον οίακα. Αυτή η υπόθεση βασίζεται σε μελέτες, στις οποίες εντοπίστηκαν υποδοχείς των ανδρογόνων σε καλλιέργειες ινοβλαστών από οίακα χοίρου.¹⁵¹ Η εντόπιση αυτή των υποδοχέων ανδρογόνων στον οίακα χοίρου είχε μια χαμηλότερη συνολική συγκέντρωση, συνάφεια και ικανότητα πρόσδεσης από εκείνες που εμφανίζουν γνωστά όργανα - στόχοι των ανδρογόνων (προστάτης και ουρήθρα) και σε σύγκριση με εκείνες των γραμμωτών μυών στον αρσενικό και το θηλυκό χοίρο.^{141,204} Μελέτες δείχνουν ότι σε οίακα αρουραίου το επίπεδο έκφρασης του υποδοχέα ανδρογόνων φθίνει κατά τη διάρκεια της βουβωνοσχεϊκής φάσης καθόδου του όρχεως.²⁰⁵

Στις μέρες μας, είναι γενικά αποδεκτό ότι η βουβωνοσχεϊκή κάθοδος του όρχεως εξαρτάται από την επίδραση των ανδρογόνων μέσω της δράσης τους στον οίακα.²⁰⁶⁻²⁰⁸

3.4.3. Ο ρόλος της καθόδου της επιδιδυμίδας

Έχει παρατηρηθεί ότι αγόρια με ανωμαλίες της επιδιδυμίδας, όπως η ολική ή μερική αποκόλλησή της από τον όρχι ή γωνιωμένη - εκτεταμένη επιδιδυμίδα, εμφανίζουν κρυπορχία σε ποσοστό 15-87%.²⁰⁹⁻²¹⁷ Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι όσο πιο ψηλά βρίσκεται ο έκτοπος όρχις τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό ανωμαλιών στην επιδιδυμίδα του.^{212,216} Μελέτες σε έμβρυα χοίρους απέδειξαν ότι η χορήγηση αντιανδρογόνων αυξάνει το ποσοστό εμφάνισης κρυπορχίας και ανωμαλιών στην επιδιδυμίδα.²⁰³ Φαίνεται, λοιπόν, ότι η κάθοδος της επιδιδυμίδας που συνδέεται με τον οίακα είναι βασικής σημασίας για την κάθοδο του όρχεως και ρυθμίζεται άμεσα από τα ανδρογόνα.^{209,218-220}

3.4.4. Ο ρόλος της ελυτροειδούς απόφυσης

Η ελυτροειδής απόφυση που αποτελεί μέρος του περιτοναίου έχει σημαντικό ρόλο στο να κατευθύνει τον όρχι στο όσχεο. Όταν ο όρχις φτάσει στο όσχεο τότε ο χιτώνας αυτός υποστρέφει για να καθλωθεί ο όρχις στο όσχεο.^{221,222} Όταν η υποστροφή της ελυτροειδούς απόφυσης δεν είναι πλήρης, τότε παραμένει η επικοινωνία του οσχεϊκού σάκου με την κοιλιακή χώρα, κάνοντας πιο εύκολη την άνοδο του όρχεως στην κοιλιά (ανεκτόμος όρχις) ή την κάθοδο του περιεχομένου της κοιλιάς στο όσχεο (βουβωνοκήλη) ή την συνύπαρξή τους σε ποσοστό 14%.^{223,224} Η ατελής υποστροφή του ελυτροειδούς έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας χορδής ανάμεσα στην περιτοναϊκή κοιλότητα και τον όρχι, που με την ανάπτυξη του αγοριού έλκει τον όρχι στην κοιλιά μέσω του βουβωνικού καναλιού.^{225,226}

3.4.5. Η υπόθεση του μηρογενετικού νεύρου

Μια από τις πρώτες θεωρίες που διατυπώθηκαν για την κάθοδο του όρχεως στα θηλαστικά ήταν η «θεωρία της έλξης», σύμφωνα με την οποία ο όρχις έλκεται στο όσχεο από τον κρεμαστήρα μυ. Ο Lewis, το 1948, στην προσπάθειά του να μελετήσει τη θεωρία αυτή, παρατήρησε ότι τέμνοντας το νεύρο που νευρώνει τον κρεμαστήρα μυ (μηρογενετικό) προκαλούσε κρυσορχία στους αρουραίους.²²⁷ Αργότερα, νέες μελέτες ανέδειξαν ότι η απονεύρωση του κρεμαστήρα μυ αναστέλλει μία διαδικασία, η οποία φαίνεται να ελέγχεται από τα ανδρογόνα, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι τα ανδρογόνα δρουν διαμέσου του νεύρου.¹⁵⁷ Τελευταία, από τη μελέτη αυτής της θεωρίας προέκυψε μια νέα υπόθεση, σύμφωνα με την οποία τα ανδρογόνα δρουν πρώτα στο μηρογενετικό νεύρο και όχι άμεσα στον οίακα. Ο Hutson με τους συνεργάτες του, το 1987, ανακαλύπτει πως το μηρογενετικό νεύρο απελευθερώνει κάποιο νευροδιαβιβαστή (calcitonin generelated peptide - CGRP), ο οποίος δρα στον οίακα ως δευτερεύων αγγελιοφόρος του ανδρογονικού ερεθίσματος, ενισχύοντας τη βουβωνοσχεϊκή φάση καθόδου του όρχεως.¹⁵⁷

Μετά την πρώτη διατύπωση της θεωρίας του μηρογενετικού νεύρου, ακολούθησε μια πληθώρα ερευνών που υποστηρίζει το ρόλο του CGRP στην ενεργοποίηση της διαμόρφωσης του οίακα. Διαπιστώθηκε ότι κατά την περίοδο της μετανάστευσης του οίακα προς το όσχεο αυξανόταν το νούμερο των υποδοχέων CGRP.²²⁸ Επίσης, παρατηρήθηκε ότι η πυκνότητα των υποδοχέων του CGRP στον οίακα αυξάνεται με τη

χορήγηση αντιανδρογόνων (φλουταμίδη) πριν τη γέννηση.²²⁹ Μελέτες σε αρουραίους έδειξαν ότι, κατά τη διάρκεια της 16^{ης}-19^{ης} ημέρας κύησης, η ενδομήτρια έκθεση σε φλουταμίδη οδηγεί σε κρυπορχία σε ένα ποσοστό περίπου 50%.^{126,127}

Αν και ο μηχανισμός δράσης των ανδρογόνων στο μηρογενετικό νεύρο δεν είναι σαφής, φαίνεται ότι αυτά ευθύνονται για την «αρρενοποίηση» του μηρογενετικού νεύρου κατά τη διάρκεια αυτής της κρίσιμης φάσης της ανάπτυξης.¹⁵⁷

Πολλές μελέτες εντόπισαν σαν πρωτεύον όργανο-στόχο των ανδρογόνων τον κινητικό πυρήνα του μηρογενετικού νεύρου στον νωτιαίο μυελό (O₁-O₆).^{120,201,230-232} Πρόσφατα, η υπόθεση του μηρογενετικού νεύρου τροποποιήθηκε, ορίζοντας σαν όργανο-στόχο των ανδρογόνων όχι τον κινητικό, αλλά τον αισθητικό πυρήνα του μηρογενετικού νεύρου.²³³

Αν και ο ακριβής μηχανισμός δράσης των ανδρογόνων στο μηρογενετικό νεύρο δεν είναι ακόμη σαφής, έχει εδραιωθεί η θεωρία του μηρογενετικού νεύρου και του νευροδιαβιβαστή του CGRP.^{227-229,234-242}

4. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΣΤΥΣΗΣ

Η στύση του πέους είναι μια πολύπλοκη διαδικασία, κατά την οποία πραγματοποιείται πλήρωση με αίμα υπό πίεση των σηραγγωδών σωμάτων του πέους για την απόκτηση σκληρότητας ικανής για διείσδυση στον γυναικείο κόλπο. Είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης πολλών αγγειακών και νευρολογικών μηχανισμών, υπό τον έλεγχο του παρασυμπαθητικού συστήματος.²⁴³ Η διαδικασία της στύσης επιτυγχάνεται με οπτικά ή ακουστικά ερεθίσματα που διαβιβάζονται στο συμπαθητικό ή παρασυμπαθητικό νωτιαίο κέντρο και διεγείρουν το αυτόνομο κέντρο της στύσης του υποθαλάμου. Το ερέθισμα, διαμέσου των νευρικών ινών που αναχωρούν από αυτά, καταλήγει στις λείες μυϊκές ίνες των σηραγγωδών αρτηριών, προκαλώντας απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών, με κύριο μεσολαβητή το NO. Το μονοξείδιο του αζώτου έχει ως αποτέλεσμα τη χάλαση των λείων μυϊκών κυττάρων των αρτηριών του πέους, την εισροή περισσότερου αίματος στους κόλπους των σηραγγωδών σωμάτων και, τελικά, την επίτευξη στύσης καθώς το πέος διογκώνεται και ανορθώνεται. Παρά την ύπαρξη του κτενιοειδούς διαφράγματος μεταξύ των σηραγγωδών σωμάτων του πέους υφίσταται αγγειακή επικοινωνία, γεγονός που λειτουργικά τα καθιστά ένα ενιαίο υδραυλικό σύστημα. Το τοίχωμα των αιματικών κόλπων του πέους απαρτίζεται από ελαστίνη, κολλαγόνο και λείες μυϊκές ίνες, που αποτελούν περισσότερο από το 45% του στυτικού ιστού. Η φυσιολογία της στύσης, δηλαδή της σκλήρυνσης ή της χάλαση του πέους, βασίζεται στον τόνο των λείων μυϊκών ινών. Σε ηρεμία (χάλαση του πέους), οι λείες μυϊκές ίνες βρίσκονται σε σύσπαση με αποτέλεσμα την ελάχιστη μόνον αρτηριακή παροχή στα σηραγγώδη σώματα, για τροφικούς και μόνο λόγους (διατήρηση του κυτταρικού μεταβολισμού), ενώ η φλεβική απαγωγή είναι ελεύθερη. Αντίθετα, κατά τη διάρκεια της στύσης οι λείες μυϊκές ίνες βρίσκονται σε χάλαση, αυξάνοντας έτσι την αρτηριακή παροχή στα σηραγγώδη σώματα, με παράλληλη μείωση της φλεβικής απαγωγής. Η χάλαση και η σύσπαση των λείων μυϊκών ινών βρίσκονται κάτω από τον έλεγχο του αυτόνομου νευρικού συστήματος.²⁴⁴

Η χάλαση των λείων μυϊκών ινών των αιματικών κόλπων και των ελικοειδών αρτηριών κατά τη διάρκεια της στύσης, έχει ως κατάληξη την αύξηση της ροής του αίματος στα σηραγγώδη σώματα, τη διάταση των αιματικών κόλπων και την αύξηση της ενδοσηραγγώδους πίεσης. Η αδυναμία του αρτηριακού μηχανισμού να παρέχει ικανή ροή αίματος οδηγεί σε ατελή στύση. Η επαρκής παροχή αρτηριακού αίματος έχει ως αποτέλεσμα την υψηλή συγκέντρωση οξυγόνου στον στυτικό ιστό, που είναι απαραίτητη

για την υποστήριξη του αυξημένου κυτταρικού μεταβολισμού που παρατηρείται κατά τη στύση. Ακόμη, το οξυγόνο είναι απαραίτητο για τη σύνθεση, από το ενδοθήλιο των σπυραγγωδών σωμάτων, αγγειοδιασταλτικών ουσιών και κυρίως του μονοξειδίου του αζώτου (Nitric Oxide, NO), που έχει ως αποτέλεσμα τη χάλαση των λείων μυϊκών ινών και την αύξηση της ροής του αίματος. Μελέτες έχουν δείξει ότι η μερική πίεση οξυγόνου (PO₂) στα σπυραγγώδη σώματα πρέπει να ανέβει σε επίπεδα περίπου 80mmHg, ώστε να αρχίσει να αυξάνεται η ενδοσπυραγγώδης πίεση που θα προκαλέσει τη στύση.²⁴⁵ Αυτό αναδεικνύει την αναγκαιότητα παρουσίας του οξυγόνου στη διαδικασία παραγωγής του βασικού νευροδιαβιβαστή της στύσης, δηλαδή του NO. Καθώς το αρτηριακό αίμα εισέρχεται στους κόλπους των σπυραγγωδών σωμάτων, διατείνει τα τοιχώματά τους, που με τη σειρά τους συμπιέζουν τα φλεβίδια που βρίσκονται ανάμεσα στον ινώδη χιτώνα του πέους και τους σπυραγγώδεις κόλπους, μειώνοντας έτσι τη φλεβική διαφυγή του αίματος από το πέος. Αυτός ο μηχανισμός φλεβικής απόφραξης επιτρέπει τη διατήρηση υψηλής ενδοσπυραγγώδους πίεσης (60-100mmHg), απαιτώντας μια μικρή μόνο ροή αίματος για τη διατήρηση της (1-5ml/min). Η πίεση που αναπτύσσεται κατά τη στύση στη βάλανο δεν ξεπερνά τα 50mmHg, γεγονός που οφείλεται στην απουσία του ινώδους χιτώνα στη βάλανο και στην παρουσία λεπτότερου ινώδους χιτώνα στο σπογγώδες σώμα. Αυτό εξηγεί τη σκληρότητα των σπυραγγωδών σωμάτων, αλλά τη σχετικά χαλαρή μα διογκωμένη βάλανο κατά τη στύση.²⁴⁶

Το αυτόνομο νευρικό σύστημα, τόσο σε κεντρικό όσο και σε περιφερικό επίπεδο, είναι αυτό που ελέγχει τη λειτουργική κατάσταση των λείων μυϊκών ινών. Η σύσπαση των λείων μυϊκών ινών ελέγχεται από την ενεργοποίηση της συμπαθητικής νευρικής οδού μέσω της ενεργοποίησης μετασυναπτικών αδρενεργικών υποδοχέων και ρυθμίζεται από προσυναπτικούς α2-αδρενεργικούς υποδοχείς. Στη λειτουργία της μετάδοσης της νευρικής ώσης στις λείες μυϊκές ίνες εμπλέκονται διάφοροι νευροδιαβιβαστές, με κύριο το μονοξείδιο του αζώτου, το οποίο συντίθεται από την L-αργινίνη υπό την επίδραση της συνθετάσης του NO.²⁴⁷ Για τη σωστή δράση της συνθετάσης στην παραγωγή του μονοξειδίου του αζώτου είναι απαραίτητη η παρουσία επαρκούς συγκέντρωσης οξυγόνου και φυσιολογικών επιπέδων ανδρογόνων. Τα σεξουαλικά ερεθίσματα μεταφέρονται μέσω νευρικών ινών στις λείες μυϊκές ίνες, όπου ενεργοποιούν τη σύνθεση και απελευθέρωση του NO στα σπυραγγώδη σώματα, τόσο από μη αδρενεργικές – μη χολινεργικές νευρικές απολήξεις, όσο και από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Το NO που απελευθερώνεται στις λείες μυϊκές ίνες ενεργοποιεί το ένζυμο γουανυλκυκλάση, που μετατρέπει την τριφωσφορική

γουανοσίνη σε 3,5-κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη, με αποτέλεσμα την παραγωγή της cGMP και την έναρξη της διαδικασίας της στύσης.²⁴⁵ Η αύξηση των ενδοκυττάρων συγκεντρώσεων της cGMP και 3,5-κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης του ενδοκυττάρου ασβεστίου, με αποτέλεσμα τη χάλαση των λείων μυϊκών ινών (στύση). Αντίθετα, υπό την επίδραση των φωσφοδιεστερασών που προκαλούν τη διάσπαση των cGMP και cAMP αυξάνεται η ενδοκυττάρια συγκέντρωση των ιόντων ασβεστίου, που οδηγεί στη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών (χάλαση του πέους). Η φωσφοδιεστεράση τύπου 5 είναι αυτή που κυριαρχεί στα σηραγγώδη σώματα.²⁴⁸⁻²⁵⁰

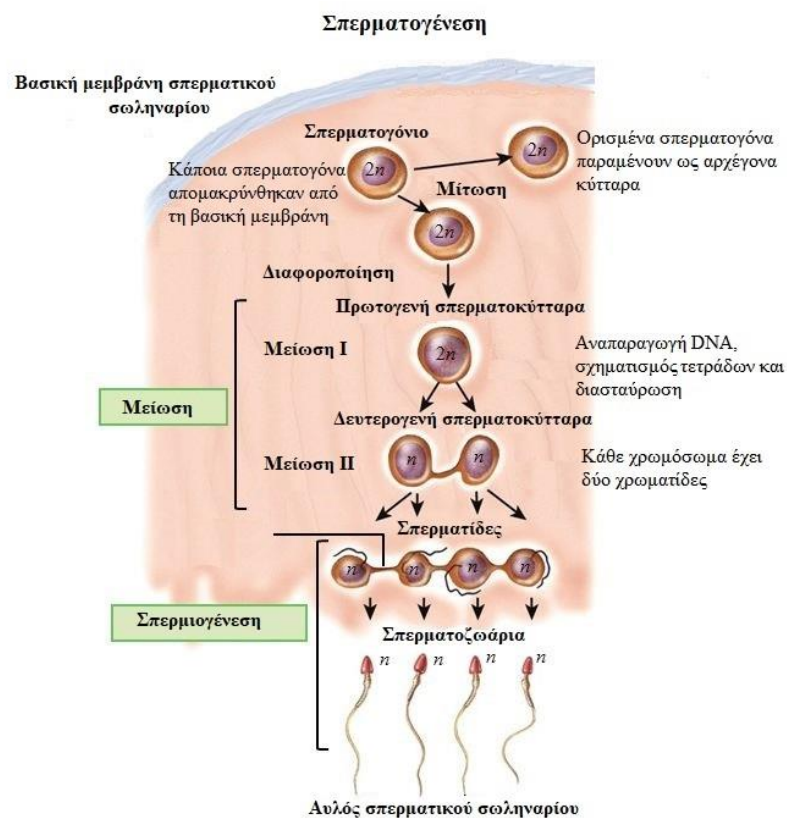
4.1. Φάσεις της στύσης

- Φάση Χάλασης ή Ηρεμίας: χαρακτηρίζεται από τη χαμηλή ενδοσηραγγώδη πίεση, που επιτρέπει μόνο μια ελάχιστη ποσότητα αίματος να εισέρχεται στα σηραγγώδη σώματα, με σκοπό τη θρέψη. Στη φάση αυτή, το πέος βρίσκεται κατά κύριο λόγο κάτω από αδρενεργικό έλεγχο.
- Φάση Πλήρωσης: χαρακτηρίζεται από τη χάλαση των λείων μυϊκών ινών τόσο των σηραγγωδών σωμάτων, όσο και των αγγείων τους, με αποτέλεσμα την αύξηση της ροής του αίματος στους κόλπους των σηραγγωδών σωμάτων, που προκαλούν μια ελαφρά επιμήκυνση του πέους, με αμετάβλητη την ενδοσηραγγώδη πίεση που είναι ίδια με την πίεση του φλεβικού συστήματος.
- Φάση Διόγκωσης: χαρακτηρίζεται από την αύξηση ενδοσηραγγώδους πίεσης, που προκαλείται από τη χάλαση των λείων μυϊκών ινών των σηραγγωδών σωμάτων υπό την επίδραση του NO, που απελευθερώνεται από το ενδοθήλιο. Το NO προκαλεί χάλαση των λείων μυϊκών ινών, είσοδο αίματος στα σηραγγώδη σώματα, που προκαλεί επιμήκυνση και διόγκωση του πέους.
- Φάση Πλήρους Στύσης: χαρακτηρίζεται από τη μέγιστη χωρητικότητα του πέους ως αποτέλεσμα της πλήρους ενεργοποίησης του μηχανισμού φλεβικής απόφραξης.
- Φάση Άκαμπτης Στύσης: χαρακτηρίζεται από τη μέγιστη σκληρότητα του πέους, που οφείλεται σε αύξηση της ενδοσηραγγώδους πίεσης σε επίπεδα μεγαλύτερα από τη συστολική πίεση. Στη φάση αυτή, το πέος αποκτά την απαιτούμενη σκληρότητα για τη διείσδυση στον κόλπο.

- Φάση Αποδιόγκωσης: χαρακτηρίζεται από τη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών γύρω από τους αιματικούς κόλπους, που πραγματοποιείται από την ενεργοποίηση αδρενεργικού ελέγχου μετά την εκσπερμάτιση ή την παύση του ερωτικού ερεθισμού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την κένωση των σηραγγωδών σωμάτων και τη σταδιακή μείωση της ενδοσηραγγώδους πίεσης, που επαναφέρει το πέος στη φάση χάλασης και στο προηγούμενο μήκος.

5. ΣΠΕΡΜΑΤΟΓΕΝΕΣΗ

Ως σπερματογένεση ορίζεται η πολύπλοκη διαδικασία κατά την οποία τα αρχέγονα κύτταρα (σπερματογόνια) διαιρούνται είτε για να ανανεώσουν τους εαυτούς τους είτε για να παράξουν θυγατρικά κύτταρα, που έπειτα από μια σειρά κυτταρικών διαιρέσεων και διαφοροποιήσεων θα οδηγήσουν στο σχηματισμό ώριμων γεννητικών κυττάρων (σπερματοζωάρια). Η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα στο επιθήλιο των σπερματικών σωληναρίων του όρχεως, που αποτελεί ένα εξαιρετικά εξειδικευμένο περιβάλλον. Τα σπερματικά σωληνάρια, που αποτελούν το 90% του συνολικού όγκου του όρχεως, έχουν μια σύνθετη δομή, η οποία ορίζεται από τα στηρικτικά κύτταρα (Sertoli), που εκτείνονται από τη βασική μεμβράνη μέχρι τον αυλό των σπερματικών κυττάρων, και τα γαμετικά κύτταρα²⁵¹⁻²⁵³ (Εικόνα 10).



Copyright © John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Εικόνα 10. Σχηματική αναπαράσταση σταδίων σπερματογένεσης (τροποποιημένη αναφορά).²

Η σπερματογένεση μπορεί να χωριστεί σε τέσσερις διαφορετικές φάσεις:

- Σπερματογονιογένεση: αποτελεί τη μιτωτική διαίρεση και διαφοροποίηση των διπλοειδικών σπερματογονίων
- Μείωση: αποτελεί τη μειωτική διαίρεση των τετραπλοειδικών γεννητικών κυττάρων (πρωτογενή σπερματοκύτταρα) σε απλοειδικά κύτταρα (σπερματίδες)
- Σπερμιογένεση: αποτελεί τη διαφοροποίηση της στρογγυλής σπερματίδας σε σπερματοζώαρια
- Απελευθέρωση σπέρματος στον αυλό του σπερματικού σωληναρίου (spermiation)

5.1. Σπερματογονιογένεση

Τα αρχέγονα ή βλαστικά κύτταρα, δηλαδή τα σπερματογόνια, αποτελούν έναν πληθυσμό κυττάρων, τα οποία με τη μιτωτική τους διαίρεση, από τη μια πλευρά ανανεώνουν τον πληθυσμό τους προμηθεύοντας νέα βλαστικά κύτταρα, ενώ από την άλλη, δίνουν κύτταρα που προορίζονται να εισέλθουν στη διαδικασία της μείωσης. Υπάρχουν διάφοροι τύποι σπερματογονίων, η ταυτοποίηση των οποίων είναι αρκετά δύσκολη λόγω της έλλειψης ειδικών διακριτικών χαρακτηριστικών. Η έως σήμερα ταξινόμησή τους βασίζεται ως επί το πλείστον σε χαρακτηριστικά των πυρήνων τους και -κυρίως- στον τύπο της χρωματίνης τους.²⁵² Με βάση την εμφάνιση του πυρήνα τους, διακρίνονται τρεις λειτουργικά διαφορετικοί τύποι σπερματογονίων: τα τύπου A, στα οποία η χρώση της χρωματίνης είναι λεπτή και τα τύπου B σπερματογόνια, που εμφανίζουν συλλογές χρωματίνης με τραχιά χρώση, εντοπιζόμενη κοντά στην πυρηνική μεμβράνη.²⁵⁴ Λειτουργικά, τα σπερματογόνια τύπου A μπορούν να διακριθούν περαιτέρω σε A βαθυχρωματικά (Dark - Ad) και A ωχρά (Pale - Ap).²⁵⁵ Τα σπερματογόνια τύπου A παραμένουν εκτός του αιματο-ορχικού φραγμού και συνεχίζουν να διαιρούνται από την εφηβεία έως το θάνατο. Με τον τρόπο αυτό, ο άνδρας διατηρεί μια δεξαμενή γαμετών, που του παρέχει τη γονιμοποιητική ικανότητα έως μια προχωρημένη ηλικία. Κύριος ρόλος των σπερματογονίων Ad είναι να διατηρούν έναν ικανό αριθμό βλαστικών κυττάρων. Η διαίρεσή τους μπορεί να ακολουθήσει δύο οδούς: είτε προς την παραγωγή δύο σπερματογονίων Ad, όμοιων προς το αρχικό, είτε προς την παραγωγή δύο σπερματογονίων Ap. Κάποιοι ερευνητές πιστεύουν ότι τα Ad σπερματογόνια αποτελούν έναν μη πολλαπλασιαζόμενο πληθυσμό

σπερματογονίων, τα οποία μπορούν να εξελιχθούν σε σπερματογόνια Ap,²⁵⁶⁻²⁵⁸ ενώ κάποιοι άλλοι υποστηρίζουν ότι τα σπερματογόνια τύπου Ap δεν είναι άλλα από τα αληθινά αρχέγονα κύτταρα του όρχεως.²⁵⁹ Η διαφορετική αυτή επιστημονική τοποθέτηση οφείλεται στη δυσκολία ταυτοποίησης των σπερματογονικών κυτταρικών τύπων. Παρ' όλα αυτά, τα σπερματογόνια Ad δεν πολλαπλασιάζονται υπό κανονικές συνθήκες, παρά μόνον όταν ο πληθυσμός μειώνεται δραστικά.²⁶⁰ Επομένως, μπορεί να θεωρηθεί ότι τα σπερματογόνια τύπου Ad δεν αποτελούν την πηγή των Ap και ότι ο καθοριστικός παράγοντας της ποσοτικής παραγωγής σπέρματος είναι ο αριθμός των σπερματογονίων τύπου B που εισέρχονται στη μείωση.²⁵⁵ Αντιθέτως, τα σπερματογόνια Ap διαιρούνται μιτωτικά για να παράξουν όμοια κύτταρα - κλώνους, που ενώνονται μεταξύ τους με κυτταροπλασματικές γέφυρες, επιτρέποντας το συντονισμό των περαιτέρω διαιρέσεων. Τέλος, τα σπερματογόνια Ap διαφοροποιούνται σε σπερματογόνια τύπου B, που εκπροσωπούν τα κύτταρα εκείνα που θα διαφοροποιηθούν και θα εισέλθουν στη διαδικασία της μείωσης, τα οποία ονομάζονται πρωτεύοντα σπερματοκύτταρα (primary spermatocytes).²⁵⁵ Με τη σειρά τους, τα σπερματογόνια τύπου B θα διαιρεθούν μιτωτικά σε σπερματοκύτταρα πρώτης τάξης, που αποτελούν ενδιάμεσα διπλοειδικά κύτταρα. Τα σπερματογόνια, στην πρώτη αυτή φάση της σπερματογένεσης, μεταναστεύουν μεταξύ των κυττάρων Sertoli από την περιφέρεια προς τον αυλό των σπερματικών σωληναρίων. Τα κύτταρα Sertoli είναι μεγάλα κύτταρα, με πλούσιο κυτταρόπλασμα, που περιβάλλουν τα σπερματογόνια σε όλη τους την πορεία ωρίμανσής τους. Τα σπερματογόνια, καθώς περνούν τις συνδέσεις των κυττάρων Sertoli, υφίστανται δομικές αλλαγές και μετατρέπονται σε μεγάλα σπερματοκύτταρα πρώτης τάξης.

Λειτουργικά, τα κύτταρα Sertoli διαχωρίζουν το τοίχωμα του σπερματικού σωληναρίου στο βασικό διαμέρισμα (basal compartment), όπου εκεί ανευρίσκονται κυρίως λιγότερο διαφοροποιημένα κύτταρα, σπερματογόνια και το παρα-αυλικό διαμέρισμα (adluminal compartment), όπου ανευρίσκονται πιο προηγμένα κύτταρα της σπερματογένεσης. Η θέση που έχουν τα κύτταρα στο σπερματικό επιθήλιο δεν είναι τυχαία, καθώς υπάρχει υψηλού βαθμού αρχιτεκτονική οργάνωση με τα πλέον άωρα κύτταρα προς τη βασική μεμβράνη και τα πλέον ώριμα προς τον αυλό του σπερματικού επιθηλίου. Τα σπερματοκύτταρα πρώτης τάξης, καθώς ετοιμάζονται να εισέλθουν στη μακράς διάρκειας πρόφαση της πρώτης μειωτικής διαίρεσης (μείωση I), μετακινούνται από τη βασική μεμβράνη του σπερματικού σωληναρίου προς τον αυλό κατά μήκος των κυττάρων Sertoli, τα οποία είναι συνδεδεμένα μεταξύ τους μέσω ειδικών κυτταρικών

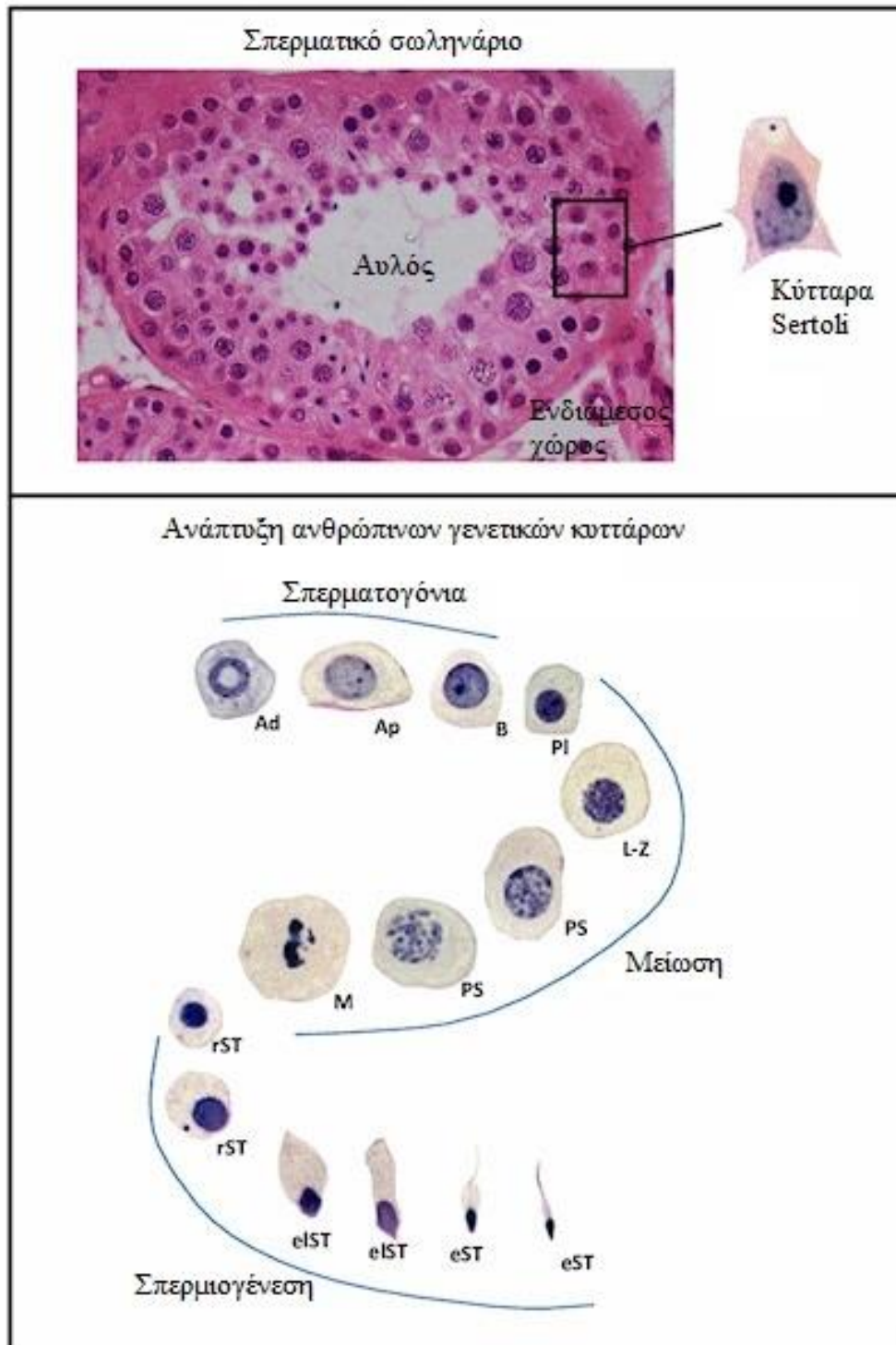
συνδέσεων (tight junctions). Καθώς το σπερματοκύτταρο μετακινείται προς τον αυλό, μπροστά από αυτόν, η σύνδεση μεταξύ δύο γειτονικών κυττάρων Sertoli λύεται, ενώ μια νέα σύνδεση σχηματίζεται πίσω του, κλείνοντας έτσι μια ανατομική και λειτουργική «δίοδο», πίσω από το σπερματοκύτταρο (**Εικόνα 11**).

5.2. Μείωση

Η μείωση είναι η διαδικασία κατά την οποία οι γαμέτες υποβάλλονται σε αναγωγική διαίρεση για τη δημιουργία ενός απλοειδούς σπερματοκυττάρου και στην οποία εξασφαλίζεται η γενετική ποικιλομορφία του γαμέτη μέσω της ανταλλαγής γενετικού υλικού. Η διαδικασία της μείωσης αποτελείται από δύο κυτταρικές διαιρέσεις του σπερματοκυττάρου πρώτης τάξης, που συνοδεύονται από ένα μόνο διπλασιασμό των χρωμοσωμάτων.

Η πρόφαση της πρώτης μειωτικής διαίρεσης (πρόφαση I) καταλαμβάνει περισσότερο από το 90% της συνολικής διάρκειας της μείωσης, διαρκώντας 1-3 εβδομάδες, και διαχωρίζεται σε τέσσερα επιμέρους στάδια: της λεπτοταινίας, της ζυγοταινίας, της παχυταινίας και της διπλοταινίας.

Κατά τη διάρκεια του σταδίου της λεπτοταινίας, τα χρωμοσώματα αρχίζουν να συμπυκνώνονται, προχωρώντας στην εμφάνιση λεπτών νηματίων στον πυρήνα, ενώ σχηματίζονται και θραύσεις και στις δύο αλυσίδες του DNA (double-strand breaks - DSBs) που θα χρησιμεύσουν, αργότερα, στον ανασυνδυασμό των ομόλογων χρωμοσωμάτων.²⁶¹ Στο στάδιο αυτό κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από ένα ζευγάρι χρωματίδων.



Εικόνα 11. Στάδια ανάπτυξης ανθρώπινων γενετικών κυττάρων κατά τη σπερματογένεση. Συντομογραφίες: **Ad:** Σπερματογόνιο τύπου A-Βαθυχρωματικό- Αρχέγονο κύτταρο, **Ap:** Σπερματογόνιο τύπου A-Ωχρό, **B:** Σπερματογόνιο τύπου B, **PI:** Πρωτογενές Σπερματοκύτταρο σταδίου προλεπτοτενίας, **LZ:** Πρωτογενές Σπερματοκύτταρο σταδίου λεπτοτενίας, **PS:** Μειωτική διαίρεση, **rST:** στρογγυλή σπερματίδα, **e1ST:** επιμήκης σπερματίδα, **eST:** επιμήκης σπερματίδα με ουρά. Όλες οι μικρογραφίες κυττάρων λήφθηκαν στην ίδια μεγέθυνση για να δείξουν το σχετικό μέγεθος. (τροποποιημένη αναφορά).²⁶²

Καθώς τα κύτταρα προχωρούν προς το στάδιο της ζυγοταινίας, οι αδελφές χρωματίδες αρχίζουν να ζευγαρώνουν και να σχηματίζουν συνάψεις (synaptonemal complexes - SCs). Πρόκειται για πρωτεϊνικές δομές, που συνθέτονται από δύο αξονικά στοιχεία κατά μήκος των αδελφών χρωματίδων και που συνδέονται με ένα κεντρικό στοιχείο, το οποίο ενώνει ως «φερμουάρ» τα δύο αξονικά στοιχεία, παρέχοντας τα χαρακτηριστικά εκείνα του πυρήνα που ορίζουν το στάδιο της παχυταινίας. Η σύναψη των αδερφών χρωματίδων ολοκληρώνεται στο στάδιο της παχυταινίας, όπου και συμβαίνει ο ομόλογος ανασυνδυασμός, δηλαδή ανταλλάσσεται γενετικό υλικό μεταξύ των ομόλογων χρωμοσωμάτων που προέρχονται από τη μητέρα και από τον πατέρα. Η ανταλλαγή του γενετικού υλικού περιλαμβάνει θρυμματισμό και επιδιόρθωση των αλύσων του DNA.²⁶³ Τα ζεύγη των ομόλογων χρωμοσωμάτων ονομάζονται διδύναμα ή τετράδες επειδή αποτελούνται από τέσσερες χρωματίδες. Διακρίνονται τα χρωμομέρη ως πυκνοχρωματικές περιοχές σε κάθε διδύναμο. Αντιστοιχούν στις ταινίες G των χρωμοσωμάτων των σωματικών κυττάρων. Η σύζευξη γίνεται χρωμομέρος προς χρωμομέρος και ο γενετικός ανασυνδυασμός αφορά και στις τέσσερες χρωματίδες.

Στο στάδιο της διπλοταινίας ξεκινά ο διαχωρισμός των χρωμοσωμάτων και οι συνάψεις αρχίζουν να εξαφανίζονται. Αρχίζει ο μερικός διαχωρισμός των ζευγών των ομόλογων χρωμοσωμάτων, που παραμένουν ωστόσο ακόμα ενωμένα στα χιάσματά τους, και το καθένα αποτελείται από ένα ζευγάρι χρωματίδες. Διαχωρίζονται τα ζεύγη, και τα ομόλογα χρωμοσώματα απομακρύνονται μέχρι μια ορισμένη απόσταση, ενώ οι αδελφές χρωματίδες παραμένουν ενωμένες, συνδεόμενες στα κεντρομερίδια. Οι χρωματίδες του διδύναμου συνδέονται με τα χιάσματα. Το χιάσμα είναι η κυτταρολογική έκφραση του φαινομένου του γενετικού ανασυνδυασμού ή ενάλλαξης (crossing over). Τα χρωμοσώματα αποσυμπυκνώνονται και γίνεται έντονη σύνθεση mRNAs και ριβοσωματικού RNA.

Μετά την πρόφαση I ακολουθεί η μετάφαση I, η ανάφαση I και η τελόφαση I της πρώτης μειωτικής διαίρεσης, με τελικά προϊόντα δύο σπερματοκύτταρα δεύτερης τάξης για κάθε σπερματοκύτταρο πρώτης τάξης. Η πρόφαση I ολοκληρώνεται με ένα μεταβατικό στάδιο από τη διπλοταινία στη μετάφαση I, το στάδιο της διακίνησης, κατά το οποίο τα χρωμοσώματα συμπυκνώνονται και η συνθετική δραστηριότητα διακόπτεται.

Με τη διάλυση της πυρηνικής μεμβράνης που ακολουθεί, κατά την μετάφαση I, τα διδύναμα διατάσσονται στην άτρακτο, η συμπύκνωση είναι μέγιστη και διακρίνονται τα χιάσματα. Στον άνθρωπο, διακρίνονται κατά μέσο όρο 50,6 χιάσματα ανά κύτταρο στον άνδρα και 43,5 στη γυναίκα. Κατά το στάδιο της ανάφασης I, τα χρωμοσώματα

ευθυγραμμίζονται σε ένα επίπεδο στον ισημερινό της ατράκτου και κάθε ένα μέλος των ομολόγων ζευγών κινείται προς τον αντίθετο πόλο της ατράκτου. Η πρώτη μιτωτική διαίρεση τελειώνει με την τελόφαση I, στην οποία κάθε θυγατρικό κύτταρο που προκύπτει έχει “n” χρωμοσώματα και το καθένα αποτελείται από δύο χρωματίδες, ενωμένες στο κεντρομερίδιο. Τα κύτταρα αυτά ονομάζονται δευτερεύοντα σπερματοκύτταρα και περιέχουν απλοειδή αριθμό χρωμοσωμάτων, αλλά από τη στιγμή που κάθε ένα χρωμόσωμα αποτελείται από ένα ζεύγος χρωματίδων, το περιεχόμενο του DNA είναι ακόμα διπλοειδές.

Μετά από μία σύντομη μεσόφαση, η οποία στον άνθρωπο διαρκεί έξι ώρες, τα δευτερεύοντα σπερματοκύτταρα εισέρχονται στη δεύτερη μειωτική διαίρεση, κατά την οποία οι χρωματίδες του κάθε χρωμοσώματος μετακινούνται στους αντίθετους πόλους της ατράκτου, σχηματίζοντας θυγατρικά κύτταρα με απλοειδές DNA, γνωστά ως στρογγυλές σπερματίδες.^{255,264} Τα αυξημένα επίπεδα MPF (Maturation Promoting Factor) στα γεννητικά κύτταρα εμποδίζουν την αποκατάσταση του πυρήνα μεταξύ των δύο μειωτικών διαιρέσεων. Κατά την ανάφαση της δεύτερης μειωτικής διαίρεσης, τα κεντρομερίδια και οι χρωματίδες διαχωρίζονται και προκύπτουν κύτταρα με απλοειδή χρωμοσώματα και μονές χρωματίδες (δύο ανασυνδυασμένες). Διάφορες μελέτες εντόπισαν ορισμένες πρωτεΐνες, οι οποίες είναι απαραίτητες ώστε να ολοκληρωθεί η μείωση, όπως η synaptonemal complex protein (SCP1) και η chromosomal core protein (COR1).^{265,266} Επίσης, η πρωτεΐνη heat shock protein 70-2 (HSP 70-2) φάνηκε ότι είναι απαραίτητη για τη διάσπαση των συναπτικών συμπλεγμάτων ανάμεσα στα ομόλογα χρωμοσώματα και την ολοκλήρωση της πρώτης μειωτικής διαίρεσης.²⁶⁷

5.3. Σπερμιογένεση

Η σπερμιογένεση (spermiogenesis) είναι η μακρά φάση της σπερματογένεσης, κατά την οποία οι απλοειδικές σπερματίδες μετατρέπονται σε σπερματοζωάρια. Οι βασικές μεταβολές που λαμβάνουν χώρα είναι ο σχηματισμός της κεφαλής και της ουράς του σπερματοζωαρίου, και η απώλεια του κυτταροπλάσμάτος του. Χωρίς να λαμβάνει χώρα καμία κυτταρική διαίρεση, η στρογγυλή σπερματίδα μετατρέπεται σε σπερματοζωάριο, αποκτώντας την ικανότητα να κινείται (**Εικόνα 12**).

Η φάση της σπερμιογένεσης χωρίζεται σε τέσσερις επιμέρους φάσεις:²⁶⁷⁻²⁶⁹

α) Φάση Golgi: Σχηματισμός του ακροσώματος

β) Φάση Cap: Πυρηνικές αλλαγές

γ) Ακροσωμιακή φάση: Ανάπτυξη της ουράς του σπερματοζωαρίου

δ) Φάση ωρίμανσης: Αναδιοργάνωση του κυτοπλάσματος και των κυτταρικών οργανιδίων

ε) Φάση απελευθέρωσης από τα κύτταρα Sertoli

Κατά την πρώτη φάση (φάση Golgi), σχηματίζεται το ακροσωμικό κυστίδιο (acrosomic vesicle). Τα συστήματα Golgi μεταναστεύουν και έρχονται σε επαφή με την πυρηνική μεμβράνη, που παίρνει μια κυπελλοειδή μορφή, καταλαμβάνοντας περίπου το 30-40% της επιφάνειας του πυρήνα, ενώ η χρωματίνη της κάθε σπερματίδας συμπυκνώνεται, δημιουργώντας μια συμπαγή μάζα.²⁶⁹

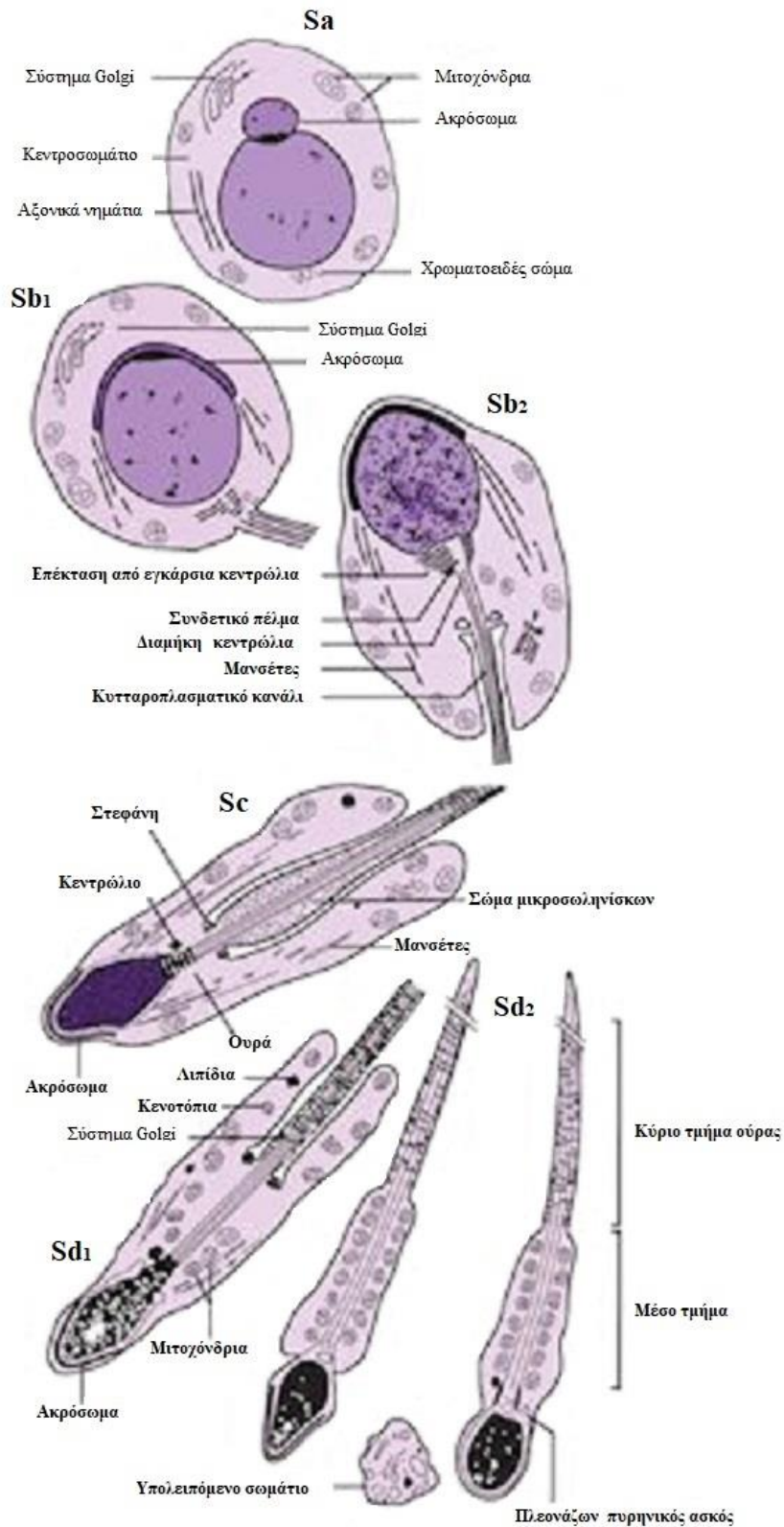
Στο στάδιο της δεύτερης φάσης (φάση Cap), διενεργείται μια αναδιοργάνωση του πυρήνα και του κυτοπλάσματος. Το ακροσωμικό κυστίδιο μετακινείται προς τον πυρήνα της στρογγυλής σπερματίδας, έτσι ώστε ο πυρήνας να έρθει σε στενή επαφή με την κυτταρική μεμβράνη, στην περιοχή εκείνη που είναι καλυμμένη με την ακροσωμιακή καλυπτρίδα και αρχίζει να σχηματίζεται ο πρόδρομος της ουράς από το κεντριόλιο. Ακολουθεί μία προοδευτική συμπύκνωση της χρωματίνης, που διαφέρει σημαντικά σε κάθε είδος και σηματοδοτεί την παρουσία σημαντικών βιοχημικών αλλαγών, οι οποίες οδηγούν σε σταθεροποίηση του DNA.

Στη διάρκεια της τρίτης φάσης (ακροσωμιακή φάση), ο πυρήνας της σπερματίδας επιμηκώνεται και σχηματίζεται το ακρόσωμα, που περιέχει ένζυμα απαραίτητα για τη διείσδυση του σπερματοζωαρίου στο ωάριο. Η συμπύκνωση της χρωματίνης ακολουθείται και από κάποιες βιοχημικές αλλαγές, που περιλαμβάνουν την αντικατάσταση των πλούσιων σε λυσίνη ιστονών με παροδικές πρωτεΐνες, που με τη σειρά τους αντικαθίστανται από πρωταμίνες πλούσιες σε αργινίνη.^{270,271} Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το DNA να καθίσταται ανθεκτικό στη λυτική δράση των ενζύμων DNAάσης. Ταυτόχρονα, στη φάση αυτή σημειώνεται μια σημαντική μείωση του όγκου του πυρήνα και παύση της γονιδιακής μεταγραφής.²⁷²

Κατά την τέταρτη φάση (φάση της ωρίμανσης), τα μιτοχόνδρια συγκεντρώνονται γύρω από το μαστίγιο, το οποίο διαμορφώνεται πλήρως. Καθώς ο σχηματισμός του σπερματοζωαρίου προχωρά, το μεγαλύτερο μέρος του κυτταροπλάσματος αποβάλλεται. Το τελικό στάδιο της μεταμόρφωσης της σπερματίδας σε σπερματοζωάριο αποτελεί ο σχηματισμός της πολύπλοκης ουράς από το αξονημάτιο (axonemal complex), που αποτελείται από δύο εσωτερικά μονά και εννέα εξωτερικά διπλά μικροσωληνάρια.

Ο σχηματισμός της ουράς αποτελείται από μια νηματοειδή δομή που προβάλλει σε ένα εκ των δύο κεντριολίων που βρίσκεται κοντά στο σύστημα Golgi, στον αντίθετο πόλο από εκείνον του ακροσώματος και μέσα σε ένα βοθρίο, στον πυρήνα. Η κεντρική δομή του μαστίγιου, που ονομάζεται αξόνεμα, αποτελείται από εννέα διπλότυπους μικροσωληνίσκους, που περιστοιχίζουν τους δύο κεντρικούς μικροσωληνίσκους. Στο σημείο που η ουρά αρθρώνεται με τον πυρήνα, η βασική δομή διαφοροποιείται, σχηματίζοντας μία σύνθετη δομή που ονομάζεται συνδετικό τμήμα.²⁷³ Στο κύριο και μέσο τμήμα της ουράς αναπτύσσονται και εξωτερικές πυκνές ίνες, που παρέχουν δομική σταθερότητα στην ουρά, αλλά και ινώδεις θήκες, που πιθανόν να αποτελούν ένα μέσο λειτουργίας ζωτικών ενζύμων για μια επιτυχή κινητικότητα.²⁷⁴⁻²⁸⁰ Στις εξωτερικές πυκνές ίνες της ουράς και του ακροσώματος έχει εντοπιστεί μια πρωτεΐνη, η *trp1* (ή διαφορετικά και *Crisp2*), που ελέγχει τον υποδοχέα της ρυανοδίνης.^{281,282} Στο κύριο τμήμα της ουράς έχει βρεθεί μία πρωτεΐνη κυτταρικής μεμβράνης, η *CatSper 1*, με λειτουργία ιονικού διαύλου, που ρυθμίζει τη ροή των ιόντων ασβεστίου, σημαντική για την υπερενεργοποίηση της κινητικότητας του σπέρματος στη φάση της ενεργοποίησης.²⁸³ Επίσης, στο κεντρικό τμήμα της ουράς έχει ανιχνευτεί ένα ακόμα ένζυμο μεμβράνης, η ασβέστιο-ΑΤΡάση, που φαίνεται να διαδραματίζει έναν ουσιαστικό ρόλο στη διαδικασία της υπερενεργοποίησης.²⁸⁰ Τη στιγμή της τελικής αναδιοργάνωσης του κυτοπλάσματος και των οργανιδίων της σπερματίδας δημιουργείται ο σχηματισμός της μιτοχονδριακής θήκης, όπου τα εναπομείναντα μιτοχόνδρια της περιφέρειας της σπερματίδας συναθροίζονται γύρω από το εγγύς τμήμα της ουράς.^{252,269,284}

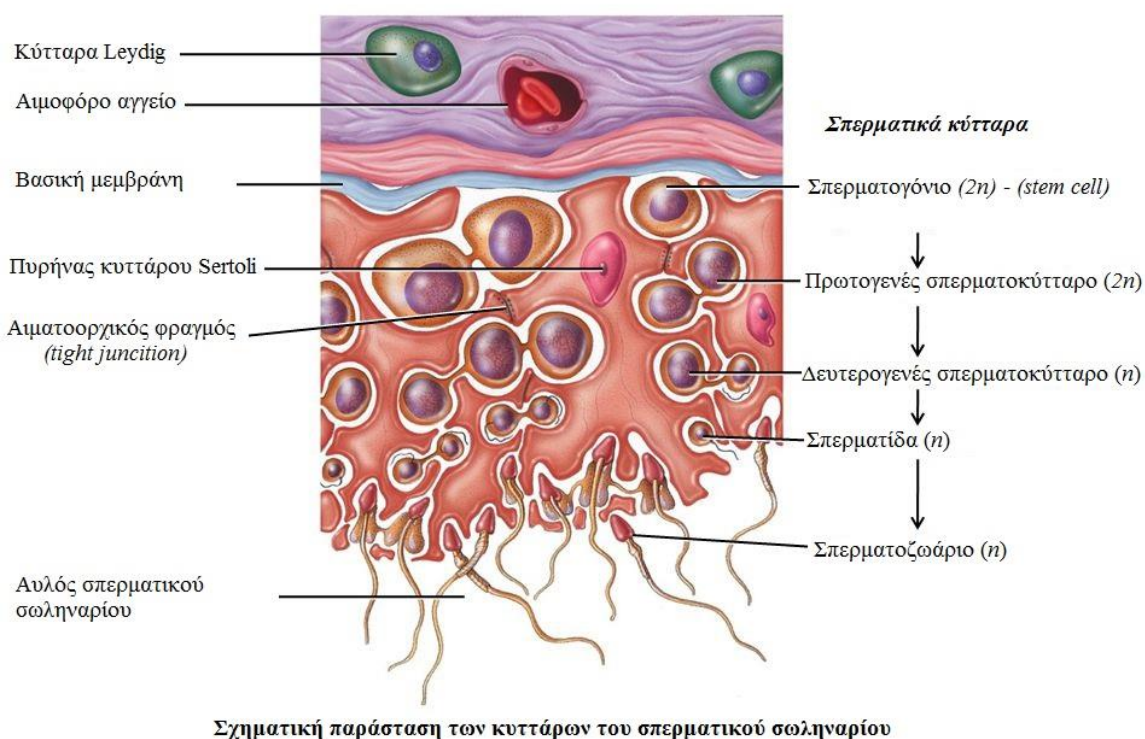
Κατά τη φάση της ωρίμανσης, το κυτόπλασμα της σπερματίδας που έχει εναπομένει μεταναστεύει γύρω από την ουρά. Οι κυτοπλασματικές αυτές συλλογές, που ονομάζονται υπολειμματικά σωματίδια, περιέχουν μιτοχόνδρια, λιπίδια και ριβοσωμικά μόρια. Αποβάλλεται κυρίως χάρη στην ενεργή συμμετοχή των κυττάρων Sertoli. Φαγοκυτταρώνονται για να μεταφερθούν στη βάση των κυττάρων Sertoli, όπου και καταβολίζονται με διάφορους λυσοσωμικούς μηχανισμούς. Η διαδικασία αυτή ρυθμίζεται βιοχημικά από την ωθηλακιοτρόπο (FSH) και την ωχρινοτρόπο (LH) ορμόνη.^{285,286}



Εικόνα 12. Στάδια μεταμόρφωσης της στρογγυλής σπερματίδας σε ώριμο σπερματοζώαριο (τροποποιημένη αναφορά).²⁶²

5.4. Απελευθέρωση των σπερματοζωαρίων στον αυλό

Το τελικό στάδιο της σπερμιογένεσης είναι η απελευθέρωση του σπερματοζωαρίου από κύτταρα Sertoli στον αυλό του σπερματικού σωληναρίου. Καθώς η σπερματογένεση εξελίσσεται, το κυτταρόπλασμα των κυττάρων Sertoli σταδιακά υποχωρεί μέχρι να έρθει σε επαφή μόνο με τη ραχιαία επιφάνεια του σπερματοζωαρίου. Ακολουθεί η διάσπαση των ειδικών ενδοπλασματικών συνδέσεων (ES) μεταξύ των σπερματοζωαρίων και των κυττάρων Sertoli, με ταυτόχρονη αναδιαμόρφωση του αιματο-ορχικού φραγμού. Βασικό ρόλο στη διαδικασία αυτή φαίνεται να έχουν οι ενεργοποιητές πλασμινογόνου μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMP-2), ενώ όλη η διαδικασία είναι ορμονοεξαρτώμενη (ανδρογόνα και FSH) και ευαίσθητη σε υψηλές θερμοκρασίες, τοξίνες και οξειδωτικό στρες.²⁸⁷ Το ελεύθερο πια σπερματοζώαριο οδηγείται στην επιδιδυμίδα, όπου ωριμάζει, παραμένοντας εκεί, και καθίσταται ικανό για γονιμοποίηση (**Εικόνα 13**).



Copyright © John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Εικόνα 13. Σχηματική αναπαράσταση των κυττάρων του σπερματικού σωληναρίου (τροποποιημένη αναφορά).²

5.5. Ο ρόλος των κυττάρων Sertoli στη σπερματογένεση

Τα στηρικτικά κύτταρα Sertoli επικάθονται επί της βασικής μεμβράνης του σπερματικού σωληναρίου και εκτείνονται με τις κυτταροπλασματικές τους αποφύσεις μέχρι τον αυλό του σωληναρίου. Αποτελούν τα μοναδικά σωματικά κύτταρα μέσα στα σπερματικά σωληνάκια. Βρίσκονται σε μια συγκέντρωση $800-1.200 \times 10^6$ σε κάθε όρχι και το καθένα είναι λειτουργικά και δομικά συνδεδεμένο με συγκεκριμένο αριθμό γεννητικών κυττάρων (~10 στον άνθρωπο). Η στενή σχέση αυτή των κυττάρων Sertoli με τα γαμετικά κύτταρα οδήγησε στο συμπέρασμα ότι ο αριθμός των κυττάρων Sertoli στον όρχι καθορίζει τελικά και το δυναμικό της ίδιας της σπερματογένεσης.²⁸⁸⁻²⁹⁰ Τα κύτταρα Sertoli σχηματίζουν φολεές γαμετικών κυττάρων, επιτρέποντας τη διαμονή ή την επαναποίκηση μόνο σε συγκεκριμένο αριθμό γαμετικών κυττάρων στα σπερματικά σωληνάκια.²⁹¹ Μορφολογικά χαρακτηριστικά των κυττάρων αυτών είναι το λείο και αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, η ανεπτυγμένη συσκευή Golgi, ο αυξημένος αριθμός λυσοσωμάτων, οι μικροσωληνίσκοι και τα ινίδια.

Λειτουργίες των κυττάρων Sertoli είναι:

- Η δομική στήριξη και θρέψη και ο συντονισμός της ωρίμανσης των κυττάρων του σπερματικού επιθηλίου
- Η δημιουργία κατάλληλου μικροπεριβάλλοντος για την ωρίμανση των γαμετικών κυττάρων και ο σχηματισμός του αιματοορχικού φραγμού²⁹²
- Η έκκριση πρωτεϊνών, στεροειδών, κυτοκινών, οπιοεδών, προσταγλαδινών και αυξητικών παραγόντων
- Η έκκριση υγρών ουσιών στον αυλό των σπερματικών σωληναρίων για τη διατήρηση της βατότητας του αυλού και τη διαφοροποίηση των σπερματικών κυττάρων
- Η φαγοκυττάρωση των καταλοίπων του σώματος των σπερματοζωαρίων

Τα κύτταρα Sertoli βρίσκονται σε στενή επαφή με τα γαμετικά κύτταρα, προσφέροντας δομική στήριξη σε αυτά δια μέσω ενός δικτύου μικροϊνιδίων και μικροσωληνίσκων που διαθέτουν οι κυτοπλασματικές τους προσεκβολές.^{286,293,294} Η δομή αυτή των κυττάρων Sertoli αλλά και η σύνδεσή τους με τα γαμετικά κύτταρα, που διαφοροποιείται στις διάφορες φάσεις της σπερματογένεσης, επιτυγχάνεται με δεσμούς ανάμεσα σε συγκεκριμένες δομές του κυτοπλάσματος των κυττάρων Sertoli.²⁹⁵ Οι δεσμοί των κυττάρων αυτών μπορεί να είναι τριών τύπων: α) cadherin-based adherens junctions,

β) occludin-based tight junctions, και γ) connexion-based gap junctions. Οι δεσμοί αυτοί εντοπίζονται κυρίως πλευρικά, στη βάση του κυττάρου Sertoli. Σε αυτούς τους δεσμούς βασίζεται η επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων Sertoli, αλλά και μεταξύ των σπερματογόνιων. Ο δεσμός αυτός μεταβάλλεται όσο προχωρά η σπερματογένεση στα πιο ώριμα κύτταρα, δηλαδή στην κορυφή των κυττάρων Sertoli, πιο κεντρικά προς τον αυλό του σπερματικού σωληναρίου. Η αυστηρή αυτή οριοθέτηση μεταξύ ενός έξω-σωληναριακού περιβάλλοντος και του αυλού του σπερματικού σωληναρίου που ελέγχει την ανταλλαγή διαφόρων μορίων ανάμεσά τους αποτελεί τον αιματο-ορχικό φραγμό.^{296,297} Η οργάνωση των δεσμών που αποτελούν τον αιματο-ορχικό φραγμό διαιρεί νοητά, αλλά με τρόπο αποτελεσματικό, το σπερματικό επιθήλιο σε ένα περιφερικό βασικό διαμέρισμα, που περιλαμβάνει τις βάσεις των κυττάρων Sertoli και τα σπερματογόνια, και ένα κεντρικό αυλικό διαμέρισμα, όπου εντοπίζονται τα πιο ώριμα γαμετικά κύτταρα και οι κεντρικές περιοχές των κυττάρων Sertoli.²⁹⁸ Σε αυτήν τη λειτουργία του ανοσολογικού φραγμού και του ελέγχου του μικροπεριβάλλοντος της σπερματογένεσης βασικό ρόλο έχουν οι δεσμοί μεταξύ των κυττάρων. Πρωταρχικό ρόλο διαδραματίζουν οι δεσμοί τύπου «gap» επειδή είναι οι μόνοι που επιτρέπουν τη διέλευση ιόντων και μορίων (<1-1.5 kDa) ανάμεσα στα κύτταρα που τους σχηματίζουν. Άλλος σημαντικός τύπος δεσμού είναι αυτός που αποτελείται από την πρωτεΐνη connexin 43 (CX43, γνωστή και ως GJA1), που διαδραματίζει βασικό ρόλο στην ανάπτυξη και ωρίμανση του σπερματοζωαρίου.²⁹⁹ Γίνεται, επομένως, αντιληπτό ότι κατά την πορεία ωρίμανσης και μεταφοράς του σπερματογόνιου τύπου A από τη βασική μεμβράνη προς τον αυλό του σπερματικού σωληναρίου, οι δεσμοί που βρίσκονται πιο κεντρικά πρέπει να διασπαστούν για να επιτραπεί η κυτταρική μετανάστευση και να ανασχηματιστούν πιο περιφερειακά, κάτω από το σπερματογόνιο τύπου B. Μελέτες έδειξαν ότι ο σχηματισμός και η διάλυση των δεσμών αυτών βρίσκεται υπό τον έλεγχο φυσιολογικών ρυθμιστών, όπως είναι ο παράγοντας νέκρωσης όγκων τύπου α (TNFα - Tumor Necrosis Factor α).³⁰⁰

Γνωρίζοντας ότι τα γαμετικά κύτταρα δεν έχουν υποδοχείς για την FSH, ενώ τα κύτταρα Sertoli έχουν, και ότι η σπερματογένεση είναι μια διαδικασία που ελέγχεται από την FSH μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η ορμονική ρύθμιση της σπερματογένεσης εξαρτάται από τα κύτταρα Sertoli.³⁰¹⁻³⁰³ Οι υποδοχείς αυτοί της FSH που εντοπίζονται στα κύτταρα Sertoli μεταβιβάζουν τα ορμονικά ερεθίσματα μέσω των κυτταρικών μηχανισμών και των στενών διακυτταρικών δεσμών στα σπερματικά κύτταρα, ελέγχοντας έτσι τη σπερματογένεση. Η σπουδαιότητα του ρόλου των κυττάρων Sertoli στην ορχική

λειτουργία επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι ο αριθμός των γαμετικών κυττάρων που μπορεί να υπάρχουν στον όρχι είναι ανάλογος με τον πληθυσμό των κυττάρων Sertoli που υπάρχουν σε αυτόν. Επίσης, δεν έχουν παρατηρηθεί ποτέ όρχεις που να περιλαμβάνουν μόνο γαμετικά κύτταρα χωρίς κύτταρα Sertoli, καθώς ακόμη και ότι τα συστήματα κυτταρικών καλλιιεργειών *in vitro* προϋποθέτουν την παρουσία κυττάρων Sertoli προκειμένου να διαφοροποιηθούν επιτυχώς τα γαμετικά κύτταρα.³⁰⁴ Πειράματα πάνω σε ζωικά μοντέλα, στα οποία τροποποιούνταν το μέγεθος του όρχεως ή/και η παραγωγή των γαμετικών κυττάρων με μεταβολή του αριθμού των κυττάρων Sertoli, φάνηκε ότι υπάρχει μια άμεση σχέση ανάμεσα στα κύτταρα Sertoli και τις σπερματίδες, πριν και μετά την τροποποίηση.^{290,305,306}

Μια άλλη βασική λειτουργία των κυττάρων Sertoli είναι η έκκριση πρωτεϊνών, στεροειδών, κυτοκινών, οπιοειδών, προσταγλαδινών και αυξητικών παραγόντων, οι οποίοι είναι αναγκαίοι για την επιτυχή διαφοροποίηση των σπερματογονίων σε σπερματοζωάρια. Οι γλυκοπρωτεΐνες που εκκρίνονται από τα κύτταρα Sertoli και που είναι σημαντικές για τη σπερματογένεση μπορούν να χωριστούν σε τρεις κατηγορίες:³⁰⁴

- πρωτεΐνες που ρόλο έχουν τη μεταφορά ορμονών και ιόντων ή λειτουργούν βιοπροστατευτικά, όπως η ανδρογόνο-δεσμευτική πρωτεΐνη (ABP - Androgen Binding Protein), η τρασφερίνη και η σερουλοπλασμίνη. Η ABP προσδένει την τεστοστερόνη και την DHT και τις κάνει λιγότερο λιποφιλικές, αυξάνοντας έτσι τη συγκέντρωσή τους μέσα στο σπερματικό σωληνάριο (έως 20-50 φορές πάνω από αντίστοιχα επίπεδά τους στον ορό του αίματος), προάγοντας έτσι τη σπερματογένεση και την ωρίμανση του σπέρματος στην επιδιδυμίδα.³⁰⁷ Η τρασφερίνη διασφαλίζει τη διέλευση ουσιών δια μέσω των δεσμών των κυττάρων Sertoli, έτσι ώστε τα γαμετικά κύτταρα να μπορούν να τροφοδοτούνται με φεριτίνη-σίδηρο από τα κύτταρα Sertoli.³⁰⁴ Η σερεουλοπλασμίνη έχει το ρόλο της μεταφοράς των μεταλλικών ιόντων στα γαμετικά κύτταρα.³⁰⁴
- πρωτεΐνες με ρυθμιστικό ρόλο στο μετασχηματισμό των ιστών και κατά τη διάρκεια της σπερμιοποίησης ή της μετακίνησης των προλεπτοταινικών σπερματοκυττάρων μέσα στο ενδοαυλικό τμήμα του σπερματικού σωληναρίου, όπως οι διάφορες πρωτεάσες και οι αναστολείς πρωτεασών.³⁰⁴
- πρωτεΐνες της βασικής μεμβράνης, με δομικό ρόλο ανάμεσα στα κύτταρα Sertoli και τα περισωληναριακά κύτταρα.

Οι ταχικινίνες φαίνεται να προκαλούν την απελευθέρωση γαλακτικού οξέος και τρανσφερίνης *in vitro*, ενώ ταυτόχρονα προκαλούν και τη δράση της αρωματάσης στα κύτταρα Sertoli.³⁰⁸

Τα κύτταρα Sertoli εκκρίνουν αυξητικούς παράγοντες, όπως η μυλλέριος ανασταλτική ουσία (MIF), που ευνοούν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων Leydig και τη στεροΐδογένεση, ενώ παράλληλα σχετίζεται και με τη διαφοροποίηση των γαμετικών κυττάρων.³⁰⁹ Ακόμη, παράγουν ινχιμπίνη, που επηρεάζει την έκκριση της FSH³¹⁰ και έναν νευροτροφικό παράγοντα GDNF (Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor), που φαίνεται να προάγει την αναγέννηση και εξέλιξη των σπερματογονικών αρχέγονων κυττάρων και την ανάπτυξη των κυττάρων Sertoli.^{311,312} Μια άλλη γλυκοπρωτεΐνη που παράγεται από τα κύτταρα Sertoli είναι το πρόσδεμα c-kit (SCF - Stem Cell Factor), η χορήγηση της οποίας έχει διαπιστωθεί ότι διεγείρει τόσο την επιβίωση όσο και τον πολλαπλασιασμό των σπερματογονίων.^{313,314} Αυτό διαπιστώνεται από το γεγονός ότι κατά την έναρξη της σπερματογένεσης στα κύτταρα Sertoli αλλάζει δραματικά η παραγωγή της SCF, από διαλυτή σε SCF προσδεμένο στην μεμβράνη (membrane-bound SCF).³¹⁵ Το γεγονός ότι ο υποδοχέας c-kit και ο παράγοντας SCF μεσολαβούν και στην κυτταρική προσκόλληση των σπερμοκυττάρων στα κύτταρα Sertoli επιβεβαιώνεται και από μελέτες σε ποντίκια, που δείχνουν ότι τα κύτταρα Sertoli που φέρουν μετάλλαξη για τον παράγοντα SCF προσκολλημένο στη μεμβράνη αδυνατούν να προσδέσουν σπερματοκύτταρα.³¹⁶ Οι καντερίνες (E-, P- και N-cadherin), που εκκρίνονται από τα κύτταρα Sertoli, διαδραματίζουν βασικό ρόλο στην κυτταρική αρχιτεκτονική και στη διατήρηση της δομής του ορχικού ιστού.³¹⁷

Στην επιφάνεια των κυττάρων Sertoli έχουν βρεθεί υποδοχείς για την τεστοστερόνη και την θυλακιοτρόπο ορμόνη (FSH), οι οποίες είναι οι κύριες ορμόνες ελέγχου της σπερματογένεσης. Μελέτες απέδειξαν τον συνεργικό ρόλο της FSH και της τεστοστερόνης στην πρόληψη της απόπτωσης των γαμετικών κυττάρων, πράγμα που καθιστά τις δυο αυτές ορμόνες παράγοντες επιβίωσης των γαμετικών κυττάρων.^{318,319} Πειράματα σε ζώα αναδεικνύουν πως οι δυο αυτές ορμόνες προλαμβάνουν την απώλεια των γαμετικών κυττάρων ή αποκαθιστούν την σπερματογένεση στα ζώα τα οποία είχαν υποβληθεί σε υποφυσεκτομή.³²⁰ Έχει φανεί πως μεταλλάξεις του υποδοχέα της FSH έχουν εκφραστεί με διάφορου βαθμού μείωση του αριθμού των σπερματοζωαρίων στο σπέρμα, αλλά η γονιμότητα διατηρήθηκε.³²¹ Μελέτες απέδειξαν πως η έκφραση του συνδέτη Fas (Fas ligand) στον όρχι εντοπίζεται κυρίως στα κύτταρα Sertoli, γεγονός που αναδεικνύει το

σημαντικό ρόλο των κυττάρων αυτών στον έλεγχο των μηχανισμών απόπτωσης των γαμετικών κυττάρων.³²² Η ενδο-ορχική τεστοστερόνη φαίνεται να καθιστά τις στρογγυλές σπερματίδες ικανές να ολοκληρώσουν τη διαδικασία επιμήκυνσης κατά τα στάδια 7 και 8 της σπερμιογένεσης.^{323,324}

Κατά τη φάση της ωρίμανσης της σπερματίδας, τα υπολειμματικά σωμάτια που αποτελούν κυτοπλασματικές συλλογές (μιτοχόνδρια, λιπίδια και ριβοσωμιακά) μεταναστεύουν γύρω από την ουρά και αποβάλλονται κυρίως χάρη στην ενεργή συμμετοχή των κυττάρων Sertoli. Η διαδικασία αυτή γίνεται με τη φαγοκυττάρωση των υπολειμμάτων αυτών από τα κύτταρα Sertoli και ρυθμίζεται βιοχημικά από την ωοθηλακιοτρόπο (FSH) και την ωχρινοτρόπο (LH) ορμόνη.^{285,286}

5.6. Ο ρόλος των περιωληναριακών μυοειδών κυττάρων

Τα περιωληναριακά μυοειδή κύτταρα αποτελούν μία σειρά τροποποιημένων μυοινοβλαστικών κυττάρων που βρίσκονται εξωτερικά της βασικής μεμβράνης του σπερματικού σωληναρίου, πέριξ αυτού. Σχηματίζουν συγκεντρικές, πολλαπλές στοιβάδες γύρω από τα σπερματικά σωληνάκια. Παράγουν παράγοντες που σχετίζονται με την κυτταρική συστατικότητα, όπως δεσμίνη, μυοσίνη και ακτίνη. Παράλληλα, εκκρίνουν εξωκυττάρια ουσία και παράγοντες συνδετικού ιστού, όπως κολλαγόνο, λαμινίνη, βιμεντίνη, φιβρονεκτίνη, μόρια προσκόλλησης και αυξητικοί παράγοντες. Κύρια λειτουργία τους είναι η προώθηση των σπερματοζωαρίων και των εκκρίσεων των κυττάρων Sertoli από τον αυλό των σπερματικών σωληναρίων προς τα ευθέα σωληνάκια, που επιτυγχάνεται με τις ακανόνιστες συσπάσεις τους. Ρυθμιστικοί παράγοντες της λειτουργίας τους φαίνεται να αποτελούν η οξυτοκίνη, οι προσταγλανδίνες, τα ανδρογόνα, η ενδοθηλίνη και η αδρενομεδουλλίνη.³²⁵⁻³²⁸

5.7. Δυναμική των κυττάρων Leydig και στεροειδογένεση

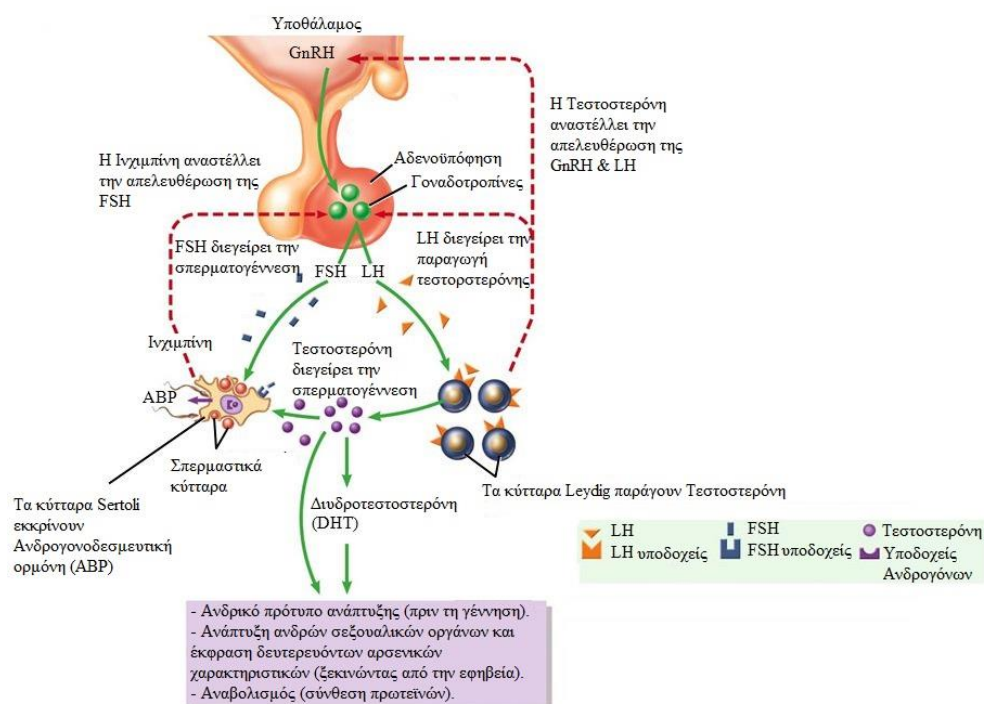
Στον ενήλικα άνδρα, τα κύτταρα Leydig αποτελούν περίπου το 20% της ολικής μάζας των όρχεων (200×10^6) και βρίσκονται στον διάμεσο ιστό μεταξύ των σπερματικών σωληναρίων, δίπλα από τα αιματικά αγγεία και τα σπερματικά σωληνάκια.^{252,329} Επιπλέον, στον διάμεσο ιστό του όρχι συναντώνται επίσης ινοβλάστες, μακροφάγα, λεμφοκύτταρα, καθώς και μικρός αριθμός μαστοκυττάρων.^{330,331} Είναι υπεύθυνα για την παραγωγή της τεστοστερόνης, που είναι απαραίτητη για τη σπερματογένεση υπό έλεγχο της LH κατά τη

φάση της εφηβείας.³³² Τα κύτταρα Leydig έχουν όλα τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των στεροειδογόνων κυττάρων. Είναι πολυεδρικά και έχουν ένα κεντρικό στρογγυλό πυρήνα (διάσπαρτη χρωματίνη) με ένα έως δύο πυρήνια στην περιφέρεια. Το έντονα ηωσινόφιλο κυτταρόπλασμα είναι πλούσιο σε λιποσταγονίδια με χολεστερυλεστέρες και τους κρυστάλλους Reinke. Έχουν εξαιρετικά ανεπτυγμένο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, που περιέχει τα αναγκαία ένζυμα για τη σύνθεση χοληστερόλης από οξικό οξύ και άλλες ουσίες και το μετασχηματισμό της πρεγνενολόνης. Τέλος, υπάρχουν μιτοχόνδρια με σωληνώδεις ακρολοφίες που περιέχουν το ένζυμο P450_{sc}c για το διαχωρισμό της πλευρικής αλυσίδας χοληστερόλης ώστε να παραχθεί πρεγνενολόνη. Μορφολογικά, τα κύτταρα αυτά χαρακτηρίζονται από πλούσιο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο, πολλά μιτοχόνδρια, κοκκία λιποφουσκίνης, λιποσταγονίδια και τους κρυστάλλους Reinke.^{329,333} Τα κύτταρα Leydig είναι σχεδόν ανύπαρκτα στους όρχεις κατά την παιδική ηλικία, όταν οι όρχεις ακόμα δεν εκκρίνουν σχεδόν καθόλου τεστοστερόνη, ενώ στον ενήλικα άρρενα μετά την ήβη είναι πολυάριθμα. Η αρχιτεκτονική του διάμεσου ορχικού ιστού και ο αριθμός των κυττάρων Leydig διαφέρει μεταξύ των διαφόρων ειδών.³³⁴ Παρ'όλα αυτά, στα περισσότερα είδη παρατηρούνται δύο γενιές κυττάρων Leydig.^{335,336} Μια πρώτη εμβρυϊκή γενιά, η οποία βρίσκεται υπό τον έλεγχο της ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG) και παράγει τεστοστερόνη κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής.³³⁷ Στον άνθρωπο, τα κύτταρα Leydig της εμβρυϊκής γενιάς εκφυλίζονται κατά την πλήρη ανάπτυξη του εμβρύου, μέχρι να εξαφανιστούν μέσα στους πρώτους 12 μήνες ζωής.³³⁸ Κατά τη φάση της εφηβείας αναπτύσσεται μια δεύτερη ενήλικη γενιά των κυττάρων Leydig, που προκύπτει από τη διαίρεση και τη διαφοροποίηση μεσεγχυματικών πρόδρομων κυττάρων υπό τη δράση της LH.³³⁹ Τα κύτταρα Leydig εμφανίζονται κατά την 8^η εβδομάδα κύησης και η έναρξη παραγωγής τεστοστερόνης, η οποία φθάνει τα μέγιστα επίπεδα κατά την 13^η εβδομάδα κύησης, αποτελεί βασικό παράγοντα διαφοροποίησης.³⁴⁰⁻³⁴² Είναι ακόμα άγνωστο το ερέθισμα το οποίο οδηγεί στην αρχική διαφοροποίηση των στεροειδοπαραγωγών κυττάρων Leydig, αν και παρακρινείς παράγοντες από τα κύτταρα Sertoli φαίνεται ότι εμπλέκονται στη διαδικασία αυτή. Τα γονίδια που φαίνεται ότι ευθύνονται για τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των εμβρυϊκών κυττάρων Leydig είναι το DHH (Desert Hedgehog) καθώς και το PDGF (Platelet-Derived Growth Factor).³⁴³

Μια άλλη βασική ορμόνη που εκκρίνεται από τα κύτταρα Leydig είναι η Insulin-like-3. Αντιπροσωπεύει πιθανώς τον παράγοντα «καθεδρίνη» ή «gubernaculotropin», που διαδραματίζει βασικό ρόλο στην κάθοδο του όρχεως. Είναι προϊόν του γονιδίου Insl-3, γνωστή και ως ορμόνη των κυττάρων Leydig (Ley I-L) ή Relaxin-like factor (RLF) και αποτελεί μέλος της υπερκοχενεϊκής της ινσουλίνης.¹⁷² Το γονίδιο Insl-3 εκφράζεται κυρίως στα εμβρυϊκά και ενήλικα κύτταρα Leydig και λιγότερο στα προεφηβικά ανώριμα κύτταρα.^{174,178} Σε εμβρυϊκά κύτταρα Leydig η έκφραση του γονιδίου Inl-3 είναι οιστρογόνο-εξαρτώμενη και γοναδοτροπίνο-ανεξάρτητη, ενώ σε Leydig κύτταρα ενηλίκων η έκφραση του Inl-3 είναι οιστρογόνο-ανεξάρτητη και γοναδοτροπίνο-εξαρτώμενη.³⁴⁴

5.8. Ρύθμιση της σπερματογένεσης

Η ρύθμιση της σπερματογένεσης επιτυγχάνεται από ενδοκρινείς μηχανισμούς, αλλά και από άλλους ενδογενείς - τοπικούς μηχανισμούς που δρουν μέσω παραγόντων ανάπτυξης, κυτοκινών και άλλων μορίων.^{345,346} Σε πολλές περιπτώσεις ο τρόπος δράσης των μηχανισμών αυτών παραμένει ακόμη αδιευκρίνιστος.



Εικόνα 14. Σχηματική αναπαράσταση ρύθμισης της σπερματογένεσης (τροποποιημένη αναφορά).²

5.8.1. Ενδοκρινικό σύστημα ελέγχου

Οι κύριες λειτουργίες του όρχεως, της παραγωγής ανδρογόνων και της ανάπτυξης γαμετών ρυθμίζονται από τον εγκέφαλο, π.χ. τον υποθάλαμο και την υπόφυση μέσω GnRH και γοναδοτροπίνης. Είναι σημαντικό το κύκλωμα του υποθαλαμοϋποφυσίου να υπόκειται σε ρύθμιση αρνητικής ανάδρασης που προκαλείται από παράγοντες των όρχεων. Η τεστοστερόνη αναστέλλει την έκκριση της LH και της FSH. Για την FSH, η πρωτεϊνική ορμόνη ινχιμπίνη Β παίζει σημαντικό ρόλο³⁴⁷ (Εικόνα 14).

Καταβλήθηκαν σημαντικές προσπάθειες για να ξεπεραστεί η σχετική σημασία της LH, της τεστοστερόνης και της FSH για ποιοτική και ποσοτική έναρξη, συντήρηση και επανάληψη της σπερματογένεσης. Θεωρείται γενικά ότι είτε η τεστοστερόνη είτε και η FSH είναι μόνο σε θέση να ξεκινήσουν, να διατηρήσουν και να επαναλάβουν τη σπερματογένεση, αλλά μόνο σε ποιοτική έκταση.³⁴⁸ Προκειμένου να επιτευχθούν ποσοτικές επιδράσεις στην παραγωγή βλαστικών κυττάρων και στον αριθμό των σπερματοζωαρίων, τουλάχιστον υπό φυσιολογικές συνθήκες, απαιτούνται τόσο οι δραστηριότητες της LH όσο και της FSH. Αυτοί οι ισχυρισμοί βασίζονται σε ελεγχόμενες μελέτες σε μοντέλα μη ανθρώπινων πρωτεύοντων, σε μελέτες πληθυσμών ασθενών και αναφορές περιπτώσεων. Όλα αυτά έχουν δώσει ενδιαφέρουσες πληροφορίες, αλλά μπορεί επίσης να προκαλέσουν σύγχυση στην ερμηνεία των διαπιστώσεων λόγω του μεταβλητού ενδοκρινικού και ιατρικού ιστορικού των ασθενών. Πλήρης σπερματογένεση παρατηρείται κοντά στους όγκους κυττάρων Leydig που παράγουν τεστοστερόνη και σε ασθενείς με ενεργοποιητικές μεταλλάξεις του υποδοχέα LH, υποδηλώνοντας ότι οι τοπικά υψηλές συγκεντρώσεις τεστοστερόνης προκαλούν σχηματισμό σπερματοζωαρίων. Ο στόχος της θεραπείας είναι να επιτευχθούν επαρκώς υψηλές συγκεντρώσεις τεστοστερόνης ενδοορχικά, οι οποίες είναι κρίσιμες. Αυτό συνήθως ακολουθείται κλινικά δίνοντας hCG, η οποία περιέχει υψηλή δραστικότητα LH, μαζί με FSH. Από την άλλη πλευρά, οι ασθενείς που φέρουν ελαττωματική υπομονάδα β-FSH, παρουσιάζονται με αζωοσπερμία.^{349,350} Αντιστρόφως, οι ασθενείς με σύνδρομο Pasqualini, μια διαταραχή με επιλεκτική ανεπάρκεια LH, μπορούν να εμφανίσουν πλήρη σπερματογένεση, υποδεικνύοντας την ικανότητα της FSH να ξεκινήσει ολόκληρο το μηχανισμό ανάπτυξης αρσενικών γεννητικών κυττάρων. Η εξωγενής παροχή υπερβολικών δόσεων τεστοστερόνης ή γεσταγόνων ενώσεων καταστέλλει την έκκριση γοναδοτροπίνης μέσω του μηχανισμού αρνητικής ανάδρασης (Feedback) και οδηγεί σε δραστική μείωση των

αριθμών σπερματοζωαρίων στην εκσπερμάτιση. Σε πρωτεύοντα -σε αντίθεση με τα τρωκτικά- είναι απαραίτητο να επιτευχθεί πλήρης καταστολή της έκκρισης FSH, παρά την αναστολή της έκκρισης LH.^{351,352} Τελευταίες μελέτες έδειξαν πως, αν και η βιοδραστικότητα της LH είχε εξαλειφθεί πλήρως, μια ελαφρά και παροδική ανάκαμψη της έκκρισης FSH προκάλεσε μια διαφυγή της σπερματογενούς καταστολής. Σε άνδρες που χορηγήθηκε γοναδοτροπίνη τόσο η FSH όσο και η LH διατήρησαν τη σπερματογένεση.²⁸⁶ Η σημασία της FSH είναι επίσης εμφανής σε έναν ασθενή με υποφουσεκτομή, στον οποίο μια ενεργοποιητική μετάλλαξη του FSH υποδοχέα συνυπήρχε με φυσιολογική σπερματογένεση απουσία LH.³⁵³ Αντιστρόφως, οι αδρανοποιητικές μεταλλάξεις της δράσης της FSH δεν οδηγούν αναγκαστικά σε πλήρη δέσμη σπερματογένεσης.³⁵⁴ Παρόλο που η ορμόνη από μόνη της έχει τη δυνατότητα να προκαλέσει ολόκληρη τη σπερματογονική διαδικασία, αυτό δεν συμβαίνει πάντα σε ασθενείς που λαμβάνουν θεραπείες ανδρογόνων / hCG. Σε περίπτωση βλάβης της hCG, ωστόσο, η προσθήκη της FSH έχει αποδειχθεί ότι επιτρέπει την ολοκλήρωση της σπερματογένεσης σε υπογοναδοτροπικούς άνδρες με αζωοσπερμία.³⁵⁵

Σε ορισμένα είδη ζώων, π.χ., Djungarian hamsters, η FSH είναι η μόνη ορμόνη υπεύθυνη για τη σπερματογένεση, ενώ η LH και η τεστοστερόνη διεγείρουν την ανάπτυξη εξαρτώμενων από τα ανδρογόνα όργανα και τη σεξουαλική συμπεριφορά. Αντιστρόφως, στα πρωτεύοντα θηλαστικά και οι δύο γοναδοτροπίνες είναι απαραίτητες για τη σπερματογένεση. Η βιολογική έννοια αυτού του συστήματος διπλής ρύθμισης δεν είναι ακόμη σαφής³⁴⁸

Από κλινική άποψη συμπεραίνεται ότι η συνεργική δράση της LH / τεστοστερόνης και της FSH είναι απαραίτητη για την έναρξη, τη συντήρηση και επίσης για την επανέναρξη της φυσιολογικής σπερματογένεσης.

5.8.2. Ενδογενές-τοπικό σύστημα ελέγχου

Η ρύθμιση της λειτουργίας των όρχεων ελέγχεται κυρίως από τις κεντρικές δομές. Η πολυπλοκότητα των τύπων και αρχιτεκτονικών κυττάρων των όρχεων απαιτεί επίσης μια ποικιλία τοπικών μηχανισμών ελέγχου και ρύθμισης. Οι κατηγορίες τοπικών αλληλεπιδράσεων και επικοινωνίας μπορούν να ταξινομηθούν ως παρακρινείς, αναφερόμενοι σε παράγοντες που δρουν - κυρίως δια της διάχυσης - μεταξύ γειτονικών κυττάρων, αυτοκρινείς, αναφερόμενοι σε παράγοντες που απελευθερώνονται από το κύτταρο και ενεργούν πίσω στο ίδιο κύτταρο και ενδοκρινείς, αναφερόμενοι σε

παράγοντες και ουσίες που δεν αφήνουν ποτέ το κύτταρο και των οποίων η θέση παραγωγής και δράσης είναι το ίδιο κύτταρο. Ο όρος "παρακρινολογία" έχει χρησιμοποιηθεί λανθασμένα παλαιότερα για να χαρακτηρίσει όλους τους τύπους αλληλεπιδράσεων των όρχεων που σήμερα περιγράφονται καλύτερα υπό τον όρο "τοπική αλληλεπίδραση ή ενδογενές σύστημα ελέγχου του όρχεως".³⁵⁶ Επιπλέον, η αλληλεπίδραση μεταξύ των διαφόρων τμημάτων των όρχεων εμπίπτει επίσης στις τοπικές αλληλεπιδράσεις. Είναι προφανές ότι οι ενδοκρινικοί μηχανισμοί παίζουν τον κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της λειτουργίας των όρχεων και οι παράγοντες που παράγονται τοπικά είναι σημαντικοί για τη ρύθμιση της ορμονικής δραστηριότητας. Οι τοπικοί παράγοντες θα μπορούσαν έτσι να θεωρηθούν ως μεσολαβητές της δράσης των ορμονών και της ενδοκυτταρικής επικοινωνίας. Από αυτήν την άποψη, τόσο η γαμετογένεση όσο και η ενδοκρινική λειτουργία των όρχεων βρίσκονται υπό τοπικό έλεγχο.³⁵⁷ Ενώ τα κύτταρα Sertoli θεωρήθηκαν ως συντονιστές και ρυθμιστές της ανάπτυξης και της ωρίμανσης των γεννητικών κυττάρων για μεγάλο χρονικό διάστημα, αυτά τα κύτταρα πιστεύεται τώρα ότι επηρεάζονται από προϊόντα γεννητικών κυττάρων που μπορούν να επηρεάσουν την εκκριτική δραστηριότητα των κυττάρων Sertoli. Ως εκ τούτου, τα κύτταρα Sertoli βρίσκονται κάτω από τον τοπικό έλεγχο των γεννητικών κυττάρων που έχουν ποικίλες απαιτήσεις για μεταβολικές ουσίες, ανάλογα με τη φάση του σπερματικού κύκλου.³⁵⁸ Έχει συσσωρευτεί πληθώρα παραγόντων με δυνητικά τοπική δράση στους όρχεις, π.χ. αυξητικοί παράγοντες, παράγοντες βλαστικών κυττάρων, ανοσολογικοί παράγοντες, οπιοειδή, οξυτοκίνη και αγγειοτενσίνη, ρενίνη και αγγειοτενσίνη, GHRH, CRH, ACTH, GnRH, καλμοδουλίνη, ceruloplasmin, πρωτεΐνες μεταφοράς, γλυκοπρωτεΐνες, ενεργοποιητές πλασμινογόνου, μεταλλοπρωτεάσες, δινορφίνη, PACAP, κλπ. Επιπλέον, μπορεί εύλογα να υποθεθεί ότι και άλλα, άγνωστα πρωτεϊνικά στοιχεία διαμεσολαβούν στην επικοινωνία μεταξύ διασωληνωδών και σωληνωτών διαμερισμάτων, μεταξύ κυττάρων Sertoli και των γενετικών κυττάρων.

5.8.3. Στεροειδείς Ορμόνες

Η τεστοστερόνη είναι το κύριο εκκριτικό προϊόν των όρχεων, μαζί με την 5α-διδροτεστοστερόνη (DHT), την ανδροστερόνη, την ανδροστενεδιόνη, την 17-υδροξυπρογεστερόνη, την προγεστερόνη και την πρεγνενολόνη. Ο ρόλος της ανδροστερόνης, της προγεστερόνης και της 17-υδροξυπρογεστερόνης στους όρχεις είναι άγνωστος, αλλά οι υποδοχείς προγεστερόνης έχουν βρεθεί σε μερικά περισωληναριακά

κύτταρα και σε σπερματοζωάρια.^{359,360} Ερευνητές, χρησιμοποιώντας ένα παράγωγο προγεστερόνης (enanthate norethisterone), απέδειξαν την απουσία άμεσων επιδράσεων στη λειτουργία των όρχεων / επιδιδυμιδίων.³⁶¹

Για την τεστοστερόνη, έναν κλασικό ενδοκρινικό παράγοντα, υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις για το ρόλο της ως κεντρικού τοπικού ρυθμιστή της σπερματογένεσης. Μελέτες σε τρωκτικά έδειξαν ότι η επιλεκτική απομάκρυνση των κυττάρων Leydig, η διακοπή της μεταφοράς ορμικής τεστοστερόνης και τα ειδικά μοντέλα knockout των υποδοχέων ανδρογόνου στα κύτταρα Sertoli προκάλεσαν σημαντικές αλλοιώσεις της ωρίμανσης των γεννητικών κυττάρων.³⁶² Επιλεκτικά ποντίκια knockout για τον υποδοχέα ανδρογόνου των περιωληνιακών κυττάρων εμφάνισαν συγκεκριμένα ελαττώματα στα κύτταρα Sertoli και στα περιωληνιακά κυττάρια.³⁶³ Η σπερματογένεση υπήρχε σε αγόρια με όγκους κυττάρων Leydig που παράγουν τεστοστερόνη, αλλά μόνο στα σπερματικά σωληνάρια παρακείμενα του όγκου και όχι σε περιοχές χωρίς όγκο.

Σε γόνιμους άνδρες οι συγκεντρώσεις ενδορμικής τεστοστερόνης υπερβαίνουν τις τιμές των SHBG / ABP κατά περίπου 200 φορές,³⁶⁴ υποδηλώνοντας ένα σημαντικό πλεόνασμα τεστοστερόνης στους όρχεις. Σχετικά με τον ορό του περιφερικού αίματος, οι συγκεντρώσεις της ενδορμικής τεστοστερόνης ήταν 80 φορές υψηλότερες.³⁶⁵ Η τεστοστερόνη μεταβολίζεται σε DHT με την επίδραση της 5α-αναγωγάσης των όρχεων και σε οιστραδιόλη υπό την επίδραση της αρωματάσης. Δεν είναι απολύτως σαφές σε ποιο βαθμό αυτές οι μεταβολικές δραστηριότητες είναι απαραίτητες για τη σπερματογένεση, χωρίς την επίδραση τεστοστερόνης. Η θεραπεία εθελοντών με φιναστερίτη, αναστολέα της 5α-αναγωγάσης, δεν άλλαξε τη σπερματογένεση,^{366,367} ενώ πιο πρόσφατα παρατηρήθηκε ήπια μείωση των παραμέτρων του σπέρματος υπό την επίδραση της φιναστερίδης και της ντουταστερίδης.³⁶⁸ Η προσθήκη ντουταστερίδης σε αντισυλληπτικό στεροειδές (τεστοστερόνη και λεβονοργεστρέλη) δεν αύξησε την καταστολή της σπερματογένεσης.³⁶⁹ Όσον αφορά την οιστραδιόλη, η δράση της αρωματάσης και ο υποδοχέας β-οιστρογόνου φαίνεται να είναι παρόντα στα ανθρώπινα κύτταρα Sertoli και στα γεννητικά κύτταρα.^{370,371} Η χορήγηση αναστολέα της αρωματάσης σε ένα μοντέλο μη ανθρώπινου πρωτεύοντος με εποχική αναπαραγωγή (πίθηκος bonnet) είχε ως αποτέλεσμα την εξασθένιση της σπερματογένεσης και τη μεταβολή της συμπίκνωσης της χρωματίνης σπερματοζωαρίων.^{372,373} Οι κλινικές ενδείξεις για το ρόλο των οιστρογόνων στην λειτουργία των όρχεων είναι διαφορούμενες διότι μεμονωμένες περιπτώσεις με έλλειψη υποδοχέα οιστρογόνου ή αδυναμία αρωματάσης δεν αποκάλυψαν μια συνεπή εικόνα, με μερικούς ασθενείς να εμφανίζουν κρυψορχία.^{374,375}

Παρόλο που διαπιστώνεται πέραν αμφιβολίας ότι η τεστοστερόνη είναι ένας βασικός τοπικός ρυθμιστής της σπερματογένεσης, είναι εκπληκτικά δύσκολο να αποδειχθεί μια σαφής σχέση μεταξύ των συγκεντρώσεων της ενδορχικής τεστοστερόνης και της παραγωγής των γεννητικών κυττάρων. Στα μη ανθρώπινα πρωτεύοντα δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των ενδορχικών ανδρογόνων και την παραγωγή των γενετικών κυττάρων ή του αριθμού των σπερματοζωαρίων.^{348,351} Παρομοίως, μελέτες αντισυλληπτικών σε εθελοντές απέτυχαν να επιδείξουν συσχέτιση μεταξύ ενδορχικών στεροειδών και αριθμού βλαστικών κυττάρων.³⁷⁶

Σε μη ανθρώπινο πρωτεύον, η τεστοστερόνη επάγει το σχηματισμό ακτίνης λείου μυός στα περιωληναριακά κύτταρα κατά τη διάρκεια της προεφηβικής ωρίμανσης των όρχεων.³⁷⁷ Τα περιωληναριακά κύτταρα εκφράζουν τον υποδοχέα ανδρογόνου. Το αποτέλεσμα της τεστοστερόνης ενισχύεται σημαντικά από την FSH. Δεδομένου ότι οι υποδοχείς FSH βρίσκονται μόνο σε κύτταρα Sertoli, προκύπτει ότι η FSH επηρεάζει την ανδρογόνο δράση έμμεσα, μέσω των παραγόντων που προκύπτουν στο κύτταρο Sertoli. Αυτό δείχνει ότι ως ενδοκρινικός παράγοντας η FSH μπορεί επίσης να προκαλέσει το σχηματισμό φυσιολογικά σημαντικών, τοπικά ενεργών παραγόντων στους όρχεις πρωτευόντων. Είναι ενδιαφέρον ότι η ανασυνδυασμένη FSH διεγείρει την παραγωγή τεστοστερόνης στους άνδρες³⁷⁸ και σε ασθενείς με επιλεκτική ανεπάρκεια FSH,³⁷⁹ δίνοντας περαιτέρω υποστήριξη στη σημασία τοπικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ κυττάρων Sertoli, Leydig και περιωληναριακών κυττάρων, σε συνδυασμό με τις δράσεις των ανδρογόνων και των γοναδοτροπινών. Μελέτες *in vitro*, με τη χρήση κυττάρων Sertoli πιθήκου που εκτέθηκαν σε τεστοστερόνη και FSH, αποκάλυψαν ότι η οιστραδιόλη παρήχθη παρουσία τεστοστερόνης, αλλά όχι FSH.³⁸⁰ Το γεγονός αυτό είναι εκπληκτικό δεδομένου ότι, με βάση τα δεδομένα των τρωκτικών, η δραστηριότητα της αρωματάσης στα κύτταρα Sertoli ρυθμίζεται από την FSH.

Η τεστοστερόνη δρα ως ενδοκρινικός και τοπικός (παρακρινής και αυτοκρινής) παράγοντας εντός των όρχεων.

5.8.4. Παράγοντας insulin-like 3

Ο παράγοντας insulin-like 3 (INSL3) είναι μια πρωτεΐνη που παράγεται από τα κύτταρα Leydig¹⁷⁷ και σηματοδοτεί μέσω ενός υποδοχέα G-coupled (LGR8). Εκφράζεται στα κύτταρα Leydig και στα μειωτικά / μεταμειωτικά ορχικά ανθρώπινα γεννητικά κύτταρα, αλλά όχι στα κύτταρα Sertoli και στα περιωληναριακά ορχικά κύτταρα.¹⁷⁶ Υπάρχουν

αξιόλογες ενδείξεις ότι η INSL3 είναι ένας δείκτης της διαφοροποίησης των κυττάρων Leydig και της εισόδου στην εφηβεία των ανδρών.^{381,382} Τα επίπεδα της INSL3 επηρεάζονται από την hCG / LH, αλλά αυτό το φαινόμενο φαίνεται να αποσυνδέεται από τα στεροειδογόνα αποτελέσματα της LH στη σύνθεση τεστοστερόνης.^{175,383} Δεδομένου ότι υπάρχουν υποδοχείς για την INSL3 στα προχωρημένα γεννητικά κύτταρα, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε τον τοπικό ρόλο της INSL3 κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης. Μια αναδρομική ανάλυση αρκετών μελετών για την ανδρική αντισύλληψη έδειξε ότι τα επίπεδα της INSL3 στον ορό του αίματος ήταν χαμηλότερα στους αζωοσπερμικούς άνδρες σε σύγκριση με τους μη αζωοσπερμικούς, ενώ η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της INSL3 και του αριθμού των σπερματοζωαρίων δεν ήταν στατιστικά σημαντική.³⁸⁴ Παρ' όλα αυτά, απαιτούνται περισσότερα δεδομένα για να καταλήξουμε σε οριστικό συμπέρασμα σχετικά με τη σημασία της INSL3 ως τοπικού ρυθμιστή της ανθρώπινης σπερματογένεσης.

5.8.5. Αυξητικοί παράγοντες

Οι αυξητικοί παράγοντες δεσμεύονται στους επιφανειακούς υποδοχείς και προκαλούν γεγονότα διαφοροποίησης των κυττάρων μέσω ειδικών καναλιών μεταγωγής σήματος. Μεταξύ αυτών των παραγόντων που συμμετέχουν στην τοπική ρύθμιση της σπερματογένεσης είναι ο μεταμορφωτικός αυξητικός παράγοντας (Transforming Growth Factor - TGF) -α και -β, η ανασταλτίνη (inhibin) και η ακτιβίνη (activin), ο νευρικός αυξητικός παράγοντας (Nerve Growth Factor - NGF), ο ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας I (Insulin-Like Growth Factor I - IGF-I), ο ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας (Fibroblast Growth Factor - FGF) και ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (Epidermal Growth Factor - EGF). Η ανασταλτίνη και η ακτιβίνη έχουν ανιχνευθεί όχι μόνο στα κύτταρα Sertoli, αλλά και στα κύτταρα Leydig των πρωτευόντων θηλαστικών. Η ανασταλτίνη και η ακτιβίνη είναι δομικά συγγενείς πρωτεΐνες. Η ετεροδιμερής ανασταλτίνη αποτελείται από μια υπομονάδα “α” και μια υπομονάδα “βΑ” ή “βΒ”, ενώ η ακτιβίνη είναι ομοδιμερής “βΑβΑ” ή “βΒβΒ”. Γενικά, η ακτιβίνη θεωρείται ότι διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των σπερματοζωαρίων, ενώ η ανασταλτίνη ασκεί ανασταλτική δράση. Σημαντικό κλινικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι πρόσφατες ανακαλύψεις ότι οι συγκεντρώσεις της ανασταλτίνης στον ορό συσχετίζονται με τη σπερματογονική δραστηριότητα, το μέγεθος των όρχεων και την παραγωγή σπέρματος. Αυτός ο αυξητικός παράγοντας μπορεί πραγματικά να χρησιμοποιηθεί ως ένας ενδοκρινικός δείκτης τοπικών

σπερματογενετικών ελαττωμάτων.^{347,385} Μελέτες *in vitro* έχουν δείξει ότι η τοπική λειτουργία της ανασταλτίνης και της ακτιβίνης θα μπορούσε να είναι μια ρύθμιση της στεροειδικής δραστηριότητας στα κύτταρα Leydig. Η ακτιβίνη αναστέλλει ή διεγείρει τη στεροειδογένεση στα κύτταρα Leydig κατά τρόπο εξαρτώμενο από το είδος. Γενικά, η IGF-I και η TGF- α ασκούν διεγερτική δραστηριότητα στους όρχεις, ενώ ο TGF- β δρα ως αναστολέας. Στον αρουραίο, η ανάπτυξη κυττάρων Leydig διατηρείται μέσω αλληλεπίδρασης μεταξύ του TGF- α και του TGF- β , ενώ η δραστηριότητα της LH ρυθμίζεται από τον IGF-I. Στο ανθρώπινο κύτταρο Leydig η στεροειδογόνος δράση διεγείρεται επίσης από τον EGF. Αυτός ο παράγοντας ανάπτυξης επηρεάζει άμεσα τη σπερματογένεση, αφού οι συγκεντρώσεις του IGF-I σχετίζονται θετικά με τον αριθμό των παχυτενικών σπερματοκυττάρων. Στον άνθρωπο, ο IGF-I παρουσιάζει την υψηλότερη έκφραση σε αυτά τα σπερματοκύτταρα και διεγείρει τη σύνθεση του DNA στα μιτωτικά γεννητικά κύτταρα. Η χορήγηση του IGF-I σε ασθενείς αύξησε το μέγεθος των όρχεων, αλλά αυτό συνδέθηκε επίσης με αυξημένη έκκριση γοναδοτροπίνης και τεστοστερόνης.³⁸⁶ Ένας σημαντικός ρόλος του NGF για τη δομική οργάνωση των ανθρώπινων σπερματικών σωληναρίων είναι εμφανής από το γεγονός ότι η καλλιέργεια των σπερματοδόχων σωληναρίων μπορεί να είναι επιτυχής μόνο παρουσία NGF. Ο NGF έχει εντοπιστεί με ανοσοκυτταροχημεία σε περιτοναϊκά κύτταρα. Στον αρουραίο, ο NGF είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της μειωτικής διαίρεσης. Ο ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας (FGF) φαίνεται να εμπλέκεται στη μίτωση και στην αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων Sertoli και των γεννητικών κυττάρων.

5.8.6. Παράγοντες του ανοσοποιητικού συστήματος

Τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και ο αίματο-ορχικός φραγμός παρέχουν ένα ειδικό περιβάλλον για την ανάπτυξη των γεννητικών κυττάρων. Ωστόσο, φαίνεται ότι οι ανοσολογικοί παράγοντες μπορούν επίσης να διαδραματίσουν έναν πιο άμεσο ρόλο κατά τη διάρκεια της στεροειδογένεσης και της γαμετογένεσης των όρχεων και να έχουν σχέση με την ανδρική υπογονιμότητα.³⁸⁷⁻³⁸⁹ Αυτοί οι παράγοντες περιλαμβάνουν προϊόντα λευκοκυττάρων, μακροφάγων και ιστιοκυττάρων. Για παράδειγμα, κυτταροκίνες όπως η ιντερφερόνη, ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF), οι ιντερλευκίνες, ο ανασταλτικός παράγοντας λευχαιμίας (LIF), ο ανθρώπινος βλαστοκυτταρικός παράγοντας (SCF) και ο παράγοντας αναστολής της μετανάστευσης μακροφάγων (MIF) δεσμεύονται με υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας και προκαλούν πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση κυττάρων.

Ο TNF και ο LIF φαίνεται ότι παίζουν ρόλο στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των γεννητικών κυττάρων και των κυττάρων Sertoli και στον αυτοκρινή έλεγχο του πολλαπλασιασμού των κυττάρων Sertoli. Ο MIF που παράγεται από κύτταρα Leydig ανευρίσκεται στα κύτταρα Sertoli, στα γεννητικά κύτταρα και τα περιωλινιαρικά κύτταρα, υποδεικνύοντας τον αντισταθμιστικό του ρόλο στη λειτουργία των όρχεων. Σε αντίθεση με τις ιντερλευκίνες, η SCF και ο υποδοχέας της (c-kit) είναι βασικοί τοπικοί παράγοντες που διέπουν τη μετανάστευση των γεννητικών κυττάρων κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης και της διαφοροποίησης των σπερματικών κυττάρων στους ενήλικες όρχεις. Η SCF συντίθεται και εκκρίνεται από τα κύτταρα Sertoli, ενώ ο υποδοχέας εκφράζεται στις επιφάνειες των σπερματογονίων. Το σύστημα SCF / c-kit είναι σημαντικό για τη διαφοροποίηση και την ανάπτυξη των σπερματογονίων.

6. ΑΙΤΙΑ ΑΝΔΡΙΚΗΣ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ

Τα αίτια της ανδρικής υπογονιμότητας μπορεί να διακριθούν ανάλογα με την προέλευσή τους σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: στην πρώτη, υπάρχουν διαταραχές της λειτουργίας του υποθαλάμου και της υπόφυσης (προ-ορχικά αίτια), στη δεύτερη, διαταραχές της λειτουργίας των όρχεων (ορχικά αίτια) και στην τρίτη, ανωμαλίες της εκφορητικής οδού του σπέρματος, διαταραχές της ποσότητας των σπερματοζωαρίων ή της κινητικότητάς τους (μετα-ορχικά αίτια).

Στα προ-ορχικά αίτια εντάσσονται οι διαταραχές της υποθαλαμικής ή της υποφυσιακής λειτουργίας, καθώς και ορμονικές διαταραχές ή συστηματικές παθήσεις. (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Προ-ορχικά αίτια ανδρικής υπογονιμότητας.

Προ-ορχικά αίτια
Διαταραχές της υποθαλαμικής λειτουργίας
<ul style="list-style-type: none">• Σύνδρομο Kallmann• Σύνδρομο γόνιμου ευνούχου• Μεμονωμένη ανεπάρκεια της FSH• Συγγενή υπογοναδοτροπικά σύνδρομα (σύνδρομα Prader-Willi, Laurence-Moon-Bardet-Biedl)
Διαταραχές της υποφυσιακής λειτουργίας
<ul style="list-style-type: none">• Υποφυσιακή ανεπάρκεια (μείωση των γοναδοτροπινών)• Υπερπρολακτιναιμία
Λοιπές ορμονικές διαταραχές
<ul style="list-style-type: none">• Υπεροιστρογοναιμία - Υπερανδρογοναιμία• Υπερεπάρκεια γλυκοκορτικοειδών• Υπερ- και υποθυρεοειδισμός
Συστηματικές παθήσεις
<ul style="list-style-type: none">• Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια• Κίρρωση ήπατος• Δρεπανοκυτταρική αναιμία• Λοιμώξεις ουροποιογεννητικού

Στα ορχικά αίτια εντάσσονται χρωμοσωμικές ανωμαλίες, κισσοκήλη, γοναδοτοξικοί παράγοντες, απλασία του σπερματικού επιθηλίου, διαταραχές στην ωρίμανση των σπερματοζωαρίων και διάφορες άλλες παθήσεις των όρχεων (Πίνακας 4).

Στα μετα-ορχικά αίτια περιλαμβάνονται η ανατομική απόφραξη και δυσπλασία της αποχετευτικής οδού του σπέρματος, οι διαταραχές εκσπερμάτισης, της κινητικότητας και της λειτουργίας των σπερματοζωαρίων και οι σεξουαλικές δυσλειτουργίες (**Πίνακας 5**).

Πίνακας 4. Ορχικά αίτια ανδρικής υπογονιμότητας.

Ορχικά αίτια
Χρωμοσωμικές ανωμαλίες <ul style="list-style-type: none">• Σύνδρομο Klinefelter• Σύνδρομο αναστροφής του φύλου (46XX)• Σύνδρομο XYY (υπεράρρενος)• Σύνδρομο Noonan
Απλασία του σπερματικού επιθηλίου (Sertoli-cell-only Syndrome)
Μυοτονική δυστροφία
Αμφοτερόπλευρη ανορχία
Αναστολή ωρίμανσης σπερματοζωαρίων (germ cell arrest syndrome)
Ανωμαλίες σπερματοζωαρίων
Γοναδοτοξικοί παράγοντες <ul style="list-style-type: none">• Διάφορα φάρμακα• Η ενδομήτρια έκθεση σε διαιθυλοστιλβεστρόλη (DES)• Η επαγγελματική ή περιβαλλοντική έκθεση σε ακτινοβολία, τοξικές χημικές ουσίες, υψηλές θερμοκρασίες.
Διάφορες παθήσεις των όρχεων <ul style="list-style-type: none">• Κρυπορχία• Μεταπαρωτιδική ορχίτιδα
Κιρσοκήλη

Πίνακας 5. Μετα-ορχικά αίτια ανδρικής υπογονιμότητας.

Μετα-ορχικά αίτια
Απόφραξη αποχετευτικής οδού του σπέρματος
<ul style="list-style-type: none">• Συγγενής• Επίκτητη
Δυσπλασία αποχετευτικής οδού του σπέρματος
<ul style="list-style-type: none">• Κυστική ίνωση• Σύνδρομο Young
Διαταραχές εκσπερμάτισης
<ul style="list-style-type: none">• Οπισθοπεριτοναϊκές επεμβάσεις (λεμφαδενικός καθαρισμός, οσφυϊκή συμπαθεκτομή)• Επεμβάσεις στην πύελο• Κακώσεις του νωτιαίου μυελού.• Σακχαρώδης διαβήτης• Πρόσληψη συμπαθητικολυτικών φαρμάκων.• Αδυναμία ή έλλειψη εκσπερμάτισης
Διαταραχές της κινητικότητας και της λειτουργίας των σπερματοζωαρίων
<ul style="list-style-type: none">• Συγγενείς ανωμαλίες της ουράς των σπερματοζωαρίων.• Διαταραχές της ωρίμανσης των σπερματοζωαρίων• Ανοσολογικοί παράγοντες (αντισπερματικά αντισώματα)• Λοιμώξεις του ουροποιογεννητικού συστήματος
Σεξουαλικές δυσλειτουργίες
<ul style="list-style-type: none">• Στυτική δυσλειτουργία, οργανική ή ψυχογενής.• Αδυναμία εκσπερμάτισης στον κόλπο με τη μορφή της πρόωρης ή καθυστερημένης εκσπερμάτισης, σε φίμωση, συγγενή κάμψη του πέους ή υποσπαδία (περινεϊκός - οσχεϊκός).• Μειωμένη ερωτική επιθυμία (Libido).

7. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΥ ΑΝΤΡΑ

Η διαγνωστική προσέγγιση του υπογόνιμου άνδρα βασίζεται κυρίως στο ιατρικό, οικογενειακό, ατομικό και σεξουαλικό ιστορικό, στην κλινική εξέταση του άντρα, στους εργαστηριακούς ελέγχους με εξετάσεις σπέρματος, ούρων και αίματος, στις απεικονιστικές εξετάσεις και, τέλος, στη βιοψία όρχεων.

7.1. Ιστορικό

Οικογενειακό ιστορικό

Αναζητά την ύπαρξη συγγενών ανωμαλιών (κυστική ίνωση, σύνδρομο Young, ανεπάρκεια ανδρογονικού υποδοχέα κ.ά.) ή υπογονιμότητας σε συγγενείς πρώτου βαθμού.

Αναπτυξιακό ιστορικό

Ελέγχει στον άντρα το χρόνο έναρξης της εφηβείας, καθώς και το ρυθμό ολοκλήρωσής της (τριχοφυΐα, μεταβολή της φωνής και έναρξη σεξουαλικών επαφών). Η καθυστερημένη ήβη μπορεί να υποδηλώνει σύνδρομο Klinefelter ή ιδιοπαθή υπογοναδισμό, ενώ η εμφάνιση πρώιμης ήβης μπορεί να οφείλεται σε ανδρογενετικό σύνδρομο των επινεφριδίων.

Παθολογικό - Ουρολογικό ατομικό αναμνηστικό

Το παθολογικό ιστορικό πρέπει να αναζητά χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, ηπατική ανεπάρκεια, σακχαρώδη διαβήτη, νευρολογικά νοσήματα και παρατεταμένες εμπύρετες νόσους. Πρέπει να ελέγχονται, επίσης, διαταραχές υποθαλάμου-υπόφυσης (κεφαλαλγίες, διαταραχές όρασης, πολυδιψία, διαταραχές όσφρησης, μεγαλακρία), προβλήματα του θυρεοειδούς αδένου (δυσανεξία στο κρύο - ζέστη, αίσθημα παλμών, αυξημένη όρεξη με απώλεια βάρους, μεταβολές της κινητικότητας του εντέρου), και νόσοι των επινεφριδίων (μυϊκή αδυναμία, ανορεξία, ορθοστατική υπόταση, υπέρχρωση δέρματος). Ακόμα, το ουρολογικό ιστορικό πρέπει να περιλαμβάνει ειδικές και μη ειδικές λοιμώξεις του ουροποιογεννητικού συστήματος, παθήσεις ή κακώσεις των όρχεων ή του πέους.

Χειρουργικό αναμνηστικό

Εξετάζει επεμβάσεις στο πέος (περιτομή, αποκατάσταση υποσπαδία), στο όσχεο (υδροκήλη, ορχεοπηξία κ.ά.), στη βουβωνική χώρα (κήλες, κισσοκήλη) στην πύελο, καθώς και επεμβάσεις στην ουροδόχο κύστη-προστάτη (διουρηθρική εκτομή) και στον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο (λεμφαδενικός καθαρισμός για νεοπλάσματα όρχεων).

Έκθεση σε γοναδοτοξικούς παράγοντες

Πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η έκθεση του άντρα σε ακτινοβολία, τοξικές χημικές ουσίες ή χρόνια έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες. Η έκθεση αυτή σε γοναδοτροξικούς παράγοντες μπορεί να είναι επαγγελματική (φυτοφάρμακα, εντομοκτόνα, κ.ά.), ιατρική (χημειοθεραπεία, ακτινοθεραπεία) ή περιβαλλοντική (βαρέα μέταλλα). Επίσης, πρέπει να λαμβάνονται πληροφορίες για τις συνήθειες του ασθενή, όπως το κάπνισμα, το αλκοόλ και η χρήση παραισθησιογόνων ή άλλων ναρκωτικών ουσιών.

Φαρμακευτικές ουσίες

Ουσίες, όπως τα αναβολικά στεροειδή καθώς και ορισμένα φάρμακα (σπιρονολακτόνη, σουλφασαλαζίνη, κολχικίνη, αλλοπουρινόλη, κυκλοσπορίνη, κετοκοναζόλη, σιμετιδίνη) και κάποια συνήθη αντιβιοτικά (τετρακυκλίνες, νιτροφουραντοΐνη, ερυθρομυκίνη, γενταμυκίνη, κινολόνες), μπορούν να επηρεάσουν την παραγωγή και λειτουργία των σπερματοζωαρίων.

Σεξουαλικό ιστορικό

Είναι πολύ βασικό να συζητηθεί η libido του άντρα, η στυτική του λειτουργία, οι συνήθειες συνουσίας και η χρήση λιπαντικών που μπορεί να έχουν σπερματοκτόνο δράση. Η συχνότητα και ο συγχρονισμός των σεξουαλικών επαφών με την ωορρηξία παίζει βασικό ρόλο, καθώς πολλά ζευγάρια δεν γνωρίζουν τον καταμήνιο κύκλο της γυναίκας.

Ιστορικό υπογονιμότητας

Στη λήψη του ιστορικού του άντρα είναι πολύ σημαντικό να ενημερωθούμε για προηγούμενες εγκυμοσύνες με την ίδια ή άλλη σύντροφο, καθώς και για προηγηθείσες θεραπείες και τα αποτελέσματά τους, πράγμα που συμβάλλει στο να θέσουμε τη διάγνωση της πρωτοπαθούς ή δευτεροπαθούς υπογονιμότητας.

7.2. Φυσική εξέταση

Η κλινική εξέταση του ασθενούς που ελέγχεται για υπογονιμότητα πρέπει να περιλαμβάνει όλα τα συστήματα, αλλά να εστιάζει στην εξέταση των έξω γεννητικών οργάνων και των δευτερευόντων χαρακτηριστικών του φύλου. Η αξιολόγηση των ανθρωπομετρικών σημείων, όπως το ύψος, το βάρος, η κατανομή του λίπους και η μέτρηση της αρτηριακής πίεσης, δίνουν πληροφορίες για την πιθανή συνύπαρξη συστηματικής νόσου.

Η επισκόπηση αποτελεί σημαντικό κομμάτι της φυσικής εξέτασης του υπογόνιμου άντρα για την ανεύρεση τυχόν σημείων υπογοναδισμού, όπως γυναικομαστία, ευνουχοειδής ανάπτυξη των έξω γεννητικών οργάνων, απουσία ανδρικής κατανομής της τρίχωσης, μη φυσιολογική μυϊκή διάπλαση, διαταραγμένες σκελετικές και σωματικές αναλογίες. Συχνές αιτίες γυναικομαστίας αποτελούν η ενδογενής και εξωγενής λήψη οιστρογόνων ή άλλων φαρμάκων (δακτυλίτιδα, σπιρονολακτόνη κ.α.), καθώς επίσης και το σύνδρομο Klinefelter.

Η ψηλάφηση των όρχεων είναι απαραίτητη για να ελεγχθεί η θέση, το μέγεθος και η σύστασή τους. Πρέπει να εκτιμηθεί αν οι όρχεις βρίσκονται στο όσχεο, είναι ανασπώμενοι, ή ψηλαφιούνται στο βουβονικό κανάλι ή στην κοιλιακή χώρα. Το μέγεθος των όρχεων πρέπει να υπολογιστεί αρχικά με την ψηλάφηση και τη βοήθεια του ορχιδόμετρου. Μικροί όρχεις πιθανόν δείχνουν βλάβη του σπερματικού επιθηλίου, ενώ πολύ μικροί όρχεις συναντώνται στα άτομα με σύνδρομο Klinefelter. Αντιθέτως, μεγάλος όγκος όρχεων μπορεί να είναι φυσιολογικό εύρημα ή να βρεθεί σε άτομα με το σύνδρομο του εύθραυστου γονιδίου X. Η ψηλάφηση των όρχεων μπορεί να αναδείξει μαλακή σύσταση, που είναι ενδεικτική διαταραχής της σπερματογένεσης, ενώ η ψηλάφηση ανώδυνης σκληρίας θέτει την υπόνοια κακοήθειας. Η ψηλάφηση της κεφαλής, του σώματος και της ουράς της επιδιδυμίδας, θα αποκλείσουν σκληρίες και κυστικούς μηχανισμούς, οι οποίοι ευθύνονται για απόφραξη, ενώ είναι απαραίτητη και η ψηλάφηση των σπερματικών πόρων για την αξιολόγηση της ύπαρξής του (πιθανή απουσία στην κυστική ίνωση). Η ψηλάφηση του οσχέου ολοκληρώνεται με τον ασθενή σε όρθια θέση για την αναζήτηση κισσοκήλης. Η κισσοκήλη, ανάλογα με την ψηλάφηση, μπορεί να διαχωριστεί σε: 1^ο βαθμού (όταν το διατεταμένο φλεβικό πλέγμα είναι ψηλαφητό μόνο κατά τη δοκιμασία Valsava), 2^ο βαθμού (όταν το πλέγμα είναι ψηλαφητό, αλλά όχι ορατό) και 3^ο βαθμού (όταν είναι εύκολα ορατό στο όσχεο).

Το πέος ελέγχεται για τυχόν μικροφαλία, συγγενή κάμψη, φίμωση ή υποσπαδία που μπορεί να προκαλέσουν δυσχέρεια στην εναπόθεση του σπέρματος στον κόλπο.

Τέλος, είναι απαραίτητη η δακτυλική εξέταση του προστάτη για την ανακάλυψη τυχόν συγγενούς υποπλασίας ή επίκτητων ανωμαλιών που προκλήθηκαν από προγενέστερες λοιμώξεις. Οι σπερματοδόχοι κύστεις δεν ψηλαφούνται κατά τη δακτυλική εξέταση από το ορθό. Όταν ψηλαφούνται μπορεί να υπάρχει απόφραξη των εκσπερματικών πόρων.

7.3. Εργαστηριακές εξετάσεις

Βάσει του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO), οι εργαστηριακές εξετάσεις που πρέπει να γίνονται στα πλαίσια διερεύνησης του υπογόνιμου άντρα διακρίνονται σε εξετάσεις σπέρματος, που μπορεί να είναι ρουτίνας, προαιρετικές ή ερευνητικές, σε ορμονικές εξετάσεις, σε απεικονιστικές εξετάσεις, σε χρωμοσωμικές εξετάσεις και στη βιοψία όρχεως.

7.3.1. Εξετάσεις σπέρματος ρουτίνας

A. Σπερμοδιάγραμμα

Αποτελεί την θεμελιώδη εξέταση για τη διάγνωση της υπογονιμότητας στον άντρα. Περιλαμβάνει τη μακροσκοπική και μικροσκοπική εξέταση του σπέρματος. Το δείγμα πρέπει να λαμβάνεται μετά από σεξουαλική αποχή 48-72 ωρών. Συλλέγεται σε ειδικό αποστειρωμένο δοχείο με ευρύ στόμιο. Σημαντικό είναι η εξέταση να γίνεται εντός μίας ώρας από την παραγωγή του δείγματος και κατά τη μεταφορά του να φυλάσσεται σε θερμοκρασία σώματος και να αποφεύγονται οι ακραίες θερμοκρασίες (<20 ή >40°C). Για τους λόγους αυτούς, ιδανικότερη θεωρείται η λήψη του δείγματος στο εργαστήριο, με αυνανισμό. Απαιτούνται τουλάχιστον δύο δείγματα, σε διάστημα τριών εβδομάδων, προκειμένου να έχουμε εικόνα για την ποιότητα του σπέρματος. Αν αυτά τα δύο δείγματα έχουν διαφορά μεταξύ τους πάνω από 20%, τότε χρειάζεται και τρίτο.

Κατά τη μακροσκοπική εξέταση του σπέρματος διερευνούνται τα εξής χαρακτηριστικά του:

α. Ρευστοποίηση. Αμέσως μετά την εκσπερμάτιση σε φυσιολογικές συνθήκες, το σπέρμα σχηματίζει ένα πήγμα, το οποίο στα επόμενα 15-60min ρευστοποιείται. Για τη ρευστοποίηση υπεύθυνα είναι τα πρωτεολυτικά ένζυμα του προστατικού υγρού, ενώ για την αρχική πήξη του σπέρματος ευθύνονται παράγοντες που προέρχονται από τις εκκρίσεις των σπερματοδόχων κύστεων. Αδυναμία πλήρους ρευστοποίησης στα πρώτα 60min μετά την εκσπερμάτιση υποδηλώνει δυσλειτουργία του προστάτη (π.χ. φλεγμονές) και σπανιότερα των σπερματοδόχων κύστεων.

β. Γλοιότητα (ιξώδες). Αποτελεί ένα διαφορετικό χαρακτηριστικό του σπέρματος από την πήξη. Η υψηλή γλοιότητα, τα αίτια της οποία δεν είναι γνωστά, μπορεί να δυσχεράνει την αξιολόγηση των παραμέτρων του σπέρματος και κυρίως της κινητικότητας.

γ. Όγκος. Μπορεί να μεταβάλλεται από πολλές συνθήκες, όπως ο χρόνος αποχής της εκσπερμάτισης και η ορθή συλλογή του σπέρματος. Αιτίες που μπορούν να προκαλέσουν ελάττωση του όγκου της εκσπερμάτισης κάτω του 1,5ml είναι η απόφραξη της αποχετευτικής οδού του σπέρματος, η παλίνδρομη εκσπερμάτιση, η φλεγμονή των επικουρικών αδένων, η αγενεσία των σπερματοδόχων κύστεων και ο υπογοναδισμός.

δ. pH. Σύμφωνα με τις πρόσφατες οδηγίες του WHO (2010) το pH του σπέρματος είναι φυσιολογικά αλκαλικό, με τιμή που πρέπει να είναι >7,2 χωρίς να ορίζεται ανώτατο όριο (π.χ., ένα δείγμα σπέρματος με τιμή 8,9 θεωρείται φυσιολογικό). Τιμές μικρότερες από 7 (όξινο) μπορεί να υποδηλώνουν απόφραξη της αποχετευτικής οδού ή φλεγμονή των επικουρικών αδένων.

ε. Οσμή-Χροιά. Αποτελούν χαρακτηριστικά του σπέρματος, που δεν μπορούμε να περιγράψουμε με σαφήνεια τα φυσιολογικά όρια.

Κατά τη μικροσκοπική εξέταση του σπέρματος αξιολογούνται:

α. Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων. Προσδιορίζεται με την κυτταρομετρική πλάκα Neubauer. Η τιμή αναφοράς για τη συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων είναι τα $15 \times 10^6/\text{ml}$ εκσπερμάτισης. Η πλήρης απουσία σπερματοζωαρίων ονομάζεται αζωοσπερμία και επιβεβαιώνεται με τη μέτρηση των σπερματοζωαρίων μετά από φυγοκέντριση του σπέρματος. Οφείλεται σε βαριά βλάβη του σπερματικού επιθηλίου (μη αποφρακτική αζωοσπερμία) ή σε πλήρη απόφραξη της αποχετευτικής οδού του σπέρματος (αποφρακτική αζωοσπερμία). Όταν ο αριθμός των σπερματοζωαρίων είναι μικρότερος από $15 \times 10^6/\text{ml}$, τότε έχουμε ολιγοσπερμία που όμως δεν αποκλείει την πιθανότητα γονιμοποίησης, αλλά μειώνει τα στατιστικά επίτευξη γονιμοποίησης.

β. Κινητικότητα. Για την πλήρη αξιολόγηση της κινητικότητας σύμφωνα με τις πρόσφατες οδηγίες του WHO του 2010 θα πρέπει να αναφέρεται: 1) η ζωηρή προωθητική ικανότητα (βαθμός A), 2) η νωθρή προωθητική (βαθμός B), 3) η επιτόπια κίνηση (βαθμός Γ) και 4) τα ακίνητα σπερματοζωάρια (βαθμός Δ). Η κινητικότητα ορίζεται ως φυσιολογική όταν το συνολικό άθροισμα των σπερματοζωαρίων που κινούνται με ζωηρή και νωθρή κίνηση (A+B) είναι μεγαλύτερο ή ίσο με το 50% του συνόλου, εκ των οποίων η

ζωηρή προωθητική ικανότητα (A) αποτελεί τουλάχιστον το 25% του συνόλου. Αν τα ακίνητα σπερματοζωάρια ξεπερνούν το 50%, είναι απαραίτητο να γίνεται η χρώση τους με ηωσίνη με σκοπό τον καθορισμό των ποσοστών των νεκρών και των ζωντανών σπερματοζωαρίων. Το ποσοστό των κινούμενων σπερματοζωαρίων και το είδος της κίνησης επηρεάζει σημαντικά τη γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος, γι' αυτό θεωρείται η σημαντικότερη, ίσως, παράμετρός του. Η ασθenoσπερμία, δηλαδή η μείωση της κινητικότητας, παρατηρείται κυρίως σε φλεγμονές του γεννητικού συστήματος και σε κίρσοκήλη.

γ. Μορφολογία. Η εκτίμηση της μορφολογίας γίνεται με τη χρώση Παπανικολάου (χρώση PAP), κατά την οποία τα σπερματοζωάρια βάφονται σε αποχρώσεις του μπλε και ξεχωρίζουν σαφέστατα τα διάφορα τμήματά τους (κεφαλή, ακρόσωμα, αυχένα, ουρά), αλλά και οι ανωμαλίες τους. Κατά τη διάρκεια αυτών των μετρήσεων, καταγράφεται το ποσοστό των φυσιολογικών σπερματοζωαρίων, το ποσοστό των ανώμαλων σπερματοζωαρίων ταξινομημένων κατά κεφαλή, αυχένα, ουρά και κυτταροπλασματικό υπόλειμμα και, τέλος, ο δείκτης τερατοζωοσπερμίας. Ο δείκτης τερατοσπερμίας (TZI) αποτελεί τον μέσο αριθμό ανωμαλιών ανά ανώμαλο σπερματοζωάριο. Μέχρι προσφάτως, το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων κατά την αξιολόγηση του σπερμοδιαγράμματος έπρεπε να είναι >50-60%. Σήμερα, με τα νέα αυστηρότερα κριτήρια ελέγχου του σπέρματος (κατά Kruger) θεωρούνται αποδεκτές τιμές >4%.

δ. Προσδιορισμός και διαφοροποίηση στρογγυλών κυττάρων - πυοσφαιρίων.

Η ανεύρεση στρογγυλών κυττάρων στο νωπό παρασκεύασμα απαιτεί ιδιαίτερη πείρα και προσοχή λόγω της ομοιότητας των πυοσφαιρίων με τις άωρες μορφές των σπερματοζωαρίων. Ο προσδιορισμός των πυοσφαιρίων γίνεται με τη χρώση υπεροξειδάση – ορθοτολοθιδίνης, όπου τα πυοσφαίρια (υπεροξειδάση θετικά) βάφονται κίτρινα, ενώ τα υπόλοιπα στρογγυλά κύτταρα (υπεροξειδάση αρνητικά) βάφονται ροζ. Ο WHO έχει ορίσει ως φυσιολογική τιμή αναφοράς τον αριθμό των πυοσφαιρίων $<1 \times 10^6/\text{ml}$, πιστεύεται όμως ότι και μικρότερος αριθμός πυοσφαιρίων μπορεί να προκαλέσει βλάβη (αύξηση των ελευθέρων ριζών, ασθenoσπερμία).

B. Αντισπερματικά αντισώματα

Τα αντισπερματικά αντισώματα, που ανήκουν στις κατηγορίες των IgG και IgA, μπορούν να προκαλέσουν συγκόλληση, ακινητοποίηση και καταστροφή των σπερματοζωαρίων (νεκροσπερμία) και πιθανόν επιδρούν αρνητικά στα πρώτα στάδια της ανάπτυξης του εμβρύου. Αίτια δημιουργίας τους είναι η απόφραξη της αποχετευτικής οδού του σπέρματος, η απολίνωση-διατομή των σπερματικών πόρων, η φλεγμονή των επικουρικών γεννητικών αδένων, οι κακώσεις των όρχεων και η κρυψορχία. Η ανίχνευσή τους γίνεται είτε με τη δοκιμασία IBT (immunobead test), που χρησιμοποιεί σφαιρίδια από πολυακρυλαμίδιο επικαλυμμένα με αντισώματα (rabbit anti-human), είτε με τη δοκιμασία MAR (Mixed Antiglobulin Reaction), που χρησιμοποιεί σφαιρίδια ή ερυθρά αιμοσφαίρια επικαλυμμένα με ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη. Για να είναι κλινικά σημαντικό το αποτέλεσμα, το ποσοστό των σπερματοζωαρίων που αντιδρούν θα πρέπει να είναι περισσότερο από 50%.

7.3.2. Προαιρετικές εξετάσεις σπέρματος

α. Καλλιέργεια σπέρματος. Σκοπός της είναι να αποκλείσει μολύνσεις από αερόβιους και αναερόβιους μικροοργανισμούς, καθώς και ουρεοπλάσματα, μυκοπλάσματα και χλαμύδια.

β. Βιοχημικές εξετάσεις σπέρματος. Με αυτές μπορούμε να αξιολογήσουμε τη σωστή λειτουργία των ανδρικών επικουρικών αδένων. Η μέτρηση των επιπέδων του ψευδαργύρου (Zn) αποτελεί τον κύριο βιοχημικό δείκτη της σωστής λειτουργίας του προστάτη. Επαναλαμβανόμενες χαμηλές τιμές ψευδαργύρου σημαίνουν δυσλειτουργία του προστάτη αδένου (φλεγμονή) ή απόφραξη των εκφορητικών οδών του. Άλλοι βιοχημικοί δείκτες της σωστής λειτουργίας του προστάτη αποτελούν η όξινη φωσφατάση, το κιτρικό οξύ και η τρανσπεπτιδάση του γ-γλουταμυλίου. Η μέτρηση της συγκέντρωσης της φρουκτόζης και των προσταγλαδινών στο σπερματικό υγρό μάς δίνουν πληροφορίες για τη λειτουργία των σπερματοδόχων κύστεων. Χαμηλά επίπεδα φρουκτόζης στο σπέρμα σημαίνουν δυσλειτουργία ή απόφραξη-αγενεσία των σπερματοδόχων κύστεων. Ο πιο ειδικός δείκτης αξιολόγησης της λειτουργίας της επιδιδυμίδας είναι η ουδέτερη α-γλυκοσιδάση, ενώ άλλους δείκτες αποτελούν η L-καρνιτίνη και η γλυκεροφωσφοχολίνη. Μετρήσεις που αποδεικνύουν χαμηλά επίπεδα ουδέτερης α-γλυκοσιδάσης στο σπέρμα σημαίνουν δυσλειτουργία-απόφραξη των επιδιδυμίδων ή απόφραξη-αγενεσία των

σπερματικών πόρων που μεταφέρουν το σπέρμα από τις επιδιδυμίδες προς την ουρήθρα. Η δυσλειτουργία των παραπάνω επικουρικών σεξουαλικών αδένων μπορεί να οφείλεται όχι μόνο σε φλεγμονές και απόφραξη, αλλά και σε άλλους παράγοντες, όπως για παράδειγμα η έλλειψη ανδρογόνων (και κυρίως τεστοστερόνης), ο υποσιτισμός, η αβιταμίνωση κ.ά.

γ. Δοκιμασία υποοσμωτικής διόγκωσης των σπερματοζωαρίων (Hypo-Osmotic Swelling Test ή test-HOS). Κατά τη δοκιμασία αυτή, τα ζωντανά σπερματοζωάρια, παρουσία ενός υποοσμωτικού διαλύματος, απορροφούν ύδωρ και διογκώνονται, ενώ τα νεκρά δεν απορροφούν και δεν εμφανίζουν διόγκωση. Με την απλή αυτή δοκιμασία ελέγχεται το ποσοστό των ζωντανών σπερματοζωαρίων και η ανατομική και λειτουργική ακεραιότητα της μεμβράνης τους.

δ. Μέτρηση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων με τη χρήση αυτόματου αναλυτή (Computer Assisted Sperm Analysis, GASA). Η μέτρηση της κινητικότητας του σπέρματος μπορεί, επίσης, να γίνει και με τη χρήση αυτόματων αναλυτών, δίνοντας περισσότερες πληροφορίες για τα χαρακτηριστικά της που δεν είναι εύκολο να αξιολογηθούν με το οπτικό μικροσκόπιο. Με τη βοήθεια του υπολογιστή είναι δυνατόν να υπολογιστεί η μέση ταχύτητα της ελικοειδούς πορείας (curvilinear velocity – VCL), η μέση ταχύτητα της ευθύγραμμης κίνησης (straight line velocity - VSL), η μέση προωθητική ταχύτητα (average path velocity – VAP) και το εύρος της προς τα πλάγια κίνησης των κεφαλών (amplitude of lateral head displacement – ALH) των σπερματοζωαρίων. Παρ' όλα αυτά, ο αναλυτής υστερεί έναντι του μικροσκοπίου στη μέτρηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων, καθώς δεν μπορεί να διαχωρίσει τα κατεστραμμένα στοιχεία του εκσπερματίματος από τα σπερματοζωάρια.

ε. Δοκιμασία διεισδυτικότητας του σπερματοζωαρίου σε ετερόλογο ωάριο (zona-free hamster oocuty test). Αποτελεί μια δοκιμασία για την αξιολόγηση της ικανότητας των σπερματοζωαρίων να διεισδύσουν στα ωάρια in vitro. Ωάρια από χάμστερ, από τα οποία με χρήση υαλουρονιδάσης και τρυψίνης αφαιρούνται τα κύτταρα του ωοφόρου δίσκου και της διαφανούς ζώνης, επωάζονται μαζί με σπερματοζωάρια. Στη συνέχεια, γίνεται αξιολόγηση του ποσοστού των σπερματοζωαρίων που έχουν καταφέρει να διεισδύσουν στην κυτταρική μεμβράνη των ωαρίων. Επειδή αποτελεί μια δοκιμασία in vitro, στην οποία πολλοί φυσιολογικοί μηχανισμοί παρακάμπτονται, η εξέταση έχει μεγάλο ποσοστό ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.³⁹⁰

στ. Υπολογισμός δεικτών πολλαπλών ανωμαλιών των σπερματοζωαρίων.

Επειδή οι αλλοιώσεις της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων μπορεί να είναι διάφορες και πολλαπλές, συμπεριλαμβανομένων όχι μόνο μιας δυσμορφίας της κεφαλής, αλλά και του αυχένα ή της ουράς στο ίδιο σπερματοζωάριο, αναπτύχθηκαν καινούργιοι ειδικοί δείκτες που εκφράζουν όλες τις μορφολογικές ανωμαλίες των σπερματοζωαρίων, όπως ο δείκτης της τερατοζωοσπερμίας (teratozoospermia index TZI).^{391,392}

7.3.3. Ερευνητικές εξετάσεις σπέρματος

α. Προσδιορισμός των ελεύθερων ριζών στο σπερματικό υγρό. Οι ελεύθερες ρίζες σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι απαραίτητες για την ενεργοποίηση των σπερματοζωαρίων. Όταν όμως η συγκέντρωσή τους είναι πιο υψηλή (>10%) προκαλούν οξειδωτική βλάβη στα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα της κυτταρικής μεμβράνης. Αυτό μπορεί να έχει ως συνέπεια ασθενοσπερμία, οξειδωτικές βλάβες του DNA των σπερματοζωαρίων και διαταραχές στη διείσδυση και σύντηξη του γενετικού υλικού του σπερματοζωαρίου με αυτό του ωαρίου. Η εκτίμηση του οξειδωτικού στρες των σπερματοζωαρίων γίνεται με χημειοφωταυγεία. Η ένταση του σήματος συσχετίζεται αντίστροφα με τη γονιμοποιητική ικανότητα των σπερματοζωαρίων. Αυξημένα επίπεδα οξείδωσης έχουν βρεθεί στο 25-40% υπογόνιμων ανδρών.

β. Δοκιμασίες σύνδεσης των σπερματοζωαρίων με τη διαφανή ζώνη του ομόλογου ωαρίου (Human zona pellucida binding tests). Μια επιτυχημένη αλληλεπίδραση μεταξύ των σπερματοζωαρίων και της διαφανούς ζώνης των ωαρίων είναι κρίσιμη για τη γονιμοποίηση. Αυτό το βιολογικό βήμα αντιστακλά πολλαπλές λειτουργίες σπερματοζωαρίων, συμπεριλαμβανομένων της γονιμοποιητικής ικανότητας, της αναγνώρισης και της δέσμευσης σε συγκεκριμένους υποδοχείς της διαφανούς ζώνης και της επαγωγής της αντίδρασης φυσιολογικού ακροσώματος. Η αναγνώριση των αλληλουχιών υδατανθράκων με συμπληρωματικούς υποδοχείς έχει αποδοθεί στην αλληλεπίδραση γαμετών σε διαφορετικά είδη ζώων. Έχει προταθεί ότι στον άνθρωπο, το σπερματοζωάριο που δεσμεύεται με τη διαφανή ζώνη απαιτεί επιλεκτική αλληλεπίδραση (selectin-like interaction). Η αλληλεπίδραση γίνεται μεταξύ μιας γλυκοπρωτεΐνης της διαφανούς ζώνης του ωαρίου, την ZP3 ή ZPC, και μιας γαλακτοζυλτρανσφεράσης της μεμβράνης των σπερματοζωαρίων. Κατά τη δοκιμασία, χρησιμοποιούνται ανθρώπινα ωάρια που πάρθηκαν, αλλά δεν χρησιμοποιήθηκαν για εξωσωματική γονιμοποίηση, στα οποία μαρκάρεται η διαφανής ζώνη τους με τη χρήση μικροσφαιριδίων Narishige. Έπειτα,

συνεπιάζονται με τα σπερματοζώαρια και, τέλος, υπολογίζεται ο αριθμός των σπερματοζωαρίων που δεσμεύθηκαν από τις διάφανες ζώνες. Αυτή η δοκιμασία μπορεί να επιτρέψει την καλύτερη κατανόηση της αλληλεπίδρασης των ανθρωπίνων γαμετών σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις, δίνοντας ιδιαίτερη προγνωστική αξία στις μεθόδους υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.³⁹³

γ. Αντίδραση του ακροσώματος. Το ακρόσωμα καλύπτει τα πρόσθια δύο τρίτα της κεφαλής του σπερματοζωαρίου και αποτελείται από δύο τμήματα: το πρόσθιο και το οπίσθιο τμήμα του. Το πρόσθιο τμήμα του ακροσώματος περιέχει πρωτεολυτικά ένζυμα, τα οποία κατά την ακροσωμική αντίδραση απελευθερώνονται, ενώ το οπίσθιο τμήμα δεν περιέχει ένζυμα, αλλά διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ένωση του σπερματοζωαρίου με το ωάριο. Η αντίδραση ακροσώματος αρχίζει με την επαφή του σπερματοζωαρίου με το ακτινωτό στέφανο του ωαρίου και συνεχίζεται κατά τη διέλευση της διαφανούς ζώνης. Όταν τα ενεργοποιημένα σπερματοζώαρια έρθουν σε επαφή με το ακτινωτό στέφανο, προκαλούνται δομικές και μοριακές αλλαγές, με αποτέλεσμα τη δημιουργία διάκενων στο ακρόσωμα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την εξωκυττάρωση των ακροσωμικών ενζύμων, όπως η υαλουρονιδάση, που προκαλούν τη διάσπαση των κοκκιωδών κυττάρων του ακτινωτού στεφάνου, και σε συνδυασμό με τα ένζυμα του βλεννογόνου του ωαγωγού και την κίνηση ουράς του σπερματοζωαρίου επιτυγχάνεται η διέλευση ακτινωτού στεφάνου του ωαρίου από το σπερματοζώαριο. Η αντίδραση του ακροσώματος, υπό φυσιολογικές συνθήκες, προκαλείται από ουσίες που προέρχονται από το θηλυκό γεννητικό σωλήνα, που πυροδοτούν την είσοδο ιόντων ασβεστίου στο ακρόσωμα, αυξάνοντας τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης του ακροσώματος. In vitro ουσίες που προέρχονται από το θηλυκό γεννητικό σωλήνα και μπορούν να προκαλούν αντίδραση ακροσώματος είναι οι προσταγλαδίνες, η αλβουμίνη, οι γλυκοζαμινογλυκάνες, οι βιογενείς αμίνες, τα στεροειδή κ.ά. Για την αξιολόγηση της ακροσωμικής αντίδρασης στο εργαστήριο, η πρόκληση γίνεται με τη χρήση προγεστερόνης ή ωοθυλακικού υγρού. Έχει φανεί πως στους άνδρες με ιδιοπαθή υπογονιμότητα το ποσοστό επίτευξης ακροσωμικής αντίδρασης ανέρχεται στο 25%.³⁹⁴⁻³⁹⁷

δ. Δοκιμασία τραχηλικής βλέννας (post coital test Simms-Huner test). Κατά τη διάρκεια του εμμηνορυσιακού κύκλου, η τραχηλική βλέννη, που παράγεται στον τράχηλο της γυναικείας μήτρας, συνεχώς μεταβάλλεται. Κατά τις ημέρες της ωορρηξίας, όταν και έχουμε αύξηση της παραγωγής οιστρογόνων, υπάρχει μια μεγαλύτερη έκκριση τραχηλικής βλέννης με μια πιο λεπτόρρευστη σύσταση, που επιτρέπει στα σπερματοζώαρια να τη

διαπεράσουν, να προσκολληθούν στο περιβάλλον της και να διεισδύσουν προς τις σάλπιγγες για να συναντήσουν το ωάριο. Επίσης, η σύσταση της βλέννης, κατά την περίοδο αυτή, προστατεύει τα σπερματοζωάρια από την οξύτητα των κολπικών υγρών και από τον προστατευτικό μηχανισμό της φαγοκυττάρωσης. Από τη μια, η τραχηλική βλέννα αποτελεί έναν μηχανισμό άμυνας του έσω γεννητικού συστήματος της γυναίκας, ενώ παράλληλα λειτουργεί και ως φίλτρο επιλογής. Το test, που πραγματοποιείται λίγες ώρες μετά την επαφή, ελέγχει αρχικά την ποσότητα, την ποιότητα της τραχηλικής βλέννης (εκτασιμότητα, pH, και τη φτεροποίησή της, δηλαδή μια χαρακτηριστική μορφή που παρουσιάζει στο μικροσκόπιο) και, στη συνέχεια, τη βιωσιμότητα των σπερματοζωαρίων μέσα σε αυτή.^{398,399}

7.3.4. Ορμονικός έλεγχος.

Ορμονικός έλεγχος σε υπογόνιμους άνδρες θα πρέπει να γίνεται σε άτομα με αζωοσπερμία ή σοβαρή ολιγοσπερμία και σε εκείνους που το ιστορικό και η κλινική εξέταση θέτουν την υποψία ενδοκρινολογίας, στυτικής δυσλειτουργίας ή χαμηλής libido. Στις περιπτώσεις αυτές είναι απαραίτητη η αξιολόγηση της λειτουργίας του άξονα υποθαλάμου - υπόφυσης - γονάδων για να αποκλειστούν παθοφυσιολογίες που αφορούν την παραγωγή σπερματοζωαρίων, όπως υπερπρολακτιναιμία, ανεπάρκεια γοναδοτροπίνων, συγγενής υπερπλασία επινεφριδίων. Ο συνήθης ορμονικός έλεγχος περιλαμβάνει τον προσδιορισμό της τεστοστερόνης (Testo), της ωχρινοτρόπου ορμόνης (LH), της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) και της προλακτίνης (PRL), ενώ σε κάποιες περιπτώσεις πρέπει να αξιολογηθεί ακόμα η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη (TSH), η αδρενοκορτικοτρόπος ορμόνη (ACTH), η αυξητική ορμόνη (GH), κ.ά.⁴⁰⁰

Στα γενικά συμπεράσματα περιλαμβάνονται τα εξής:

1. Αζωοσπερμία ή βαριά ολιγοσπερμία με μεγάλη αύξηση της FSH είναι ένδειξη σοβαρής βλάβης του σπερματικού επιθηλίου και παρατηρείται σε άνδρες με μεγάλη κίρσοκλήλη ή ιδιοπαθή ανεπάρκεια και απλασία του σπερματικού επιθηλίου (Sertoli-cell-only-syndrome).
2. Αζωοσπερμία ή βαριά ολιγοσπερμία με υψηλά επίπεδα FSH και LH και χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης αποτελούν ένδειξη πρωτοπαθούς ορχικής βλάβης ή αμφοτερόπλευρης κρυσορχίας ή ανορχίας. Ο προσδιορισμός του καρυότυπου είναι απαραίτητος σε αυτές τις περιπτώσεις.

3. Αζωοσπερμία ή βαριά ολιγοσπερμία με χαμηλά επίπεδα γοναδοτροπινών και τεστοστερόνης υποδηλώνουν υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό είτε από συγγενή αίτια (σύνδρομα Kallmann, Prader-Willi και Laurence-Moon-Biedl, υποφυσιακή ανεπάρκεια, υπερπρολακτιναιμία κ.ά.) ή από επίκτητα αίτια (όγκοι της υπόφυσης, τραύμα, χειρουργεία, αιμορραγία κ.ά.). Σε αυτές τις περιπτώσεις πρέπει να γίνει μέτρηση της προλακτίνης ορού, αλλά και των άλλων ορμονών της υπόφυσης (TSH, ACTH, αυξητική ορμόνη) για τον προσδιορισμό της αιτίας.
4. Αζωοσπερμία με φυσιολογικές τιμές γοναδοτροπινών και τεστοστερόνης συναντάται σε ασθενείς με απλασία των εκφορητικών οδών του σπέρματος, απόφραξη, διαταραχές της εκσπερμάτισης ή ιδιοπαθή ανεπάρκεια του σπερματικού επιθηλίου (germ cell arrest syndrome). Για την περαιτέρω διερεύνηση των περιπτώσεων αυτών είναι απαραίτητο να προχωρήσουμε σε έλεγχο για παλίνδρομη εκσπερμάτιση, βιοχημικό έλεγχο του σπέρματος, MRI πυέλου, σπερματοδοχοκυστεογραφία, βιοψία όρχεων, κ.ά.
5. Αζωοσπερμία ή βαριά ολιγοσπερμία με χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης ορού δηλώνουν υπογοναδισμό. Για τη διαφοροδιάγνωση μεταξύ πρωτοπαθούς (υπεργοναδοτροπικού) ή δευτεροπαθούς (υπογοναδοτροπικού) υπογοναδισμού, υποθαλαμικής ή υποφυσιακής προέλευσης, πρέπει να γίνει ο προσδιορισμός των LH, FSH. Εάν η μέτρηση προλακτίνης σε αυτούς τους άνδρες έχει υψηλά επίπεδα, τότε είναι απαραίτητη η μαγνητική τομογραφία του εγκεφάλου για την πιθανή ύπαρξη προλακτινόματος ή άλλου αδενώματος της υπόφυσης.
6. Ολιγοσπερμία με φυσιολογικές τιμές γοναδοτροπινών και τεστοστερόνης συναντάμε στο μεγαλύτερο ποσοστό των ολιγοσπερμικών ασθενών με ιδιοπαθή ολιγοσπερμία ή κισσοκήλη.
7. Ολιγοσπερμία με χαμηλές τιμές FSH, οριακά υψηλές τιμές LH και τεστοστερόνης συναντάμε συνήθως σε άνδρες με ανεπαρκή ανταπόκριση στα ανδρογόνα. Σε αυτούς συνυπάρχουν συχνά υψηλά επίπεδα οιστραδιόλης (E₂) και γυναικομαστία, ενώ τα έξω γεννητικά όργανα μπορεί να είναι φυσιολογικά ανεπτυγμένα ή να υπάρχει ψευδοερμαφροδιτισμός ή υποσπαδία.

7.3.5. Χρωμοσωμικός έλεγχος

Περίπου το 15% της ανδρικής υπογονιμότητας οφείλεται σε γενετικούς παράγοντες. Στη διερεύνηση της υπογονιμότητας είναι απαραίτητο να ελέγχονται και τα γενετικά αίτια σε περιπτώσεις που υπάρχει κλινική υποψία για σύνδρομα που προκαλούν στειρότητα (σωματότυπος, μέγεθος όρχεων κ.ά.), σε άτομα με σοβαρή ολιγοσπερμία ($<5 \times 10^6/\text{ml}$) ή μη αποφρακτική αζωοσπερμία, που είναι υποψήφια για εξωσωματική γονιμοποίηση. Ο χρωμοσωμικός έλεγχος των ανδρών αυτών μπορεί να συμπεριλαμβάνει:

1. **καρυότυπο** Με τον έλεγχο του καρυότυπου γίνεται η αξιολόγηση του αριθμού των χρωμοσωμάτων και τυχόν μορφολογικών ή κατασκευαστικών ανωμαλιών τους. Σε περιπτώσεις μη αποφρακτικής αζωοσπερμίας, το ποσοστό των ανώμαλων χρωμοσωμάτων μπορεί να φτάσει το 20,3%, ενώ σε περιπτώσεις ολιγοσπερμίας σε ποσοστό 5,1%.
2. **έλεγχο μικροελλείψεων του χρωμοσώματος Y** Η ανίχνευση των μικροελλείψεων γίνεται με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR). Οι μικροελλείψεις του χρωμοσώματος Y αποτελούν μια γενετική διαταραχή, που οφείλεται στην έλλειψη ενός ή περισσοτέρων γονιδίων στο χρωμόσωμα Y. Οι άνδρες αυτοί δεν παρουσιάζουν φαινομενικά κανένα σύμπτωμα εκτός από υπογονιμότητα, που μπορεί να διαγιγνώσκεται με αζωοσπερμία ή ολιγοσπερμία. Πρώτοι οι Tierolo and Zuffardi επιβεβαίωσαν την ύπαρξη μιας περιοχής στο ευχρωματικό τμήμα του μακριού βραχίονα του ανθρώπινου χρωμοσώματος Y (Yq11), που ονομάστηκε Αζωοσπερμικός Παράγοντας (Azoospermia Factor - AZF), η οποία είναι απαραίτητη για τη διενέργεια της σπερματογένεσης, καθώς δεν βρέθηκαν καθόλου ή βρέθηκαν μόνο ανώριμα σπερματοζώαρια στο σπερματικό υγρό των ανδρών που μελέτησαν.⁴⁰¹ Αργότερα, σε μελέτες που ακολούθησαν, επιβεβαιώθηκε η παρουσία του AZF στο Yq11 του χρωμοσώματος Y.⁴⁰²⁻⁴⁰⁴ Οι μικροελλείψεις εντοπίστηκαν σε 3 διαφορετικές περιοχές στο μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος Y, γνωστές ως περιοχές AZFa, AZFb, και AZFc. Σε καθεμία από αυτές τις περιοχές υπάρχουν πολλά γονίδια, τα οποία είναι υποψήφια για τη συμμετοχή τους στην ανδρική υπογονιμότητα.⁴⁰⁵ Στην περιοχή AZF έχουν εντοπισθεί τουλάχιστον 14 οικογένειες γονιδίων (2 στην AZFa, 7 στην AZFb, 4 στην AZFc και 1 στην

AZFbc), οι οποίες κωδικοποιούν διάφορες πρωτεΐνες.⁴⁰⁶ Οι άνδρες με έλλειψη της AZFa παρουσιάζουν αζωοσπερμία και ιστολογική εικόνα συνδρόμου Sertoli Cells Only.⁴⁰⁷ Τα περιστατικά με πλήρη έλλειψη της AZFb παρουσιάζονται με αζωοσπερμία και διακοπή σπερματογένεσης.⁴⁰⁸ Μερική έλλειψη της περιοχής AZFc (αποτελεί την πιο συχνή έλλειψη – 80%) μπορεί να εκδηλωθεί με ολιγοσπερμία ή πλήρη αζωοσπερμία. Ο ρόλος της διερεύνησης αυτών των ελλείψεων στους άνδρες με αζωοσπερμία ή σοβαρή ολιγοσπερμία είναι πολύ σημαντικός γιατί μπορεί να καθορίσει την μετέπειτα θεραπευτική αντιμετώπιση της ανδρικής υπογονιμότητας. Σε άνδρες με πλήρη έλλειψη της περιοχής AZFa και AZFb δεν μπορούν να ανακτηθούν σπερματοζώαρια, σε αντίθεση με τους άνδρες με μικροελλείψεις AZFc, που σε ποσοστό περίπου 50% μπορούν να βρεθούν σπερματοζώαρια στο υλικό της εκσπερμάτισης ή στον ορχικό ιστό.⁴⁰⁷ Όλες οι περιπτώσεις ελλείψεων των περιοχών AZF μπορούν να μεταβιβαστούν στους δικούς τους γιους, οι οποίοι θα εμφανίσουν φαινότυπους όχι απαραίτητα ίδιους με αυτούς των πατέρων τους.

3. **έλεγχος των ανευπλοειδιών στο σπέρμα με την τεχνική της φθορίζουσας insitu υβριδοποίησης (Fluorescent in situ hybridization- FISH)** Πολύ συχνά, κάποια σπερματοζώαρια στο σπέρμα μπορεί να φέρουν αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες, δηλαδή να είναι περισσότερα ή λιγότερα (ανευπλοειδία). Τα ανευπλοειδή σπερματοζώαρια μπορεί να επηρεάσουν την πιθανότητα κύησης ή να αυξήσουν το ποσοστό αποβολής πρώτου τριμήνου. Σε γόνιμους άνδρες, το ποσοστό ανευπλοειδίας ανέρχεται στο 2-4% των σπερματοζωαρίων, ενώ σε σοβαρές περιπτώσεις υπογονιμότητας το ποσοστό αυτό μπορεί να ξεπεράσει το 27% του συνόλου των σπερματοζωαρίων. Για τη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται «ανιχνευτές», που αποτελούν μικρά κομμάτια DNA μαρκαρισμένα με φθορίζοντα σφαιρίδια, τα οποία αναγνωρίζουν και συνδέονται με το χρωμόσωμα στο οποίο αντιστοιχούν. Η διάγνωση ανευπλοειδιών στο σπέρμα μπορεί να προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες στη διαμόρφωση της εκτίμησης της υπογονιμότητας αγνώστου αιτιολογίας, σε περιπτώσεις καθ' έξιν αποβολών ή πολλαπλών αποτυχημένων προσπαθειών εξωσωματικής γονιμοποίησης.⁴⁰⁹

4. **δοκιμασίες εκτίμησης ακεραιότητας του DNA (κατακερματισμός του DNA - DNA fragmentation)** Γνωρίζοντας πως το DNA του σπερματοζωαρίου συνεισφέρει κατά το ήμισυ στο γενετικό υλικό του απογόνου, το παθολογικό DNA μπορεί να αλλοιώσει την αναπαραγωγική διαδικασία. Ο κατακερματισμός του DNA του σπερματοζωαρίου, δηλαδή οι πολυάριθμες θραύσεις της έλικας του DNA, είναι λογικό ότι μπορεί να έχει επίπτωση στη γονιμοποίηση, την κυοφορία και τη γέννηση ενός υγιούς απογόνου. Οι μέθοδοι προσδιορισμού του κατακερματισμού του DNA των σπερματοζωαρίων διακρίνονται σε άμεσες και έμμεσες. Οι άμεσες ανιχνεύουν τις υπάρχουσες θραύσεις στο DNA με τη μέθοδο TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl 5' Transferase-mediated Nick End Labeling), COMET (Single Cell Gel Electrophoresis) και τη μέθοδο NT (In-Situ Nick Translation). Οι έμμεσες μέθοδοι προσδιορίζουν ποσοτικά την ευπάθεια του DNA των σπερματοζωαρίων για θραύση υπό την επίδραση εξωγενών παραγόντων (αλκαλικό ή όξινο pH), με την τεχνική της κυτταρομετρίας ροής. Το ποσοστό του κατακερματισμένου DNA των σπερματοζωαρίων (DFI) παρέχει την ικανότητα προγνωστικής αξίας στη θεραπεία υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Τιμές DFI μικρότερες του 15% έχουν μια πρόγνωση για πολύ καλή γονιμοποιητική ικανότητα του σπέρματος. Αντιθέτως, DFI μεγαλύτερο του 30% παραπέμπει σε μέτρια έως πολύ κακή γονιμοποιητική ικανότητα.⁴¹⁰⁻⁴¹²
5. **έλεγχος των μεταλλάξεων στο γονίδιο της κυστικής ίνωσης (CFTR)** Το γονίδιο CFTR είναι υπεύθυνο για την παραγωγή μιας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης, που λειτουργεί ως αντλία μεταφοράς ιόντων χλωρίου και εκφράζεται στα επιθηλιακά κύτταρα εξωκρινών ιστών (σπερματικός πόρος, πνεύμονες, πάγκρεας, ιδρωτοποιό αδένες κ.ά.). Το 95% των ανδρών με κυστική ίνωση είναι υπογόνιμοι εξαιτίας της συγγενούς αμφοτερόπλευρης απόφραξης του σπερματικού πόρου (CBAVD), παρουσιάζοντας αποφρακτική αζωοσπερμία. Όμως, συγγενής αμφοτερόπλευρη απόφραξη του σπερματικού πόρου (CBAVD) μπορεί να διαγνωστεί και στο 2%-6% των κατά τα άλλα φυσιολογικών υπογόνιμων ανδρών, εκ των οποίων το 60% παρουσιάζουν ήπιες μεταλλάξεις στο γονίδιο CFTR. Ο έλεγχος των μεταλλάξεων του γονιδίου CFTR είναι απαραίτητος σε περιπτώσεις ανδρών με αποφρακτική αζωοσπερμία, οι οποίοι επιθυμούν να αποκτήσουν τα δικά τους βιολογικά παιδιά με εξωσωματική γονιμοποίηση, μετά τη συλλογή σπερματοζωαρίων με βιοψία όρχεων.⁴¹³

7.3.6. Απεικονιστικός έλεγχος

Οι απεικονιστικές εξετάσεις που μπορεί να φανούν χρήσιμες στη διερεύνηση των αιτιών της ανδρικής υπογονιμότητας είναι:

1. **Υπερηχογράφημα του οσχέου** Αποτελεί την κύρια απεικονιστική μέθοδο διερεύνησης της ανδρικής υπογονιμότητας, παρέχοντας σημαντικές πληροφορίες για τη θέση, το μέγεθος και την ηχογένεια των όρχεων και των επιδιδυμίδων, καθώς και την παρουσία υδροκήλης, κύστεων ή μορφωμάτων. Σε συνδυασμό με Doppler έλεγχο μπορούμε να διερευνήσουμε την ύπαρξη κίρσοκλήλης ή ισχαιμίας του όρχεως.
2. **Διορθικό υπερηχογράφημα (Transrectal ultrasound, TRUS)** Μας επιτρέπει την αξιολόγηση του προστάτη (ενδοπροστατικές κύστεις του πόρου του Muller ή του Wolf), των σπερματοδόχων κύστεων, καθώς και την ύπαρξη ή όχι των εκσπερματιστικών πόρων.
3. **Σπερματοδοχοκυστεογραφία** Αποτελεί μια επεμβατική μέθοδο αξιολόγησης της βατότητας των σπερματικών πόρων και των σπερματοδόχων κύστεων σε περιπτώσεις υποψίας αποφρακτικής αζωοσπερμίας. Η εξέταση που γίνεται με την παρακέντηση των σπερματικών πόρων μετά τη χειρουργική αποκάλυψή τους και την έγχυση σκιαγραφικής ουσίας θεωρείται πολύ επεμβατική γιατί μπορεί να προκαλέσει βλάβη στον σπερματικό πόρο και, για το λόγο αυτό, τείνει να εγκαταλειφθεί.
4. **Η μαγνητική και αξονική τομογραφία** Έχουν θέση στη διερεύνηση της πυέλου για την αξιολόγηση-ύπαρξη των σπερματικών πόρων, σπερματοδόχων κύστεων, την ανεύρεση έκτοπου όρχι, αλλά και για τη διάγνωση νεοπλασμάτων που έχουν σχέση με τη λειτουργία των όρχεων, όπως η υπόφυση κ.ά.

7.3.7. Βιοψία όρχεων

Η διαγνωστική βιοψία του όρχεως είναι απαραίτητη σε περιπτώσεις αζωοσπερμίας σε συνδυασμό με φυσιολογική FSH πλάσματος, ώστε να γίνει διαφορική διάγνωση μεταξύ αποφρακτικής αζωοσπερμίας και βλάβης του σπερματικού επιθηλίου. Σε περίπτωση ανεύρεσης σπερματικών κυττάρων όλων των σειρών ωρίμανσης εντός των σπερματικών σωληναρίων επιβεβαιώνεται η αποφρακτική αζωοσπερμία. Αντιθέτως, περιπτώσεις που

δεν μπορούν να βρεθούν καθόλου σπερματοζώαρια ή ανευρίσκονται μόνο ανώριμα σπερματικά κύτταρα υποδηλώνουν μια μη αποφρακτική αζωοσπερμία, χωρίς βέβαια να μπορούμε με ακρίβεια να διαγνώσουμε την αιτία της βλάβης, εκτός σπανίων καταστάσεων όπου η ιστολογική εικόνα είναι πολύ χαρακτηριστική (Sertoli cell-only syndrome). Η λήψη του ορχικού ιστοτεμαχίου πρέπει να γίνει με προσοχή, χωρίς να συνθλίψουμε τα σπερματικά σωληνάρια με λαβίδες. Το τμήμα των σπερματικών σωληναρίων πρέπει να συντηρείται σε υγρό (Bouin) μέχρι τον τεμαχισμό και τη μικροσκοπική αξιολόγησή του. Είναι απαραίτητο, σε όλες τις βιοψίες, ένα μέρος του ορχικού ιστού να αποστέλλεται σε φορμόλη για την ιστολογική αξιολόγηση και αποκλεισμό καρκινώματος *in situ*. Η διαγνωστική βιοψία όρχεως είναι σημαντικό να συνοδεύεται πάντα στους υπογόνιμους άντρες με θεραπευτική βιοψία, δηλαδή κρυοσυντήρηση του σπερματικού ιστού στον οποίο αναβρέθηκαν σπερματοζώαρια ή σπερματίδες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για υποβοηθούμενη αναπαραγωγή.

8. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΗΣ ΑΝΔΡΙΚΗΣ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ

8.1. Χειρουργική

Η χειρουργική αντιμετώπιση μπορεί να αποτελέσει τη θεραπεία εκλογής σε πολλά αίτια ανδρικής υπογονιμότητας.

8.1.1. Χειρουργική αντιμετώπιση αποφρακτικής αζωοσπερμίας

Μπορούν να γίνουν διάφορες επεμβάσεις, ανάλογα με το σημείο της απόφραξης, για να αποκατασταθεί η απόφραξη που εμποδίζει τη διέλευση του σπέρματος. Αν η απόφραξη αναγνωρίζεται στο επίπεδο των εκσπερματιστικών πόρων του προστάτη που μπορεί να οφείλεται σε ύπαρξη κύστης του Muller, σε στένωση από λοίμωξη ή λιθίαση, το χειρουργείο εκλογής είναι ο καθετηριασμός των εκσπερματιστικών πόρων ή η διουρηθρική εκτομή του σπερματικού λοφιδίου. Η διάνοιξη του εκσπερματιστικού πόρου είναι επιτυχής στο 70% των περιπτώσεων, ενώ η πιθανότητα επίτευξης εγκυμοσύνης κυμαίνεται στο 20%. Σε περιπτώσεις απόφραξης του σπερματικού πόρου ή της επιδιδυμίδας μπορούμε να παρακάμψουμε την απόφραξη, συνενώνοντας υγιή, βατά τμήματα της σπερματικής οδού με μικροχειρουργικές επεμβάσεις. Στην απόφραξη του σπερματικού πόρου μπορεί να γίνει μικροχειρουργική τελικο-τελική αναστόμωση του σπερματικού πόρου (Vasovasostomy). Η επέμβαση μπορεί να έχει επιτυχία στην αποκατάσταση της βατότητας σε ένα ποσοστό της τάξης του 70-90%, ενώ η επίτευξη κύησης ανέρχεται σε ποσοστό 46-82%. Τα ποσοστά αυτά εξαρτώνται από το χρόνο που έχει παρέλθει από την απόφραξη, το σημείο της απόφραξης και τη χειρουργική τεχνική, που μπορεί να είναι αναστόμωση σε πολλά στρώματα (Multilayer Vasovasostomy) ή σε ένα στρώμα (Modified Single-Layer Vasovasostomy). Σε περιπτώσεις απόφραξης στο επίπεδο της επιδιδυμίδας γίνεται παράκαμψη του αποφραγμένου σημείου της επιδιδυμίδας, με αναστόμωση του σπερματικού πόρου με την κεφαλή της επιδιδυμίδας. Η μικροχειρουργική αναστόμωση μεταξύ σπερματικού πόρου και επιδιδυμίδας μπορεί να γίνει τελικο-τελική, τελικο-πλάγια ή πλαγιο-πλάγια και μπορεί να έχει κατά μέσο όρο αποκατάσταση της βατότητας 67-85% και επίτευξη εγκυμοσύνης 27-49%. Σε περιπτώσεις αποφρακτικής αζωοσπερμίας, όπου υπάρχει αδυναμία επίτευξης των τεχνικών αποκατάστασης των εκσπερματιστικών οδών ή αποτυχία αυτών, πρέπει να λαμβάνεται

υπόψη η επιλογή της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής με τη χρήση σπερματοζωαρίων, που μπορούν να απομονωθούν με διάφορες τεχνικές (MicroTESE, TESE, TESA, PESA, MESA) από την επιδιδυμίδα ή τον όρχι.⁴¹⁴

8.1.2. Χειρουργική αντιμετώπιση κισσοκήλης

Η κισσοκήλη, δηλαδή η διάταση των έσω και έξω σπερματικών φλεβών, αποτελεί μια πολύ συχνή αιτία υπογονιμότητας. Η αντιμετώπιση της κισσοκήλης είναι χειρουργική και αποσκοπεί στην απολίνωση των φλεβών που είναι διατεταμένες λόγω της κακής λειτουργίας των αντιπαλινδρομικών βαλβίδων. Πρέπει να σημειωθεί ότι η ύπαρξη κισσοκήλης δεν συσχετίζεται απαραίτητα με υπογονιμότητα. Ένδειξη για χειρουργική αποκατάσταση της κισσοκήλης είναι η αδυναμία επίτευξης εγκυμοσύνης σε ζευγάρια όπου ο άνδρας εμφανίζει κισσοκήλη με μη φυσιολογικό σπερμοδιάγραμμα. Στις περιπτώσεις αυτές η απολίνωση των σπερματικών φλεβών μπορεί να βελτιώσει σημαντικά τις παραμέτρους του σπερμοδιαγράμματος στο 60-80% των ανδρών, αυξάνοντας έτσι τα ποσοστά κήσεων έως και 20-60%.

Έχουν περιγραφεί πολλές χειρουργικές τεχνικές για τη χειρουργική αντιμετώπιση της κισσοκήλης. Ανάλογα με την οδό προσπέλασης των σπερματικών φλεβών διακρίνονται σε:

Οπισθοπεριτοναϊκή προσπέλαση

- Μέθοδος Palomo: Πραγματοποιείται με ανοιχτή τομή στο ύψος της λαγόνιας ακρολοφίας, πράγμα που επιτρέπει την πιο εύκολη απολίνωση των σπερματικών φλεβών, που στο ύψος αυτό είναι πιο μεγάλες και μακριά από το σπερματικό πλέγμα. Μειονέκτημά της αποτελεί το υψηλό ποσοστό υποτροπής της κισσοκήλης (15%) γιατί δεν μπορούν να ελεγχθούν όλες οι άλλες φλέβες και η παράπλευρη κυκλοφορία που απορρέει από τον όρχι. Ο τραυματισμός των λεμφαγγείων και, ενδεχομένως, της ορχικής αρτηρίας αποτελούν επίσης ένα ακόμη μειονέκτημα.
- Λαπαροσκοπική απολίνωση των φλεβών: Με τη λαπαροσκοπική προσπέλαση, η απολίνωση των έσω σπερματικών φλεβών γίνεται στο ίδιο επίπεδο με την τεχνική Palomo, με τα ίδια ποσοστά υποτροπής, αλλά με χαμηλότερα ποσοστά τραυματισμού της ορχικής αρτηρίας και των λεμφαγγείων από αυτήν.

Βουβωνική προσπέλαση

- Μέθοδος Ivanissevitch: Πραγματοποιείται με τομή στο μέσο του βουβωνικού καναλιού, γίνεται παρασκευή του σπερματικού τόνου, αναγνώριση της σπερματικής αρτηρίας και απολίνωση των έσω σπερματικών φλεβών. Τα ποσοστά βελτίωσης των παραμέτρων του σπερμοδιαγράμματος είναι υψηλότερα σε σχέση με την υποβουβωνική προσπέλαση, ενώ οι υποτροπές και οι επιπλοκές είναι λιγότερες μετά την αποκατάσταση της κισσοκήλης με τη μέθοδο Ivanissevitch.

Υποβουβωνική προσπέλαση

- Η μικροχειρουργική απολίνωση των έσω και έξω σπερματικών φλεβών με υποβουβωνική προσέγγιση αποτελεί σήμερα την πιο ενδεδειγμένη, αποτελεσματική, ασφαλή και δημοφιλή μέθοδο αντιμετώπισης της κισσοκήλης. Με την υποβουβωνική προσπέλαση μάς δίνεται η δυνατότητα πρόσβασης στις έξω σπερματικές φλέβες, αλλά και στις φλέβες του οίακα, οι οποίες αποτελούν την πιο συχνή αιτία υποτροπής της κισσοκήλης. Επιπροσθέτως, με αυτήν την χειρουργική προσπέλαση μάς δίνεται η δυνατότητα να ελέγξουμε τον σπερματικό τόνο, την επιδιδυμίδα για πιθανή απόφραξη, αλλά και τον όρχι για τη λήψη διαγνωστικής ή θεραπευτικής βιοψίας. Η χρήση του χειρουργικού μικροσκοπίου μάς επιτρέπει να αναγνωρίσουμε εύκολα τις ανατομικές δομές της περιοχής και να τις παρασκευάσουμε χωρίς να προκαλέσουμε τραυματισμούς. Η μεγέθυνση του μικροσκοπίου μάς δίνει τη δυνατότητα να αναγνωρίσουμε και να ξεχωρίσουμε τις ορχικές αρτηρίες, που στην περιοχή αυτή έχουν πολύ μικρό μέγεθος (0,5-1,5 mm), έτσι ώστε να μην τις απολινώσουμε ή τραυματίσουμε, πράγμα που οδηγεί στην ατροφία του όρχεως. Επίσης, με το μικροσκόπιο είναι πολύ πιο εύκολη η αναγνώριση και συντήρηση των λεμφαγγείων, η κάκωση των οποίων οδηγεί σε εμφάνιση υδροκήλης.

Διαδερμική απόφραξη των έσω σπερματικών φλεβών (Σκληροθεραπεία)

Οι μέθοδοι διαδερμικής διόρθωσης κισσοκήλης περιλαμβάνουν την κλασική κατιούσα και την ανιούσα απόφραξη. Στην κατιούσα μέθοδο, η προσπέλαση γίνεται μέσω της μηριαίας φλέβας, κάτω κοίλης και αριστερής νεφρικής φλέβας, διαπιστώνεται η παλινδρόμηση με φλεβογραφία και γίνεται απόφραξη ή εμβολισμός με τη χρήση σκληρυντικών ουσιών, αφρών ή εμβόλων από ατσάλι ή σιλικόνη. Οι επιπλοκές που έχουν παρατηρηθεί είναι αντίδραση στο σκιαγραφικό, μετανάστευση των εμβόλων, λοίμωξη,

διάβρωση αγγείων και υδροκήλη. Στη διαδερμική ανιούσα απόφραξη, που αποτελεί μέθοδο εκλογής στη διόρθωση υποτροπών κισσοκήλης, η έγχυση της σκληρυντικής ουσίας γίνεται με αποκάλυψη των σπερματικών φλεβών με οσχεϊκή τομή. Θεωρείται λιγότερο επεμβατική από την κλασική κατιούσα απόφραξη και έχει λιγότερες επιπλοκές.

8.1.3. Χειρουργική αντιμετώπιση της κρυφορχίας

Η κρυφορχία αποτελεί τη συχνότερη συγγενή ανωμαλία των έξω γεννητικών οργάνων στα παιδιά και εμφανίζεται στα τελειόμηνα νεογνά, σε συχνότητα 1,8-8,4% και στα πρόωρα νεογνά, σε μεγαλύτερη συχνότητα (20-30%). Στα 2/3 των περιστατικών, η κρυφορχία είναι ετερόπλευρη, ενώ στο υπόλοιπο 1/3 αμφοτερόπλευρη. Η αντιμετώπιση της κρυφορχίας παραμένει αναμφίβολα η χειρουργική καθήλωση του όρχεως στο όσχεο (ορχεοπηξία). Στην αρχή, πιστεύοντας ότι ο όρχις μέχρι την ηλικία της σπερματογένεσης δεν επιτελούσε καμιά σημαντική λειτουργία, καθώς και ότι σε μικρή ηλικία η χειρουργική αποκατάσταση θα μπορούσε να είναι δύσκολη και τραυματική για τους ευαίσθητους ιστούς των παιδιών, η ορχεοπηξία γινόταν στην ηλικία των 10-15 ετών ώστε ο όρχις να είναι στο όσχεο για τη σπερματογένεση. Σήμερα, λαμβάνοντας υπόψη ότι η απόπτωση των σπερματογόνιων κυττάρων αρχίζει μεταξύ 3^{ου} και 6^{ου} μήνα της ζωής στους εν κρυφορχία όρχεις και ολοκληρώνεται μέσα στους πρώτους 12 μήνες, θεωρείται ότι η κατάλληλη ηλικία για ορχεοπηξία στην αμφοτερόπλευρη πάθηση είναι οι 3-4 μήνες, ενώ για ετερόπλευρη κρυφορχία η επέμβαση πρέπει να γίνει στους έξι μήνες.^{415,416}

Η χειρουργική αποκατάσταση της κρυφορχίας έχει ως στόχο την κινητοποίηση του όρχεως, του σπερματικού τόνου και των αγγείων του όρχεως χωρίς να υποστούν βλάβες, τον έλεγχο της βατότητας της ελυτροειδούς απόφυσης και την παρασκευή ενός σάκου κάτω από τον δαρτό, μέσα στο ημιόσχεο που θα καθηλωθεί ο όρχις.

Οι πιθανές επιπλοκές της ορχεοπηξίας είναι η ανάσπαση εκ νέου του όρχεως, ο τραυματισμός του σπερματικού τόνου και των αγγείων του όρχεως που μπορεί να προκαλέσουν ορχική ατροφία, η κάκωση του λαγονοβουβωνικού νεύρου, η συστροφή και τα αιματώματα και αποστήματα.

Εάν ο όρχις είναι σε θέση από όπου δεν μπορεί να κατεβεί και έχει ατροφήσει, αφαιρείται γιατί υπάρχει μεγαλύτερη προδιάθεση για κακοήθεια κατά 5-10 φορές απ' ότι στο γενικό πληθυσμό. Εάν όμως είναι λειτουργικός, τότε μετατοπίζεται κάτω από το δέρμα ώστε η παρακολούθησή του μετεγχειρητικά να γίνεται εύκολα.⁴¹⁷

Η ορχεοπηξία μπορεί να γίνει με πολλούς τρόπους.

- Κλασική ορχεοπηξία υπό βουβωνική προσπέλαση: στην ανοιχτή αυτή προσπέλαση ο όρχις καθηλώνεται είτε με ραφές μέσω του παρεγχύματος είτε με περιφερειακή προσκόλληση σε μια θήκη που δημιουργείται στο δαρτό και το δέρμα, που αποτελεί πλέον την πιο προσφιλή τεχνική (κατά Lattimer-Benson Iofti). Στην πρώτη τεχνική είναι πιο συχνές οι φλεγμονές στον όρχι σε σχέση με τη δεύτερη, που μόνο το 5% των περιστατικών θα κάνει φλεγμονή, αναπτύσσοντας φυσιολογική σπερματογένεση στο 94% των παιδιών όταν ενηλικιωθούν. Το ποσοστό επιτυχίας της καθήλωσης για τους όρχεις που βρίσκονται αρχικά κάτω από το έξω βουβωνικό στόμιο είναι 89%, ενώ για τους όρχεις που βρίσκονται εγκλωβισμένοι στο βουβωνικό κανάλι είναι 84%.
- Διαπεριτοναϊκή λαπαροσκοπική καθήλωση: Με τη διαγνωστική λαπαροσκόπηση έχουμε τη δυνατότητα ανεύρεσης και καθήλωσης ενός μη ψηλαφητού όρχεως. Η μέθοδος αυτή μας δίνει την ευκαιρία να εντοπίσουμε ενδοκοιλιακούς όρχεις και τις αγγειακές χορδές που διαπερνούν ή όχι το έξω βουβωνικό στόμιο. Η αποκατάσταση των κοιλιακών όρχεων με τη λαπαροσκόπηση ανέρχεται σε ποσοστό 81%.⁴¹⁸
- Ορχεοπηξία κατά Fowler – Stephens: Σε περιπτώσεις που ο όρχις βρίσκεται άνωθεν του έξω βουβωνικού στομίου, ψηλά στην κοιλία και δεν είναι δυνατόν να παρασκευαστεί ο σπερματικός τόνος ώστε να φτάνει στο όσχεο χωρίς μεγάλη τάση μπορούμε να κάνουμε την ορχεοπηξία σε δύο χρόνους. Στην πρώτη φάση, κατεβάζουμε τον όρχι όσο μπορούμε πιο χαμηλά και 1-2 χρόνια μετά προσπαθούμε να τον κινητοποιήσουμε πιο πολύ ώστε να τον καθηλώσουμε στο όσχεο. Αν αυτό δεν είναι εφικτό γιατί το μήκος των σπερματικών αγγείων δεν το επιτρέπει, τότε μπορούμε να τα απολινώσουμε. Στην περίπτωση αυτή, η αιμάτωση του όρχεως εξαρτάται αποκλειστικά από τα αγγεία του σπερματικού τόνου, τα αγγεία του οίακα και τα παράπλευρα αγγεία των εν τω βάθει επιγαστρικών. Το ποσοστό επιτυχίας της ορχεοπηξίας κατά Fowler-Stephens φτάνει το 77%.⁴¹⁹
- Μικροχειρουργική αναστόμωση: Σε περίπτωση απολίνωσης σπερματικών αγγείων για κινητοποίηση κοιλιακού όρχι έχει προταθεί από τους Sibley και Kelly το 1976 η μικροχειρουργική αναστόμωση των αγγείων του όρχεως σε αγγεία του έξω μηρού ή κλάδων των εν τω βάθει κάτω επιγαστρικών αγγείων. Η μέθοδος, αν και δύσκολη, έχει επιτυχία που φτάνει το 95% σε άτομα άνω των 17 ετών που έχουν μεγάλα αγγεία και μικρότερο ποσοστό σε μικρότερα αγόρια.

8.1.4. Βιοψία όρχεως

Η βιοψία του όρχεως δεν αποτελεί τρόπο αντιμετώπισης διόρθωσης του αιτίου της ανδρικής υπογονιμότητας, αλλά μπορεί να αποτελέσει μέρος της διάγνωσης της υπογονιμότητας και ταυτόχρονα της συλλογής σπερματοζωαρίων ή ανώριμων μορφών σπερματοκυττάρων, τα οποία μπορεί να χρησιμοποιηθούν για μικρογονιμοποίηση (intracytoplasmic sperm injection - ICSI) σε ασθενείς με μη αποφρακτική αζωοσπερμία. Το ποσοστό εντοπισμού σπερματοζωαρίων σε άντρες με μη αποφρακτική αζωοσπερμία μπορεί να φτάσει το 50-60%, ανάλογα με το μέγεθος της εστιακής σπερματογένεσης και την τεχνική ανάκτησης των σπερματοζωαρίων από τον όρχι. Η καλή ιστολογική εικόνα του δείγματος, δηλαδή η ανεύρεση ώριμων σπερματικών κυττάρων στη διαγνωστική βιοψία, αποτελεί έναν θετικό προγνωστικό παράγοντα για την ανεύρεση σπερματοζωαρίων στη βιοψία του όρχεως. Αντιθέτως, ο όγκος του όρχεως και τα επίπεδα FSH και ινχμίνης Β έχει διαπιστωθεί ότι δεν αποτελούν προγνωστικό παράγοντα όπως είχαν προταθεί παλιότερα. Στις περιπτώσεις ολικών μικροελλείψεων στις χρωμοσωμικές περιοχές AZF (Azoospermia Factor) η βιοψία δεν προτείνεται στην περίπτωση έλλειψης του AZFa γιατί δεν υπάρχουν σπερματικά κύτταρα, ενώ στην περίπτωση έλλειψης του παράγοντα AZFb και AZFc η ανεύρεση σπερματοζωαρίων είναι εφικτή, αλλά δύσκολη.

Η τεχνική επιλογής για τη λήψη σπερματοζωαρίων από τον όρχι είναι η TESE (testicular sperm extraction), κατά την οποία μπορούμε να κάνουμε λήψη σπερματοζωαρίων είτε με random τυφλές λήψεις ορχικού ιστού από μικρές τομές στην επιφάνεια του όρχεως ή με τη βοήθεια μικροσκοπίου.

Η μικροχειρουργική λήψη σπερματοζωαρίων από τον όρχι με τη βοήθεια χειρουργικού μικροσκοπίου (microsurgical testicular sperm extraction - MicroTESE) αποτελεί τη μέθοδο εκλογής γιατί αυξάνει το ποσοστό ανεύρεσης σπερματοζωαρίων λόγω της δυνατότητας να εντοπίσουμε τα σημεία που έχουν καλύτερη σπερματογένεση, αναγνωρίζοντάς τα από τα διατεταμένα σπερματικά σωληνάκια. Η τεχνική αυτή ενδείκνυται και σε περιπτώσεις που είναι δύσκολο να βρεθεί υγιές ορχικό παρέγχυμα, όπως στους άνδρες με "Sertoli cell only syndrome".

Η λήψη σπερματοζωαρίων με αναρρόφηση διαμέσου λεπτής βελόνης (testicular fine needle aspirations - TEFNA) αποτελεί μια τεχνική με λιγότερα ποσοστά επιτυχίας ανεύρεσης σπερματοζωαρίων, με περισσότερες επιπλοκές από την κάκωση των αγγείων και των σπερματικών σωληναρίων, αλλά και αδυναμία ιστολογικής εξέτασής του.

8.2. Φαρμακευτική

Η φαρμακευτική αντιμετώπιση των υπογόνιμων ανδρών μπορεί να βασίζεται σε ορμονική και μη ορμονική θεραπεία.

8.2.1. Ορμονική θεραπεία

Η ορμονική θεραπεία ενδείκνυται κυρίως σε άνδρες με διαγνωσμένο υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό. Τα φάρμακα που μπορεί να αποτελέσουν μέρος αυτής της θεραπείας είναι:

- **Ανάλογα εκκλυτικής ορμόνης έκκρισης των γοναδοτροπινών (Gonadotropin-releasing hormone ή GnRH-ανάλογα)**

Αν και η χρήση των GnRH φάνηκε να είναι αναποτελεσματική για την αντιμετώπιση της ιδιοπαθούς υπογονιμότητας, στον υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό έχει αποδειχθεί ότι η διέγερση με GnRH μπορεί να αυξήσει σημαντικά τον όγκο του όρχεως, πράγμα που οφείλεται στην αύξηση του ρυθμού της σπερματογένεσης. Θετικό προγνωστικό παράγοντα για την ανταπόκριση στη θεραπεία είναι η αποκατάσταση των επιπέδων τεστοστερόνης στα φυσιολογικά επίπεδα, ένα μήνα μετά.

- **Ανταγωνιστές της εκκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών (GnRH ανταγωνιστές)**

Με τη χορήγηση GnRH ανταγωνιστών είναι δυνατόν να καταστέλλουμε τη μη φυσιολογική έκκριση των γοναδοτροπινών από την υπόφυση. Στη συνέχεια, με τη ρυθμική χορήγηση γοναδοτροπινών εξωγενώς μπορούμε να διεγείρουμε τη φυσιολογική δραστηριότητα των κυττάρων Leydig και Sertoli, αποκαθιστώντας την ενδοκρινή και σπερματογονική λειτουργία του όρχεως.

- **Γοναδοτροπίνες**

Γνωρίζοντας ότι η ανθρώπινη χοριακή γοναδοτροπίνη (human chorionic gonadotropin ή hCG) διεγείρει την έκκριση της LH, ενώ η ανθρώπινη εμμηνοπαυσιακή γοναδοτροπίνη (human menopausal gonadotropin ή hMG) διεγείρει την έκκριση της FSH, μπορούμε να υποθέσουμε ότι η χορήγησή τους σε άντρες μπορεί να έχει ανταπόκριση στην καλύτερη εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Leydig και Sertoli. Η αύξηση των επιπέδων ινχιμπίνης στον ορό του αίματος αποτελεί σημάδι ανταπόκρισης των κυττάρων Sertoli στη θεραπεία με hMG, ενώ η αύξηση των επιπέδων της τεστοστερόνης επιβεβαιώνει την ανταπόκριση των κυττάρων Leydig στη θεραπεία με hCG. Στους όρχεις

με σοβαρή ορχική δυσλειτουργία, όταν δηλαδή έχουν μικρό όγκο, είναι απαραίτητη η ρυθμική χορήγηση συνδυασμού hCG και hMG, ενώ για όρχεις που έχουν υποστεί μικρότερη βλάβη και εμφανίζονται με μεγαλύτερο όγκο είναι αρκετή μόνο η χορήγηση hCG.

- **Αντιοιστρογόνα**

Τα αντιοιστρογόνα, όπως η κιτρική κλομιφαίνη και η ταμοξιφαίνη, δρουν στο επίπεδο του υποθαλάμου, δεσμεύοντας του υποδοχείς των οιστρογόνων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μία αρνητικά ελεγχόμενη ρύθμιση στην έκκριση της GnRH.

- **Αναστολείς αρωματάσης**

Πρόκειται για φάρμακα που δεσμεύουν το ένζυμο αρωματάση, που υπάρχει στους μυς, το δέρμα, τους μαστούς και στο σωματικό λίπος και καταλύει την μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της οιστραδιόλης και την αύξηση της τεστοστερόνης στον ορό του περιφερικού αίματος, δηλαδή την αύξηση του λόγου της τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη. Οι πιο γνωστοί αναστολείς της αρωματάσης που χρησιμοποιούνται στην ανδρική υπογονιμότητα είναι η τεστολακτόνη και η αναστραζόλη.

- **Εκλεκτικοί αναστολείς της προλακτίνης**

Πρόκειται για φάρμακα, όπως η βρωμοκρυπτίνη, που χορηγούνται μόνο σε περιπτώσεις υπογονιμότητας λόγω υπερπρολακτιναιμίας. Αναστέλλουν εκλεκτικά την προλακτίνη που εκκρίνεται από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης, χωρίς να επηρεάζουν τα φυσιολογικά επίπεδα των άλλων ορμονών της υπόφυσης.

8.2.2. Μη ορμονική θεραπεία

- **Καλλικρεΐνη**

Είναι μια προτεάση, η οποία αποτελεί μέρος της φυσιολογικής εκκριτικής λειτουργίας του προστάτη. Έχει φάνει ότι μπορεί να αυξήσει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, καθώς και το μεταβολισμό τους, γεγονός που οφείλεται στην αύξηση των επιπέδων κινινών στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα. Μελέτες έχουν δείξει ότι η χορήγηση καλλικρεΐνης σε ολιγοσπερμικούς άνδρες μπορεί να αυξήσει τα ποσοστά εγκυμοσύνης έως 25-55%.

- **Ινδομεθακίνη**

Η θεραπεία με ινδομεθακίνη, η οποία είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες, αναστέλλει την παραγωγή των προσταγλανδινών, οι οποίες ευθύνονται για τη μείωση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων και την αναστολή της σπερματογένεσης. Επίσης, προστατεύει τα σπερματοζωάρια από τη οξείδωση, καταστέλλοντας τη δημιουργία ελεύθερων ριζών οξυγόνου.

- **Αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου (ACE αναστολείς)**

Η χρήση των αναστολέων του μετραπρεπτικού ενζύμου μπορούν με παρόμοιο τρόπο με την καλικρεΐνη να διεγείρουν τη σπερματογένεση, αυξάνοντας τα επίπεδα των κινινών στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα. Επίσης, οι ACE αναστολείς φάνηκε ότι μπορούν να αναστείλουν την επιβαρυντική δράση της αγγειοτενσίνης II στην εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Leydig.

- **Πεντοξυφυλλίνη**

Η πεντοξυφυλλίνη, που χρησιμοποιείται κυρίως κατά την προετοιμασία του σπέρματος στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή, βελτιώνει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων.

- **Γλουταθειόνη**

Η γλουταθειόνη φάνηκε να παρέχει αντιοξειδωτικό - προστατευτικό ρόλο στην ακεραιότητα της μεμβράνης των σπερματοζωαρίων από το οξειδωτικό στρες.

9. ΦΩΣΦΟΔΙΕΣΤΕΡΑΣΕΣ (PDEs)

Οι φωσφοδιεστεράσες αποτελούν μέλη μιας υπεροικογένειας ισοενζύμων που υποδιαιρείται σε 11 υπο-οικογένειες. Δρουν απενεργοποιώντας τα κυκλικά νουκλεοτίδια, δηλαδή την κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP) και την κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP), αποικοδομώντας ένα δεσμό φωσφοδιεστερά. Η απενεργοποίηση των κυκλικών νουκλεοτιδίων από τις φωσφοδιεστεράσες, με την υδρόλυση του 3'-φωσφοδιεστερικού δεσμού που περιέχουν, τα μετατρέπει στα αντίστοιχα μη ενεργά 5'-μονοφωσφορικά νουκλεοτίδια. Οι φωσφοδιεστεράσες, οι οποίες υδρολύουν το cGMP και το cAMP, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική σηματοδότηση, επηρεάζοντας τη διάρκεια δράσης των κυκλικών νουκλεοτιδίων. Το cGMP υδρολύεται από συγκεκριμένα ισοένζυμα φωσφοδιεστερασών, όπως η PDE1A, PDE1B, PDE5, PDE6, PDE9 και κυρίως η PDE10.²⁴⁹ Στα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών των σπυρραγωγών σωμάτων του πέους εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό το cGMP, ιδιότητα στην οποία βασίζεται η χρήση των PDE5 αναστολέων για τη θεραπεία της στυτικής δυσλειτουργίας.⁴²⁰ Επίσης, έχει αναφερθεί ότι τα ισοένζυμα PDE1C, PDE4A, PDE4C, PDE7B και PDE8A PDE που εκφράζονται στους όρχεις υδρολύουν το cAMP.²⁴⁹

9.1. Η δράση των PDEs στο ανδρικό αναπαραγωγικό σύστημα

Μελέτες έχουν δείξει ότι σε σωματικά και γεννητικά κύτταρα των όρχεων εκφράζονται διάφορες ισομορφές των PDEs, οι οποίες κωδικοποιούνται από τέσσερα τουλάχιστον διαφορετικά γονίδια.⁴²¹

Από μελέτες της επίδρασης των PDE στον ορχικό ιστό φαίνεται ότι η PDE1 και η PDE2 εκφράζονται κυρίως σε σπερματικά γεννητικά κύτταρα, ενώ η PDE3 και η PDE4 εκφράζονται κυρίως στα κύτταρα Sertoli.^{422,423} Έκφραση της PDE10A έχει αναφερθεί στον ορχικό ιστό και στα σπερματοζωάρια των ανθρώπων και των αρουραίων.⁴²⁴⁻⁴²⁷ Το cAMP υδρολύεται από καθορισμένες PDEs όπως η PDE1C, PDE4, PDE4C, PDE7B, και PDE8A.⁴²⁸

Η PDE3 συμβάλλει στη ρύθμιση της συσταλτικότητας των λείων μυϊκών ινών των κυττάρων που περιβάλλουν τα σπερματικά σωληνάρια και την επιδιδυμίδα.^{428,429} Η σύσπαση αυτών των λείων μυϊκών κυττάρων εξασφαλίζει την προώθηση των ακίνητων σπερματοζωαρίων από τον όρχι στην ουρά της επιδιδυμίδας, εξασφαλίζοντας την ωρίμανση του σπέρματος και την απόκτηση της γονιμοποιητικής ικανότητας.⁴²⁹

Η PDE11 κατέχει ένα σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της εξωκρινούς λειτουργίας του όρχεως που επηρεάζει τη γονιμοποιητική ικανότητα των σπερματοζωαρίων, όπως φαίνεται από πειράματα σε μοντέλα knockout ποντικών PDE11-/-, που εμφάνιζαν μειωμένη συγκέντρωση σπερματοζωαρίων, μειωμένη κινητικότητα και μικρότερο ποσοστό ζωντανών σπερματοζωαρίων.^{430,431}

9.2. Ο ρόλος των PDE-5 αναστολέων στους ανδρικούς εκκριτικούς γεννητικούς αδένες

9.2.1. Η δράση των PDE-5 αναστολέων στην επιδιδυμίδα

Ο δεύτερος αγγελιαφόρος cGMP, ο οποίος μπορεί να δημιουργηθεί σε διάφορες θέσεις του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος, είναι γνωστό ότι διαδραματίζει βασικό ρόλο στη ρύθμιση της συσταλτικότητας της ουράς της επιδιδυμίδας.^{428,432,433} Οι φωσφοδιεστεράσες παίζουν ρόλο στον περισταλτισμό της επιδιδυμίδας, δρώντας μέσω της cGMP στη σηματοδότηση του ελέγχου του περισταλτισμού των λείων μυϊκών ινών που περιβάλλουν την επιδιδυμίδα, επιτρέποντας τη μεταφορά του σπέρματος, αλλά και την ωρίμανσή του.^{428,433} Αντιθέτως, σε ολιγοσπερμικούς υπογόνιμους άνδρες, ερευνητές μελέτησαν την επίδραση βαρδεναφίλης 10mg και σιλδεναφίλης 50mg στην εκκριτική λειτουργία της επιδιδυμίδας, αξιολογώντας τα επίπεδα της α-γλυκοσιδάσης στο σπέρμα ως δείκτη, διαπιστώνοντας απουσία σημαντικής στατιστικής διαφοράς.⁴³⁴

9.2.2. Η δράση των PDE-5 αναστολέων στις σπερματοδόχους κύστες

Ο Δημητριάδης και οι συνεργάτες του (2018) μελέτησαν την επίδραση της βαρδεναφίλης (10mg) και της σιλδεναφίλης (50mg) στην εκκριτική λειτουργία των σπερματοδόχων κύστεων υπογόνιμων αντρών, λαμβάνοντας υπόψη ως δείκτη τη συγκέντρωση φρουκτόζης στο σπερματικό υγρό. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης ανέδειξαν ότι η χορήγηση της βαρδεναφίλης και της σιλδεναφίλης δεν οδήγησε σε σημαντική διαφορά στην εκκριτική λειτουργία των σπερματοδόχων κύστεων.⁴³⁴

9.2.3. Η δράση των PDE-5 αναστολέων στους σπερματικούς πόρους

Έρευνες αναφέρουν ότι σε ασθενείς με πρόωρη εκσπερμάτιση η σιλδεναφίλη από μόνη της ή σε συνδυασμό με την παροξετίνη παρουσιάζει σημαντικά υψηλότερο θεραπευτικό ποσοστό επιτυχίας (99%) από ότι η παροξετίνη από μόνη της (42%).^{435,436} Φαίνεται ότι η

ανασταλτική δράση της σιλδεναφίλης στην PDE5 αυξάνει τη συγκέντρωση του cGMP μέσα στις μυϊκές ίνες του σπερματικού πόρου, επιτυγχάνοντας τη χαλάρωση των λείων μυϊκών κυττάρων στον σπερματικό πόρο, παρατείνοντας έτσι το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την επίτευξη της εκσπερμάτισης. Έρευνες σε ανθρώπινα ερυθροκύτταρα έχουν δείξει ότι η οργανική αντλία ιόντων που μεταβιβάζει το cGMP έξω από την κυτταρική μεμβράνη εξαρτάται από α) την Τριφωσφορική αδενοσίνη, (adenosine triphosphate - ATP), β) την υδρόλυσή της, και γ) τη διέγερση της ATPάσης από την cGMP.⁴³⁷ Οι PDE5i, όπως η σιλδεναφίλη, αναστέλλοντας την PDE5 αυξάνουν τη συγκέντρωση του cGMP στις μυϊκές ίνες των σπερματικών πόρων, εμποδίζοντας τη λειτουργία της αντλίας ανιόντων. Η αναστολή της εξωκυττάριας αποβολής της cGMP και η μείωση της αποσύνθεσης της cGMP έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης της cGMP.⁴³⁸ Επίσης, έχει αναφερθεί ότι η σιλδεναφίλη ενεργοποιεί το άνοιγμα των διαύλων καλίου, που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της αδρενεργικής νευροδιαβίβασης, μέσω μηχανισμών ανεξάρτητων του NO. Με τον τρόπο αυτό, μεταβάλλεται ο αδρενεργικός τόνος στις λείες μυϊκές ίνες του σπερματικού πόρου, αναστέλλοντας τη σύσπασή τους.^{437,439}

9.2.4. Η δράση των PDE-5 αναστολέων στον προστάτη

Μελέτες με χορήγηση σιλδεναφίλης και βαρδεναφίλης σε υπογόνιμους άνδρες έχουν δείξει ότι αυτές αυξάνουν την εκκριτική λειτουργία του προστάτη, επιδρώντας ευεργετικά στην ποιότητα των σπερματοζωαρίων.⁴³⁴ Είναι γνωστό ότι οι εκκρίσεις του προστάτη περιέχουν κιτρικό οξύ, που είναι πολύ σημαντικό για τη διατήρηση της οσμωτικής ισορροπίας στο σπερματικό πλάσμα,⁴⁴⁰ ψευδάργυρο, που αποτελεί ισχυρό αντιβακτηριδιακό παράγοντα,⁴⁴¹ σπερμίνη, που σχετίζεται με την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων και χοληστερόλη, η οποία συμβάλλει στη σταθερότητα των σπερματοζωαρίων απέναντι στη θερμοκρασία και στο περιβαλλοντικό στρες.⁴⁴²

Η συνθετάση του μονοξειδίου του αζώτου που έχει εντοπιστεί στις λείες μυϊκές ίνες τόσο στη μεταβατική όσο και στην περιφερειακή ζώνη του προστάτη, δείχνει ότι το NO είναι σημαντικό για τη σωστή λειτουργία του προστατικού λείου μυϊκού ιστού.^{443,444} Στη μεταβατική ζώνη του προστάτη έχει αποδειχτεί ότι εκφράζονται η PED4 και η PED5.⁴⁴⁵ Έρευνες με αναστολείς PDE5 έχουν δείξει ότι χαλαρώνουν τις λείες μυϊκές ίνες του προστάτη, εμποδίζοντας την παλινδρόμηση ούρων στις κυψελίδες του, που προκαλούν φλεγμονές.⁴⁴⁶

9.3. Η επίδραση των PDE-5 αναστολέων στις παραμέτρους του σπέρματος

9.3.1. Μελέτες In vitro

Μετά την ανακάλυψη της σιλδεναφίλης, πολλές in vitro μελέτες έχουν γίνει για να αξιολογήσουν την επίδρασή της στις παραμέτρους του σπέρματος.

Το 2000 ο Burger και οι συνεργάτες του προσπάθησαν να ερευνήσουν την επίδραση της σιλδεναφίλης σε μια ex vivo μελέτη στη βιωσιμότητα και κινητικότητα των ανθρώπινων σπερματοζωαρίων. Συλλέχτηκαν δείγματα σπέρματος από υπογόνιμους και από υγιείς άνδρες, τα οποία επώαστηκαν παρουσία ή όχι σιλδεναφίλης σε διάφορες συγκεντρώσεις (126 ng /mL, 250 ng /mL, και 760ng/mL), σε επωαστικό μέσο Ham's (ως έλεγχος αντιδραστηρίου) ή πεντοξυφυλίνη (ως θετικός έλεγχος). Σε διάφορα χρονικά διαστήματα αξιολόγησαν την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, τη βιωσιμότητα και την ακεραιότητα της μεμβράνης, με τη δοκιμασία υποωσμωτικής διόγκωσης. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης έδειξε ότι η σιλδεναφίλη στις δόσεις που χορηγήθηκε δεν άλλαξε σημαντικά την κινητικότητα, τη βιωσιμότητα, την ακεραιότητα της μεμβράνης ή την διεισδυτική ικανότητα των σπερματοζωαρίων των φυσιολογικών και των υπογόνιμων ανδρών.⁴⁴⁷

Ο Andrade και οι συνεργάτες του, το 2000, μελέτησαν in vitro την επίδραση της φαιντολαμίνης και της σιλδεναφίλης στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Σε αυτήν τη μελέτη, δείγματα σπέρματος αναμείχτηκαν με διάφορες δόσεις σιλδεναφίλης ή φαιντολαμίνης, αφού πλύθηκαν ή όχι, και μετά από 30 λεπτά ελέγχθηκε η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων και το pH των δειγμάτων. Οι ανάλυση των αποτελεσμάτων παρουσίασε μια δοσοεξαρτώμενη αναστολή της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων τόσο για τη σιλδεναφίλη όσο και για τη φαιντολαμίνη. Η σιλδεναφίλη, ενώ σε συγκεντρώσεις 200mg/ml δεν είχε καμιά επίδραση στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, σε υψηλότερες δόσεις (2000μg/ml) μείωσε σημαντικά την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, κατά 50% περίπου, πράγμα που ενδεχομένως να οφείλεται στη μείωση του pH.⁴⁴⁸

Ο Mostafa με την ομάδα του, το 2007, σε in vitro μελέτες αξιολόγησε την επίδραση διαφόρων συγκεντρώσεων σιλδεναφίλης στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων σε δείγματα ασθενοσπερμικών ανδρών. Αφού επώασαν τα διαλύματα σπέρματος με σιλδεναφίλη σε 5 διαφορετικές συγκεντρώσεις (4, 2, 1, 0,5 και 0,1mg/ml) παρακολούθησαν τις μεταβολές της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων (σε διάστημα ½, 1, 2 και 3 ωρών) και συμπέραναν ότι η σιλδεναφίλη έχει μια ευεργετική δοσοεξαρτώμενη δράση στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων ασθενοσπερμικών ανδρών.⁴⁴⁹

Μια άλλη ομάδα ερευνητών με επικεφαλής τον Lefievre, το 2000, σε *in vitro* μελέτες χρησιμοποίησαν τη σιλденаφίλη για να ελέγξουν τη δράση των PDE5i στην κινητικότητα και την ακροσωμική αντίδραση των σπερματοζωαρίων, χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα την cAMP και cGMP. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η σιλденаφίλη διεγείρει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, χωρίς να ενεργοποιεί την ακροσωμική αντίδραση, προφανώς μέσω μιας ανασταλτικής δράσης της στην PDE τύπου 5, που οφείλεται στην αύξηση του ενδοκυττάρου cAMP.⁴⁵⁰

Σε μια *in vitro* μελέτη, ο Cuadra με τους συνεργάτες του ερεύνησαν την κινητικότητα και την ακροσωμική αντίδραση πλυμένων σπερματοζωαρίων σε διάφορες συγκεντρώσεις σιλденаφίλης (0-40nmol/L), αφού επώαστηκαν για 0, 4, 24 και 48 ώρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η σιλденаφίλη έχει μια ευεργετική δράση στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων σε μικρές δοσολογίες, ενώ σε μεγαλύτερες δοσολογίες και σε πιο παρατεταμένη χορήγηση φάνηκε μια μείωση της κινητικότητας. Αντιθέτως, η δράση της σιλденаφίλης διεγείρει την ακροσωμική αντίδραση των σπερματοζωαρίων κατά 50% σχεδόν πάνω από τον έλεγχο.⁴⁵¹

Ο Glenn με την ομάδα του μελέτησε την επίδραση σιλденаφίλης σε δείγματα σπέρματος υπογόνιμων αντρών, που θα έπαιρναν μέρος σε υποβοηθούμενη αναπαραγωγή. Χορήγησαν σιλденаφίλη σε συγκέντρωση 0,67μmol/L, η οποία είναι ισοδύναμη με τη συγκέντρωση της σιλденаφίλης στο πλάσμα αίματος, μία ώρα μετά την κατάποση 101mg σιλденаφίλης και αξιολόγησαν την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων 180 λεπτά μετά. Τα αποτελέσματα της μελέτης παρουσίασαν μια αύξηση του αριθμού των κινούμενων σπερματοζωαρίων, αλλά -κυρίως- της ταχύτητας των προοδευτικά κινούμενων σπερματοζωαρίων, πράγμα που σύμφωνα με τους ερευνητές οφείλεται στην αύξηση του ενδοκυττάρου cGMP.⁴⁵²

Αργότερα, με την κυκλοφορία του νέου εκλεκτικού αναστολέα της φωσφοδιεστεράσης 5, της τανταλαφίλης, ακολούθησαν πολλές μελέτες *in vitro* για την επίδρασή της στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων.

Σε μια *in vitro* μελέτη ο Mostafa, χορηγώντας σε δείγμα σπέρματος ασθενοσπερμικών ανδρών τανταλαφίλη σε διάφορες συγκεντρώσεις (4.0, 1.0, 0.5mg/mL), αξιολόγησε την επίδρασή της στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση χαμηλών δόσεων τανταλαφίλης (1 και 0.5mg/ml) προκαλούσε μια στατιστικά σημαντική αύξηση στην προοδευτική κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις

(4mg/ml) η τανταλαφίλη είχε επιβαρυντική δράση στην κινητικότητα τους. Σύμφωνα με τον ερευνητή, η επίδραση της τανταλαφίλης στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων δεν οφείλεται μόνο στην ανασταλτική δράση της στην PDE5, αλλά, ενδεχομένως, και σε μια επιπρόσθετη δράση της στην PDE11.⁴⁵³

Πριν την ανακάλυψη των εκλεκτικών αναστολέων της φωσφοδιεστεράσης 5, πολλές *in vitro* μελέτες είχαν γίνει στην προσπάθεια να αξιολογηθεί η επίδραση των μη εκλεκτικών αναστολέων της φωσφοδιεστεράσης στις παραμέτρους του σπέρματος. Ο Jaiswal και ο Majumder απέδειξαν ότι η θεοφυλλίνη ως μη εκλεκτικός αναστολέας PDE αυξάνει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων του τράγου.⁴⁵⁴ Παρομοίως, η καφεΐνη, που αποτελεί έναν μη εκλεκτικό αναστολέα φωσφοδιεστεράσης, αποδείχτηκε ότι αυξάνει την κινητικότητα στο σπέρμα.^{455,456} Αντιθέτως, επιδρά αρνητικά στην ακροσωμική αντίδραση, επάγοντάς την.⁴⁵⁷ Ο πιο διαδεδομένος μη εκλεκτικός αναστολέας PDE, που έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν κυρίως σε προγράμματα υποβοηθούμενης αναπαραγωγής, η πεντοξυφυλλίνη (PTX), φαίνεται να αυξάνει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, διεγείροντας την ενδοκυττάρια αύξηση της cAMP.⁴⁵⁸⁻⁴⁶⁸ *In vitro* μελέτες αναφέρουν πως η PTX αυξάνει τη συχνότητα χτύπου της ουράς των σπερματοζωαρίων, τη γωνιακή τους ταχύτητα και το ποσοστό των υπερενεργοποιημένων σπερματοζωαρίων.^{455,458,461,462,466,469-473} Επίσης, έχει αποδειχθεί ότι η χορήγηση PTX μειώνει τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και το ενδοκυτταρικό ανιόν υπεροξειδίου, που, όπως είναι γνωστό, προκαλούν οξείδωση στο DNA των σπερματοζωαρίων.^{474,475} Αν και από μελέτες *in vitro* δεν έχει φανεί η επίδραση των PDE5i στην ακροσωμική αντίδραση των σπερματοζωαρίων, είναι σαφές ότι οι αναστολείς της PDE1 διεγείρουν επιλεκτικά την ακροσωμική αντίδραση.⁴⁷⁶ Σε μια έρευνα σε μοντέλα ποντικών knockout (PDE11^{-/-}) ο Wayman αξιολόγησε το ρόλο της PDE11 στη φυσιολογία των σπερματοζωαρίων, διαπιστώνοντας μειωμένη συγκέντρωση σπερματοζωαρίων, μειωμένη προωθητική κινητικότητα, μειωμένο ποσοστό ζωντανών σπερματοζωαρίων και αύξηση της πρόωρης – αυθόρμητης ακροσωμικής αντίδρασης.⁴³¹ Λαμβάνοντας υπόψη τις παραπάνω *in vitro* μελέτες, που αφορούν την επίδραση των εκλεκτικών αναστολέων των PDE5 στις παραμέτρους του σπέρματος, θα μπορούσαμε να συμπεράνουμε μια δόσοεξαρτώμενη επίδραση της τανταλαφίλης και της σιλденаφίλης στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων.

9.3.2. Μελέτες In vivo

Από πολύ παλιά, σχεδόν από το 1991, πολλές έρευνες έχουν αξιολογήσει τις επιπτώσεις των μη εκλεκτικών αναστολέων της φωσφοδιεστεράσης στις παραμέτρους των σπερματοζωαρίων.^{457,476-481}

Το 2002, ο Purvis και οι συνεργάτες του, σε μια in vivo διπλή-τυφλή, τυχαιοποιημένη, αμφίδρομη μελέτη, εξέτασαν την επίδραση μιας εφάπαξ δόσης από του στόματος σιλденаφίλης 100mg στην κινητικότητα, τον αριθμό, την πυκνότητα, τη μορφολογία και τη ζωτικότητα του σπέρματος, καθώς και τον όγκο και το ιξώδες της εκσπερμάτισης νέων ανδρών. Τα αποτελέσματα της μελέτης απέδειξαν ότι η χορήγηση μιας δόσης σιλденаφίλης 100mg δεν είχε ευεργετική δράση στις παραμέτρους του σπέρματος, αλλά ούτε και δυσμενή επίδραση στη λειτουργία των σπερματοζωαρίων ή στην ποιότητα εκσπερμάτισης.⁴⁸²

Ο Aversa με την ομάδα του, το 2000, παρουσίασε μια διπλή-τυφλή, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη, χορηγώντας μια δόση 100mg σιλденаφίλης σε άνδρες, πριν δώσουν δείγμα για εξωσωματική γονιμοποίηση έτσι ώστε να τονώσουν τη στυτική λειτουργία, που μπορεί να είχαν λόγω άγχους. Από τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων της μελέτης προκύπτει ότι η σιλденаφίλη δεν προκάλεσε αλλαγές στις παραμέτρους του σπερματικού και της στύσης σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο, πράγμα που την καθιστά ασφαλές στην χορήγησή της για λήψη σπέρματος σε περίπτωση αδυναμίας στύσης λόγω άγχους και ψυχολογικής πίεσης.⁴⁸³

Το 1999, μια ομάδα ερευνητών με επικεφαλής τον Tur-Kaspa μελέτησε την επίδραση 50mg σιλденаφίλης σε άνδρες που εμφάνισαν προσωρινή στυτική δυσλειτουργία λόγω ψυχολογικής πίεσης, κατά τη διάρκεια λήψης ενός ή περισσότερων δειγμάτων σπέρματος πριν από τεχνικές υποβοηθούμενης αναπαραγωγής. Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι το φάρμακο βοήθησε τους άνδρες στην παραγωγή σπερματοζωαρίων κατόπιν ζήτησης, αυξάνοντας την πιθανότητα επιτυχίας της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής.⁴⁸⁴

Ο du Plessis και οι συνεργάτες του, το 2004, σε μια διπλή-τυφλή, με εικονικό φάρμακο, διασταυρούμενη, κλινική έρευνα μελέτησαν την επίδραση χορήγησης μια δόσης 50mg σιλденаφίλης ή εικονικού φαρμάκου στις παραμέτρους του σπέρματος σε φυσιολογικούς άνδρες. Προσδιόρισαν το ποσοστό των κινητών σπερματοζωαρίων, τον τύπο κίνησης, τη συχνότητα κίνησης της ουράς και την ακροσωμική αντίδραση. Η

ανάλυση των αποτελεσμάτων ανέδειξε στην ομάδα των ανδρών που πήραν σιλδεναφίλη μια αύξηση μόνο του ποσοστού των ταχέως κινούμενων σπερματοζωαρίων, χωρίς ιδιαίτερες μεταβολές στις άλλες παραμέτρους που μελετήθηκαν.⁴⁸⁵

Η ομάδα του Jannini, το 2004, σε μια ανεξέλεγκτη πιλοτική μελέτη, χορήγησε 50mg σιλδεναφίλης σε υγιείς άνδρες πριν τη συλλογή σπέρματος για σπερματέγχυση ή για προγραμματισμένη συνουσία, στα πλαίσια post-coital testing και αξιολόγησε την επίδραση του φαρμάκου στις παραμέτρους του σπέρματος. Από τα αποτελέσματα της έρευνας φάνηκε πως η σιλδεναφίλη στη δοσολογία αυτή έχει ευεργετική δράση μόνο στο ποσοστό των σπερματοζωαρίων με ζωηρή – προοδευτική κινητικότητα.⁴⁸⁶

Το 2007, ο Ali και οι συνεργάτες του μελέτησαν την επίδραση 100mg σιλδεναφίλης σε διαβητικούς, ινσουλινοεξαρτώμενους και μη, νευροπαθητικούς ασθενείς. Η χρόνια χορήγηση του φαρμάκου φάνηκε να μειώνει τη συνολική παραγωγή και συγκέντρωση σπέρματος, χωρίς να επηρεάζει την μορφολογία των σπερματοζωαρίων. Αντιθέτως, η σιλδεναφίλη διαπιστώθηκε ότι αυξάνει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων (κατά 40%) και τον όγκο της εκσπερμάτισης (κατά 48%). Ακόμη, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η χορήγηση σιλδεναφίλης προστατεύει τις λείες μυϊκές ίνες ολόκληρου του αναπαραγωγικού συστήματος από την εναπόθεση ασβεστίου και ενδιάμεσου κολλαγόνου που καθιστούν την εκσπερματιστική οδό πιο άκαμπτη, εμποδίζοντας την κίνηση των σπερματοζωαρίων και ευνοώντας την παλίνδρομη εκσπερμάτιση.⁴⁸⁷

Μια διπλά-τυφλή, τυχαιοποιημένη, διασταυρούμενη μελέτη πραγματοποιήθηκε από τον Romara και τους συνεργάτες του, το 2007, στην προσπάθεια να μελετηθεί η επίδραση χορήγησης μια δόσης 50 mg σιλδεναφίλης ή 20 mg τανταλαφίλης στις παραμέτρους του σπέρματος 18 υπογόνιμων ανδρών. Παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της προοδευτικής κινητικότητας των σπερματοζωαρίων σε σύγκριση με την αρχική τιμή, μετά τη χορήγηση σιλδεναφίλης, σε αντίθεση με την τανταλαφίλη, που φάνηκε να μειώνει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων.⁴⁸⁸

Ο Hellstrom και οι συνεργάτες του, το 2003, σε μια τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη, εκτίμησαν την επίδραση χρόνιας χορήγησης τανταλαφίλης στις παραμέτρους του σπέρματος και στο ορμονικό profile υγιών ανδρών. Οι ερευνητές αξιολόγησαν, μετά τη χορήγηση τανταλαφίλης 10mg και 20mg για 6 μήνες, τα χαρακτηριστικά του σπέρματος και τα επίπεδα των αναπαραγωγικών ορμονών (τεστοστερόνη, ωχρινοποιητική ορμόνη, και θυλακιοτρόπος ορμόνη) στον ορό υγιών

ανδρών, αλλά και σε άνδρες με ήπια στυτική δυσλειτουργία. Από τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων δεν φάνηκαν σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα των αναπαραγωγικών ορμονών στον ορό των ανδρών μετά τη χορήγηση τανταλαφίλης, αλλά ούτε και στον αριθμό και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων στο εκσπερμάτιμά τους. Αντιθέτως, σημειώθηκε μια μικρή μείωση της συγκέντρωσης των σπερματοζωαρίων στους άνδρες που ακολούθησαν αγωγή με τανταλαφίλη, γεγονός που οδήγησε τους συγγραφείς να εκφράσουν τον προβληματισμό τους σχετικά με την ασφάλεια χορήγησης της τανταλαφίλης σε καθημερινή βάση, σε χρόνια θεραπεία.⁴⁸⁹

Αργότερα, πάλι ο Hellstrom με την ομάδα του, το 2008, στην προσπάθεια να διαλευκάνουν τον συγκεκριμένο προβληματισμό, αξιολόγησαν τη μακροχρόνια, καθημερινή επίδραση τανταλαφίλης στη σπερματογένεση, έναντι εικονικού φαρμάκου. Μετά τη χορήγηση 20mg τανταλαφίλης σε υγιείς άνδρες για 9 μήνες, οι ερευνητές τελικά συμπέραναν ότι το φάρμακο δεν έχει επιβαρυντική δράση στη σπερματογένεση.⁴⁹⁰

Με μία διπλά-τυφλή, τυχαιοποιημένη, διασταυρούμενη μελέτη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, το 2002 ο Bauer και οι συνεργάτες του αξιολόγησαν την επίδραση 20mg βαρδεναφίλης στις παραμέτρους του σπέρματος. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων της έρευνας δεν ανέδειξε καμιά σημαντική επίδραση της βαρδεναφίλης στην κινητικότητα, τη συγκέντρωση, τη βιωσιμότητα και τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων.⁴⁹¹

Σε μία πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη ο Jarvi και οι συνεργάτες του, το 2008, ερεύνησαν σε άνδρες με και χωρίς στυτική δυσλειτουργία την επίδραση της βαρδεναφίλης και της σιλδεναφίλης στα χαρακτηριστικά του σπέρματος και τις αναπαραγωγικές ορμόνες. Χορηγώντας καθημερινά βαρδεναφίλη 20mg και σιλδεναφίλη 100mg για διάστημα 6 μηνών, παρατήρησαν ότι η βαρδεναφίλη δεν είχε αρνητικές επιδράσεις στη συγκέντρωση σπερματοζωαρίων σε σύγκριση με την σιλδεναφίλη και το εικονικό φάρμακο. Επίσης, τα επίπεδα των αναπαραγωγικών ορμονών στον ορό του περιφερειακού αίματος των ανδρών δεν φάνηκε να επηρεάστηκαν.⁴⁹²

Αργότερα (2010), ο Δημητριάδης με τους συνεργάτες αξιολόγησαν την επίδραση των αναστολέων φωσφοδιεστεράσης-5 στην εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Leydig και την επίδρασή της στις παραμέτρους του σπέρματος και τις αναπαραγωγικές ορμόνες. Οι ερευνητές χορήγησαν σε oligoασθενοσπερμικούς άνδρες καθημερινά για 12 εβδομάδες βαρδεναφίλη 10mg, σιλδεναφίλη 50mg και L-καρνιτίνη 1000mg και

σύγκριναν τα αποτελέσματα των παραμέτρων του σπέρματος, των αναπαραγωγικών ορμονών και του πεπτιδίου τύπου 3 ινσουλίνης (INSL3) με μια ομάδα ελέγχου πριν και μετά τη θεραπεία. Τα αποτελέσματα της μελέτης δεν έδειξαν ιδιαίτερη μεταβολή στη συγκέντρωση των αναπαραγωγικών ορμονών μετά τη θεραπεία, αλλά φάνηκε μια αύξηση της συγκέντρωσης της INSL3 στους άνδρες που χορηγήθηκε PDE5-i. Σε αυτούς του άνδρες παρατηρήθηκε επίσης μια αύξηση της συγκέντρωσης, της κινητικότητας και της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων μετά την αγωγή με βαρδεναφίλη και σιλδεναφίλη. Βασιζόμενοι στα αποτελέσματα αυτά, οι ερευνητές υπέθεσαν ότι η βαρδεναφίλη και η σιλδεναφίλη αυξάνουν την εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Leydig, η οποία εκφράζεται με την αύξηση στο ορό του αίματος της INSL3, που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης των σπερματοζωαρίων, της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων και του ποσοστού των κινητών σπερματοζωαρίων.⁴⁹³

Σε μια *in vitro* μελέτη, το 2012, ο Rago με τους συνεργάτες του αξιολόγησαν την επίδραση της βαρδεναφίλης στις παραμέτρους του σπέρματος σε υπογόνιμους άνδρες. Χορήγησαν σε μια ομάδα 10mg βαρδεναφίλη σε μια εφάπαξ δόση, σε μια δεύτερη ομάδα βαρδεναφίλη 10mg κάθε 2 μέρες, και σύγκριναν τις μεταβολές στο σπέρμα πριν και μετά τη θεραπεία με μια ομάδα ελέγχου. Τα αποτελέσματα της μελέτης ανέδειξαν ότι τόσο η εφάπαξ χορήγηση 10mg βαρδεναφίλης όσο και η εναλλασσόμενη χορήγηση μέρα παρά μέρα είχαν ευεργετική επίδραση στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων σε σχέση με τους άνδρες που δεν είχαν πάρει το φάρμακο.⁴⁹⁴

Το 2012, ο Δημητριάδης με την ομάδα του αξιολόγησε την επίδραση της βαρδεναφίλης στην έκκριση της ανδρογονοδεσμευτικής πρωτεΐνης από τον ορχικό ιστό αποφρακτικών και μη αποφρακτικών αζωοσπερμικών ανδρών. Μελετήθηκε η έκκριση ABP *in vitro* στον ιστό όρχεων των ανδρών αυτών πριν και μετά τη θεραπεία με βαρδεναφίλη 20mg καθημερινά για 10 ή 14 εβδομάδες ή L-καρνιτίνη 1000mg και συγκρίθηκε με μια ομάδα ελέγχου. Στους άνδρες, στους οποίους είχε χορηγηθεί βαρδεναφίλη, εντοπίστηκε μια αύξηση της ABP στη δεύτερη βιοψία όρχεως, χωρίς να είναι εμφανής μια ανασταλτική επίδραση στη σπερματογένεση και ωρίμανση σπερματικών κυττάρων. Επιπλέον, η θεραπεία δεν επηρέασε σημαντικά τα ποσοστά γονιμοποίησης και επίτευξης ζωντανών απογόνων μετά από δοκιμασίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής (ICSI) με σπερματοζωάρια που βρέθηκαν στις βιοψίες. Οι ερευνητές, τέλος, συμπέραναν ότι η βαρδεναφίλη έχει μια ευεργετική επίδραση στην εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Sertoli, που αναδεικνύεται με την αύξηση της ABP.⁴⁹⁵

10. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να εκτιμηθεί ο ρόλος χαμηλών δόσεων PDE5i στη συνολική γονιμοποιητική ικανότητα υπογόνιμων ανδρών. Η πρωτοτυπία της μελέτης αυτής εντοπίζεται στη χρήση 2 διαφορετικών αναστολέων της φωσφοδιεστεράσης τύπου 5 σε χαμηλές δόσεις (σιλδεναφίλη 12,5mg και βαρδεναφίλη 10mg) καθημερινά για διάφορα χρονικά διαστήματα. Επίσης, εκτός από την αξιολόγηση των παραμέτρων του σπέρματος, εκτιμήθηκαν και οι αναπαραγωγικές ορμόνες του άνδρα. Πιο συγκριμένα, μελετήθηκε αν ο αριθμός, η συγκέντρωση, η κινητικότητα σπερματοζωαρίων και το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων επηρεάστηκε από τη χορήγηση των PDEi, καθώς επίσης και αν τα φάρμακα αυτά επηρέασαν το ορμονικό profile του άνδρα (LH, FSH, E2, PRL, Total-TESTO) και το κλάσμα της ολικής τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη. Η μελέτη αυτή αποτελεί μια ακόμα προσπάθεια για να επιβεβαιώσουμε αν οι αναστολείς της PDE5 μπορούν να ενταχθούν ως πιθανοί φαρμακευτικοί παράγοντες για την αντιμετώπιση της ανδρικής υπογονιμότητας.

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

11. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στη μελέτη αυτή πήραν μέρος, με τη συγκατάθεσή τους, 110 υπογόνιμοι άντρες ηλικίας 25 έως 35 ετών, που επιλέχθηκαν από ένα γενικό πληθυσμό ανδρών που ενδέχεται να επισκεφτούν μια ουρολογική κλινική. Προϋπόθεση για την ένταξη των αντρών αυτών στη μελέτη ήταν η αδυναμία επίτευξης εγκυμοσύνης μετά από ένα έτος ελεύθερων σεξουαλικών επαφών και 2 τουλάχιστον σπερμοδιαγράμματα, που παρουσίαζαν διαταραχές σε μία ή και περισσότερες από τις βασικές παραμέτρους τους (αριθμός, συγκέντρωση, κινητικότητα σπερματοζωαρίων και ποσοστό μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων) σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας.⁴⁹⁶

Οι Αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης-5 (PDE5i) που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν σιλδεναφίλη 12,5mg (Viagra 25mg – ½ tab, Pfizer Ltd) και βαρδεναφίλη 5mg (Levitra 10mg - ½ tab, Bayer Pharma AG).

12. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Από όλους τους άνδρες έγινε λεπτομερής λήψη οικογενειακού και ατομικού ιστορικού, έτσι ώστε να διερευνηθούν παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τη σπερματογένεση, όπως κάπνισμα, έκθεση σε ακτινοβολίες, λήψη φαρμάκων, ορμονών, ναρκωτικών ουσιών, διατροφικές συνήθειες κτλ. Ένα σύντομο σεξουαλικό ιστορικό ελήφθη για την ύπαρξη προηγούμενων επιτυχημένων ή όχι κυήσεων. Σε όλα τα περιστατικά που συμπεριλήφθησαν στην μελέτη τα αίτια της υπογονιμότητας θεωρήθηκαν, βάση του ιστορικού τους, πρωτοπαθή.

Βάσει του πρωτοκόλλου της έρευνας, το σύνολο των υπογόνιμων αντρών που συμπεριλήφθηκε στην μελέτη (110) χωρίστηκε σε 4 ομάδες. Στους 22 άνδρες που εντάχθηκαν στην ομάδα A (n=22) χορηγήθηκε σιλδεναφίλη 12,5mg ημερησίως για 30 ημέρες. Στην ομάδα B που αποτελούσαν 22 υπογόνιμοι άνδρες (n=22) δόθηκε καθημερινά σιλδεναφίλη 12,5mg για 60 ημέρες. Η ομάδα C περιλάμβανε άλλους 22 ασθενείς (n=22), οι οποίοι για 30 μέρες έκαναν λήψη βαρδεναφίλης 5mg ημερησίως. Στους 22 ασθενείς που επιλέχθηκαν για την ομάδα D (n=22) χορηγήθηκε καθημερινά βαρδεναφίλη 5mg για 60 ημέρες. Τέλος, στην ομάδα E εντάχθηκαν ακόμη 22 υπογόνιμοι άνδρες (n=22), που

αποτέλεσαν την ομάδα παρακολούθησης (control group), χωρίς να λάβουν καμία φαρμακευτική αγωγή για τις 60 ημέρες που παρακολουθήθηκαν. Οι άντρες κάθε ομάδας υποβλήθηκαν πριν τη μελέτη και 48 ώρες μετά την τελευταία δόση του φαρμάκου σε εξετάσεις σπέρματος και ορμονικό έλεγχο.

Η συλλογή σπέρματος από τους άνδρες έγινε με εκσπερμάτιση μετά από αυνανισμό, ύστερα από αποχή 3-4 ημερών και το δείγμα διακομίστηκε στο εργαστήριο μέσα σε 1 ώρα από τη λήψη του. Σε κάθε δείγμα σπέρματος προσδιορίστηκε ο όγκος του σπέρματος (ml), η συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων ($\times 10^6/\text{ml}$), το ποσοστό των κινητών σπερματοζωαρίων την 1^η ώρα (MS%), και το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων (MNS%) βάσει των κριτηρίων που έχουν τεθεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Π.Ο.Υ).⁴⁹⁶

Το σύνολο των υπογόνιμων ανδρών που εντάχθηκαν στη μελέτη υποβλήθηκαν σε ορμονολογικό έλεγχο, που περιελάμβανε τη μέτρηση στον ορό του περιφερικού αίματος των τιμών της ολικής τεστοστερόνης – T. Testo (ng/ml), της προλακτίνης – PRL (ng/ml), της οιστραδιόλης - E₂ (pg/ml), της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης – FSH (IU/ml) και της ωχρινοτρόπου ορμόνης - LH (IU/ml). Υπολογίστηκε, τέλος, ο λόγος τεστοστερόνης/οιστραδιόλης. Οι αιμοληψίες σε όλους τους άνδρες πραγματοποιήθηκαν τις πρωινές ώρες (περίπου 2 ώρες μετά την αφύπνιση) ώστε να περιοριστούν οι διακυμάνσεις των ορμονών και κυρίως της τεστοστερόνης.

Όλα τα δεδομένα της έρευνας μηχανογραφήθηκαν σε ηλεκτρονικό πρόγραμμα έτσι ώστε να είναι εύκολη και εφικτή η ανάλυσή τους και, ταυτοχρόνως, να εξασφαλιστεί η ανωνυμία των ανδρών που έλαβαν μέρος στη μελέτη.

13. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τα δεδομένα που συλλέχθηκαν, επεξεργάστηκαν και αναλύθηκαν με τη βοήθεια του στατιστικού λογισμικού για τις κοινωνικές επιστήμες (Statistical Package for Social Sciences-SPSS) έκδοση 20.0, για το λειτουργικό σύστημα Windows της Microsoft®. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με τη δοκιμασία Wilcoxon paired test, ενώ το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας θεωρήθηκε μικρότερο ή ίσο του 5% ($p < 0,05$).

14. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κριτήριο για την αποτελεσματικότητα ή μη της χορήγησης χαμηλών δόσεων σιλδεναφίλης και βαρδεναφίλης σε υπογόνιμους άνδρες που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη αποτελεί η ανάλυση της μεταβολής των ποιοτικών και ποσοτικών παραμέτρων του σπέρματος, καθώς και των ορμονικών δεικτών που αξιολογήθηκαν πριν και μετά τη θεραπεία (**Γράφημα 1**).

Στην ομάδα A, στην οποία χορηγήθηκε σιλδεναφίλη 12,5mg ημερησίως για 30 μέρες, ο όγκος της εκσπερμάτισης κατά την έναρξη της μελέτης ήταν $2.677\text{ml} \pm 1.0249$ (mean \pm SD), ενώ 30 ημέρες μετά παρέμεινε σχετικά αμετάβλητος ($3.027\text{ml} \pm 0.9228$, $p=0.104$). Η συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων μεταβλήθηκε από $14.91 \times 10^6/\text{ml} \pm 11.447$ σε $18.00 \times 10^6/\text{ml} \pm 10.823$ μετά από 30 ημέρες, χωρίς να υπάρξει αξιολογη αύξηση ($p=0.085$). Η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, ένα μήνα μετά την έναρξη της μελέτης, παρουσίασε αύξηση στατιστικά σημαντική ($25.14\% \pm 16.275$ πριν, έναντι $32.91\% \pm 20.394$ μετά, $p=0.037$). Παρομοίως, το ποσοστό των φυσιολογικών μορφών των σπερματοζωαρίων ήταν $3.77\% \pm 2.308$ πριν και $4.95\% \pm 2.535$ μετά, $p=0.044$, εμφανίζοντας στατιστικά σημαντική αύξηση σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές στην έναρξη της περιόδου παρακολούθησης. Η συγκέντρωση της ολικής τεστοστερόνης στον ορό του περιφερικού αίματος των ασθενών της ομάδας αυτής παρουσίασε μια μικρή μεταβολή, όχι στατιστικά σημαντική, από $3.3718\text{ng/ml} \pm 2.05067$ πριν, σε $3.8755\text{ng/ml} \pm 2.33841$ μετά, $p=0.102$. Η μεταβολή της συγκέντρωσης της LH δεν ανέδειξε διαφορά στατιστικά σημαντική πριν τη θεραπεία $8.055\text{U/L} \pm 4.4374$ και μετά από αυτή $7.905\text{U/L} \pm 4.5822$, $p=0.102$. Αμετάβλητη παρέμεινε και η συγκέντρωση στο αίμα της FSH πριν την θεραπεία $9.123\text{U/L} \pm 4.9299$ και 30 μέρες μετά $9.282\text{U/L} \pm 5.2234$, $p=0.721$. Σχεδόν αμετάβλητες φαίνεται να έμειναν οι τιμές μέτρησης της PRL στο αίμα των ανδρών $7.5918\text{ng/ml} \pm 2.6735$ πριν, και $7.195\text{ng/ml} \pm 2.2748$ μετά, $p=0.475$. Αντίθετα, η μέτρηση της E₂ στον ορό μετά την θεραπεία $59.14\text{pg/ml} \pm 24.614$ εμφάνισε σημαντική στατιστική μείωση σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές πριν τη θεραπεία $77.91\text{pg/ml} \pm 13.255$, $p=0.006$. Η πτώση της συγκέντρωσης της E₂ στον ορό του αίματος μετά τη θεραπεία αποτελεί την αιτία της στατιστικά σημαντικής αύξησης του λόγου της τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη, από 0.04323 ± 0.022797 πριν σε 0.08982 ± 0.102219 μετά, $p=0.011$.

Οι άντρες της ομάδας B, στους οποίους χορηγήθηκε για 60 μέρες σιλδεναφίλη 12,5mg ημερησίως, δεν παρουσίασαν ιδιαίτερη μεταβολή του όγκου της εκσπερμάτισης ($p=0.371$ πριν ($2.800\text{ml}\pm 0.7387$) και μετά ($2.955\text{ml}\pm 0.8122$) τη θεραπεία. Παρομοίως, και η συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων δεν είχε σημαντική στατιστική διαφορά ($p=0.684$) πριν $17.86\times 10^6/\text{ml}\pm 7.815$ και μετά τη χορήγηση του φαρμάκου ($18.23\times 10^6/\text{ml}\pm 8.491$). Στους άνδρες της ομάδας αυτής φάνηκε μια αύξηση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων μετά τη θεραπεία ($18.91\%\pm 9.937$) σε σχέση με αυτή που είχαν πριν ($15.05\%\pm 8.329$), η οποία ήταν στατιστικά υπολογίσιμη ($p=0.043$). Αξιολογη αύξηση ($p=0.021$) παρουσίασε το ποσοστό των φυσιολογικών μορφών των σπερματοζωαρίων από $3.32\%\pm 2.033$ πριν τη θεραπεία σε $4.86\%\pm 2.494$ μετά τη θεραπεία. Η συγκέντρωση της τεστοστερόνης στον ορό του αίματος αυτών των ανδρών αυξήθηκε σημαντικά ($p=0.018$) σε $3.0000\text{ng}/\text{ml}\pm 1.19124$ από $2.5591\text{ng}/\text{ml}\pm 0.88461$ που ήταν πριν τη χορήγηση της σιλδεναφίλης. Τα επίπεδα της LH στον ορό κατά τη διάρκεια του επανελέγχου ($6.400\text{U}/\text{L}\pm 3.4485$) παρουσίασαν μια μη σημαντική πτώση ($p=0.903$) σε σύγκριση με τις τιμές την έναρξης ($6.459\text{U}/\text{L}\pm 3.2124$). Κατά τον ίδιο τρόπο, και οι μετρήσεις της FSH πριν ($8.018\text{U}/\text{L}\pm 5.0436$) και μετά ($8.568\text{U}/\text{L}\pm 5.3746$) τη θεραπεία δεν παρουσίασαν ιδιαίτερη μεταβολή ($p=0.417$). Αξιολογες διακυμάνσεις ($p=0.385$) δεν ανέδειξε σε αυτήν την ομάδα η μέτρηση στο περιφερειακό αίμα της PRL πριν ($7.168\text{ng}/\text{ml}\pm 3.5766$) και μετά ($7.068\text{ng}/\text{ml}\pm 3.2347$) τη χορήγηση της σιλδεναφίλης. Στατιστικά σημαντική ($p=0.019$) ήταν η πτώση της E₂ μετά τη θεραπεία ($52.14\text{pg}/\text{ml}\pm 22.785$), σε σχέση με τις τιμές πριν την έναρξη αυτής ($64.14\text{pg}/\text{ml}\pm 21.777$). Η αξιολογη αύξηση της ολικής τεστοστερόνης και η πτώση της οιστραδιόλης στον ορό του αίματος των ασθενών αυτής της ομάδας είχαν ως αποτέλεσμα την στατιστικά σημαντική ($p=0.012$) αύξηση του λόγου της T.Testo/E₂, από 0.05045 ± 0.048938 σε 0.07100 ± 0.048097 .

Στην ομάδα C, η οποία περιελάμβανε 22 υπογόνιμους άνδρες που έκαναν λήψη βαρδεναφίλης 5mg ημερησίως για 30 μέρες φάνηκε πως δεν υπήρχε ιδιαίτερη μεταβολή ($p=0.922$) στον όγκο του σπέρματος στον έλεγχο πριν ($1.918\text{ml}\pm 0.7028$) και μετά ($1.950\text{ml}\pm 0.6360$) τη θεραπεία. Η συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων μεταβλήθηκε, χωρίς αξιολογη αύξηση ($p=0.897$), από $16.295\times 10^6/\text{ml}\pm 14.8897$ σε $15.505\times 10^6/\text{ml}\pm 13.2862$ μετά από 30 ημέρες. Η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων δεν παρουσίασε αύξηση στατιστικά σημαντική ($p=0.149$), κυμαινόμενη από $25.55\%\pm 18.837$ πριν, σε $29.55\%\pm 17.320$ μετά τη θεραπεία με βαρδεναφίλη. Αντιθέτως, το ποσοστό των

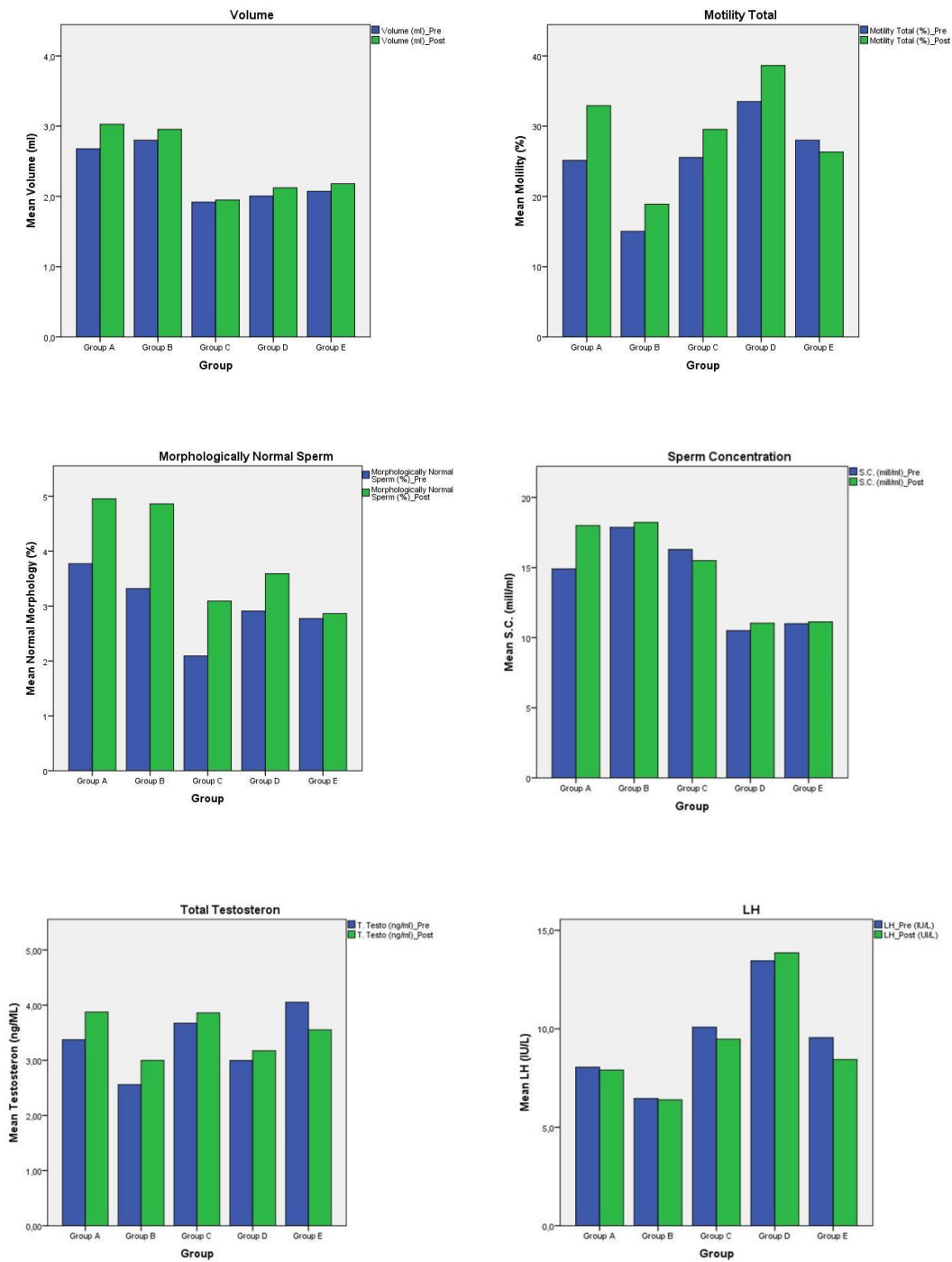
φυσιολογικών μορφών των σπερματοζωαρίων πριν ($2.09\% \pm 1.342$) σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές μετά τη χορήγηση βαρδεναφίλης ($3.09\% \pm 1.571$) εμφάνισε σημαντική αύξηση ($p=0.03$). Η μέτρηση στον ορό του περιφερικού αίματος της ολικής τεστοστερόνης των ασθενών της ομάδας αυτής παρουσίασε μια μικρή μεταβολή, όχι στατιστικά σημαντική ($p=0.181$) από $3.6727\text{ng/ml} \pm 2.32813$ πριν, σε $3.8591\text{ng/ml} \pm 2.06805$ μετά. Παρομοίως, στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.108$) δεν βρέθηκε στον υπολογισμό της συγκέντρωσης της LH πριν τη θεραπεία ($10.082\text{U/L} \pm 5.0101$) και μετά από αυτή ($9.473\text{U/L} \pm 3.3918$). Σχεδόν αμετάβλητη ($p=0.236$) παρέμεινε και η συγκέντρωση στον ορό του αίματος της FSH πριν τη θεραπεία ($11.077\text{U/L} \pm 4.9506$) και 30 μέρες μετά ($10.791\text{U/L} \pm 4.4740$). Στις τιμές μέτρησης της PRL στο αίμα των ανδρών πριν ($6.427\text{ng/ml} \pm 2.3210$), και μετά ($6.355\text{ng/ml} \pm 2.4761$) τη λήψη του φαρμάκου, δεν βρέθηκαν ιδιαίτερες μεταβολές ($p=0.570$). Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της E_2 στον ορό μετά τη θεραπεία ($65.27\text{pg/ml} \pm 14.564$) εμφάνισε μια μικρή μείωση, μη στατιστικά σημαντική ($p=0.06$), σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές πριν τη θεραπεία ($72.73\text{pg/ml} \pm 17.865$). Παρ' όλο που η πτώση της συγκέντρωσης της E_2 στον ορό του αίματος και η αύξηση της ολικής τεστοστερόνης μετά τη θεραπεία δεν ήταν στατιστικά σημαντική, ο λόγος της τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη μεταβλήθηκε από $0.05259 \pm 0,033892$ πριν, σε $0.06091 \pm 0,035424$ μετά, παρουσιάζοντας μια αξιόλογη μεταβολή ($p=0.03$).

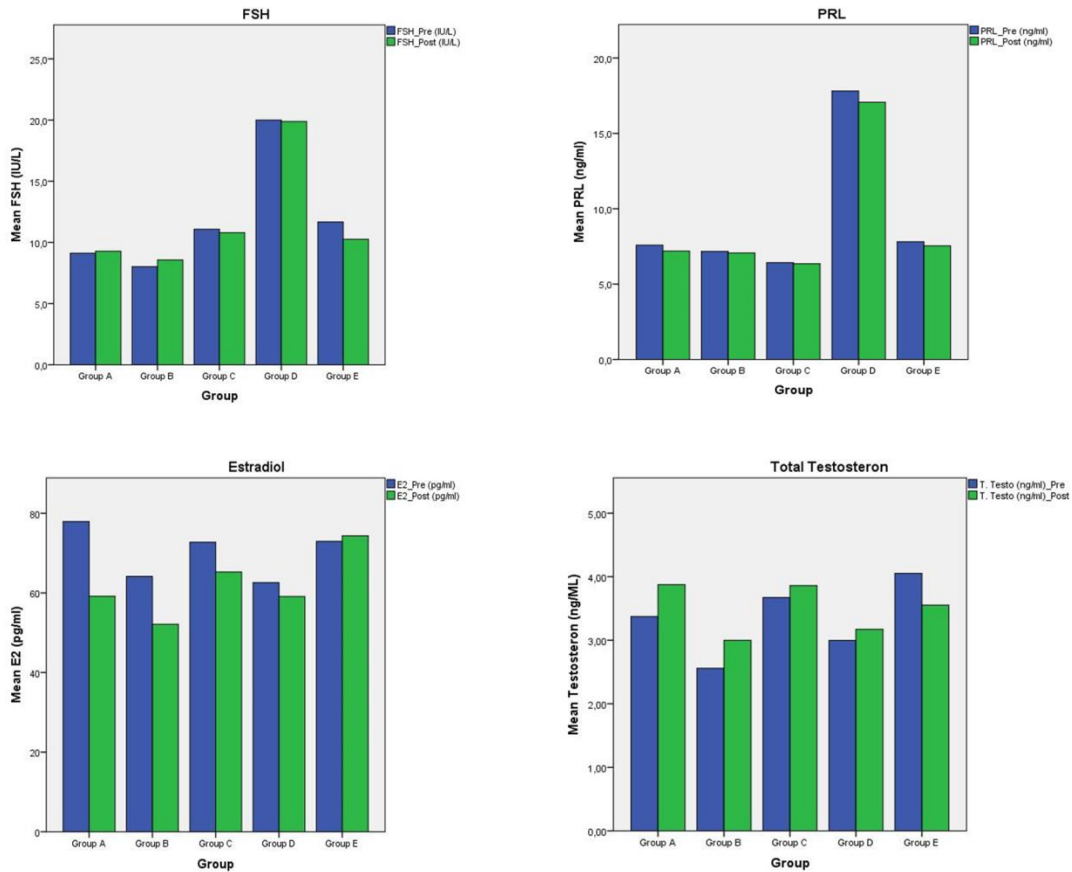
Στους άντρες της ομάδας D, στους οποίους χορηγήθηκε για 60 μέρες βαρδεναφίλη 5mg ημερησίως, δεν παρουσιάστηκε ιδιαίτερη μεταβολή του όγκου της εκσπερμάτισης ($p=0.120$) πριν ($2.005\text{ml} \pm 0.2257$) και μετά ($2.123\text{ml} \pm 0.4197$) τη θεραπεία. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των σπερματοζωαρίων, πριν ($10.505 \times 10^6/\text{ml} \pm 4.1309$) και μετά τη χορήγηση του φαρμάκου ($11.036 \times 10^6/\text{ml} \pm 7.313$), δεν παρουσίασε σημαντική στατιστική διαφορά ($p=0.485$). Η αύξηση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων μετά τη θεραπεία ($38.64\% \pm 15.199$) σε σχέση με αυτή που είχαν πριν ($33.5\% \pm 15.309$), δεν είχε στατιστική σημασία ($p=0.306$). Το ποσοστό των φυσιολογικών μορφών των σπερματοζωαρίων εμφάνισε σημαντική αύξηση ($p=0.025$) από $2.91\% \pm 1.411$ πριν σε $3.59\% \pm 1.054$ μετά τη θεραπεία. Η συγκέντρωση της τεστοστερόνης στον ορό του αίματος μεταβλήθηκε από $2.9977\text{ng/ml} \pm 0.8336$ πριν την χορήγηση της βαρδεναφίλης, σε $3.1718\text{ng/ml} \pm 0.88572$ μετά, χωρίς να παρουσιάζει μια σημαντική αύξηση ($p=0.306$). Η μέτρηση των επιπέδων της LH στον ορό κατά τη διάρκεια του επανελέγχου ($13.859\text{U/L} \pm 7.3434$) δεν ανέδειξε

σημαντική πτώση ($p=0.661$) σε σύγκριση με τις τιμές την έναρξης ($13.45\text{U/L}\pm 6.5027$). Κατά παρόμοιο τρόπο και ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της FSH πριν ($20.005\text{U/L}\pm 8.3946$) και μετά ($19.886\text{U/L}\pm 8.7061$) τη θεραπεία δεν ανέδειξε ιδιαίτερες μεταβολές ($p=0.603$). Οι διακυμάνσεις στις μετρήσεις στο περιφερειακό αίμα της PRL, πριν ($17.814\text{ng/ml}\pm 8.2555$) και μετά τη χορήγηση του φαρμάκου ($17.073\text{ng/ml}\pm 8.8487$), δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά αξιόλογες ($p=0.581$). Οι τιμές της E2 πριν ($65.59\text{pg/ml}\pm 19.422$), σε σχέση με αυτές μετά τη θεραπεία ($59.09\text{pg/ml}\pm 19.542$) δεν παρουσίασαν πτώση στατιστικά σημαντική ($p=0.091$). Αν και δεν υπήρχαν ιδιαίτερες μεταβολές στις τιμές της τεστοστερόνης και της οιστραδιόλης πριν και μετά τη θεραπεία, ο λόγος T.Testo/E₂ παρουσίασε μια στατιστικά σημαντική αύξηση ($p=0.024$), με τιμές που κυμαίνονταν από 0.05295 ± 0.024891 πριν, σε 0.06055 ± 0.027841 μετά τη χορήγηση του φαρμάκου.

Στην ομάδα ελέγχου (ομάδα E), που αποτελούσαν 22 υπογόνιμοι άνδρες οι οποίοι δεν πήραν κανένα φάρμακο και επανεξετάστηκαν 60 μέρες μετά τον πρώτο έλεγχο, φάνηκε πως δεν υπήρχε ιδιαίτερη μεταβολή ($p=0.535$) στον όγκο του σπέρματος πριν ($2.073\text{ml}\pm 0.6943$) και μετά τις 60 ημέρες ($2.182\text{ml}\pm 0.7378$). Η συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων κυμάνθηκε από $11.00\times 10^6/\text{ml}\pm 5.572$ πριν, σε $11.14\times 10^6/\text{ml}\pm 4.998$ μετά τον έλεγχο, χωρίς αξιόλογη αύξηση ($p=0.903$). Στατιστικά σημαντική μείωση ($p=0.795$) δεν παρουσίασε η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, που εμφάνισε μεταβολές από $25.55\%\pm 18.837$ πριν, σε $29.55\%\pm 17.320$ μετά τις 60 μέρες του επανελέγχου. Παρομοίως, το ποσοστό των φυσιολογικών μορφών των σπερματοζωαρίων πριν ($2.77\%\pm 1.824$) σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές του επανελέγχου ($2.86\%\pm 2.210$) δεν εμφάνισε ιδιαίτερη αύξηση ($p=0.739$). Η μέτρηση της ολικής τεστοστερόνης των ασθενών της ομάδας ελέγχου παρουσίασε μια μικρή πτώση, όχι στατιστικά σημαντική ($p=0.168$), από $4.0532\text{ng/ml}\pm 2.26084$ πριν, σε $3.5536\text{ng/ml}\pm 2.61307$ μετά. Κατ' ανάλογο τρόπο, στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.314$) δεν παρατηρήθηκε στον υπολογισμό της συγκέντρωσης της LH πριν ($9.550\text{U/L}\pm 4.8579$) και μετά τις 60 ημέρες ($9.259\text{U/L}\pm 5.3989$). Αμετάβλητη ($p=0.256$) παρέμεινε και η συγκέντρωση της FSH στον ορό του αίματος πριν ($11.673\text{U/L}\pm 7.4523$) και στον έλεγχο ($11.223\text{U/L}\pm 6.8753$). Οι τιμές μέτρησης της PRL στο αίμα των ανδρών, πριν ($7.814\text{ng/ml}\pm 3.1584$) και μετά ($7.541\text{ng/ml}\pm 2.9244$), δεν ανέδειξαν ιδιαίτερες μεταβολές ($p=0.445$). Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της E2 στον ορό μετά τις 60 ημέρες ($74.36\text{pg/ml}\pm 22.986$) εμφάνισε μια

μικρή μείωση, μη στατιστικά σημαντική ($p=0.559$), σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές πριν ($72.95\text{pg/ml}\pm 18.188$). Αναλόγως και ο λόγος της τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη υπολογίστηκε από $0.06106\pm 0,039477$ πριν, σε $0.05424\pm 0,046481$ μετά, χωρίς σημαντική μεταβολή ($p=0.236$).





Γράφημα 1. Μεταβολές των παραμέτρων που αξιολογήθηκαν στη μελέτη πριν και μετά τη θεραπεία σε κάθε ομάδα ασθενών.

Συνοψίζοντας, από την ανάλυση των αποτελεσμάτων της μελέτης προκύπτει ότι στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p < 0.05$) παρουσίασαν (**Πίνακας 6**):

- **στην ομάδα Α**, (n:22, που χορηγήθηκε σιλденаφίλη 12,5mg ημερησίως για 30 ημέρες), η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων (αύξηση κατά $p=0.037$), το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων (αύξηση κατά $p=0.044$), η συγκέντρωση στον περιφερειακό ορό του αίματος της οιστραδιόλης (μείωση κατά $p=0.006$), και ο λόγος της ολικής τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη (αύξηση κατά $p=0.011$).
- **στην ομάδα Β**, (n:22, που έκαναν λήψη σιλденаφίλης 12,5mg ημερησίως για 60 ημέρες), η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων (αύξηση κατά $p=0.043$), το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων (αύξηση κατά $p=0.021$), η συγκέντρωση στον περιφερειακό ορό του αίματος της ολικής

τεστοστερόνης (αύξηση κατά $p=0.018$), η συγκέντρωση στον περιφερειακό ορό του αίματος της οιστραδιόλης (μείωση κατά $p=0.019$), και ο λόγος της ολικής τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη (αύξηση κατά $p=0.012$).

- **στην ομάδα C**, (n:22, στην οποία δόθηκε βαρδεναφίλη 5mg ημερησίως για 30 ημέρες), το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων (αύξηση κατά $p=0.03$) και ο λόγος της ολικής τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη (αύξηση κατά $p=0.03$).

- **στην ομάδα D**, (n:22, που χορηγήθηκε βαρδεναφίλη 5mg ημερησίως για 60 ημέρες), το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων (αύξηση κατά $p=0.025$) και ο λόγος της ολικής τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη (αύξηση κατά $p=0.024$).

- **στην ομάδα E**, (n:22, ομάδα ελέγχου), δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή σε καμία από τις παραμέτρους που αξιολογήθηκαν στη μελέτη.

Πίνακας 6. Συνολικά αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης μελέτης

Mean (SD) variable	A		B		C		D		E	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
S.V. (ml)	2.6 (1.0)	3.0 (0.9)	2.8 (0.7)	2.9 (0.8)	1.9 (0.7)	1.9 (0.6)	2.0 (0.2)	2.1 (0.4)	2.0 (0.6)	2.1 (0.7)
S.C. ($\times 10^6$ /ml)	14.9 (11.4)	18.0 (10.8)	17.8 (7.6)	18.2 (8.4)	16.2 (14.8)	15.5 (13.2)	10.5 (4.1)	11.0 (7.3)	11.0 (5.5)	11.1 (5.5)
M.S. (%)	25.1 (16.2)	32.9 (20.3)*	15.0 (5.3)	18.9 (9.9)*	25.5 (18.3)	29.5 (17.3)	33.5 (15.3)	38.6 (15.1)	28.0 (18.6)	26.3 (18.6)
M.N.S. (%)	3.7 (2.3)	4.95 (2.3)*	3.3 (2.0)	4.8 (2.4)*	2.0 (1.3)	3.0 (1.5)*	2.9 (1.4)	3.5 (1.0)*	2.7 (1.8)	2.8 (2.2)
t. Testo (ng/ml)	3.3 (2.0)	3.8 (2.3)	2.5 (0.8)	3.0 (1.1)*	3.6 (2.3)	3.8 (2.0)	2.9 (0.8)	3.1 (0.8)	4.0 (2.2)	3.5 (2.6)
LH (IU/L)	8.0 (4.4)	7.9 (4.5)	6.4 (3.2)	6.4 (3.4)	10.0 (5.0)	9.4 (3.3)	13.4 (6.5)	13.8 (7.3)	9.5 (4.8)	9.2 (5.3)
FSH (IU/L)	9.1 (4.9)	9.2 (5.2)	8.0 (5.0)	8.5 (5.3)	11.0 (4.9)	10.7 (4.4)	20.0 (8.3)	19.8 (8.7)	11.6 (7.4)	11.2 (6.8)
PRL (ng/ml)	7.5 (2.6)	7.1 (2.2)	7.1 (3.5)	7.0 (3.2)	6.4 (2.3)	6.3 (2.4)	17.8 (8.2)	17.0 (8.8)	7.8 (2.9)	7.5 (2.9)
E2 (pg/ml)	77.9 (13.2)	59.1 (24.6)*	64.1 (21.7)	52.1 (22.7)*	72.7 (17.8)	65.2 (14.5)	62.5 (19.4)	59.0 (19.5)	72.9 (18.1)	74.3 (22.9)
t. Testo/E2	0.04 (0.02)	0.08 (0.10)*	0.05 (0.04)	0.07 (0.04)*	0.05 (0.03)	0.06 (0.03)*	0.05 (0.02)	0.06 (0.02)*	0.06 (0.03)	0.05 (0.04)

Group A (n.22): Χορήγηση Σιλδεναφίλης 12.5mg για 30 ημέρες
Group B (n.22): Χορήγηση Σιλδεναφίλης 12.5mg για 60 ημέρες
Group C (n.22): Χορήγηση Βαρδεναφίλης 5mg για 30 ημέρες
Group D (n.22): Χορήγηση Βαρδεναφίλης 5mg για 60 ημέρες
Group E (n.22): ομάδα ελέγχου μέτρησης σε 60 ημέρες
S.V. (ml): ο όγκος του σπέρματος
S.C. ($\times 10^6$ /ml): η συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων
M.S. (%): το ποσοστό των κινητών σπερματοζωαρίων
M.N.S. (%): το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων
t. Testo (ng/ml): η συγκέντρωση στον ορό του περιφερειακού αίματος της ολικής τεστοστερόνης
LH (IU/L): η συγκέντρωση στον ορό του περιφερειακού αίματος της ωχρινοτρόπου ορμόνης
FSH (IU/L): η συγκέντρωση στον ορό του περιφερειακού αίματος της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης
PRL (ng/ml): η συγκέντρωση στον ορό του περιφερειακού αίματος της προλακτίνης ορμόνης
E2 (pg/ml): η συγκέντρωση στον ορό του περιφερειακού αίματος της οιστραδιόλης
t. Testo/E2: λόγος της ολικής τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη
*** Στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) των μετρήσεων πριν (Pre) και μετά (Post) την πειραματική περίοδο της κάθε ομάδας.**

15. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η επίδραση των αναστολέων της PDE στις παραμέτρους του σπέρματος αποτέλεσε το επίκεντρο πολλών *in vivo* και *in vitro* ερευνητικών προσπαθειών. Ωστόσο, η πλειονότητα των μελετών που αξιολογούν τις επιδράσεις των αναστολέων της PDE στα σπερματοζωάρια, χρησιμοποίησαν μη επιλεκτικούς αναστολείς PDE. Οι πιο συχνοί μη εκλεκτικοί αναστολείς φωσφοδιεστερασών που χρησιμοποιήθηκαν ήταν στην αρχή βιολογικά υλικά, όπως περιτοναϊκό υγρό ή ωοθυλακικό υγρό και μετά χημικοί παράγοντες, όπως ανάλογα αδενοσίνης, προγεστερόνης και μεθυλξανθίνες.^{458,478} Όσον αφορά τις μεθυλξανθίνες, αυτές που χρησιμοποιήθηκαν περισσότερο στις μελέτες ήταν η θεοφυλλίνη, η καφεΐνη και η πεντοξυφυλλίνη, που φάνηκε να αυξάνουν την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, αλλά και την πρόιμη αυθόρμητη ακροσωμική αντίδραση.^{454,456,458,467,473} Αργότερα, με την ανακάλυψη επιλεκτικών αναστολέων για τις φωσφοδιεστεράσες στις πρώτες *in vitro* μελέτες χρησιμοποιήθηκαν αναστολείς των ισομορφών 1, (1A, 3^A) και 4, οι οποίες φάνηκε να έχουν επίδραση στην αντίδραση ακροσώματος των σπερματοζωαρίων, αλλά και κάποιες στην κινητικότητά τους.^{476,498} Ο Wayman με τους συνεργάτες του σε *in vitro* μελέτες πάνω σε PDE11^{-/-} knock-out ποντίκια αναφέρει πως στο εκσπερμάτιμά τους βρέθηκε μικρότερη συγκέντρωση σπερματοζωαρίων, με μειωμένη κινητικότητα, μικρότερο ποσοστό ζωντανών σπερματοζωαρίων και αύξηση της πρόιμη – αυθόρμητης ακροσωμικής αντίδρασης.⁴³¹

Αργότερα, με την ανάπτυξη των εκλεκτικών αναστολέων για την PDE5 (σιλденаφίλη, βαρδεναφίλη και τανταλαφίλη) έγιναν μελέτες για την επίδρασή τους στις παραμέτρους του σπέρματος, αλλά χορηγώντας τα φάρμακα αυτά σε υψηλές δοσολογίες, σύμφωνα με την εμπειρία που είχαμε από τα θεραπευτικά πρωτόκολλα για την αντιμετώπιση της σττυτικής δυσλειτουργίας.

Οι πρώτες μελέτες έχουν δείξει ότι η χορήγηση σιλденаφίλης σε υψηλές δόσεις, (50-100mg) είχαν ελλιπή επίδραση στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων και των παραμέτρων μορφολογίας τους.^{482,483,485,486,488} Ο Mostafa και οι συνεργάτες του, το 2007, παρουσίασαν μια δοσοεξαρτώμενη διεγερτική επίδραση της σιλденаφίλης στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων.⁴⁴⁹

Αργότερα, μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση σε ολιγοασθενοσπερμικούς άνδρες υψηλών δόσεων σιλденаφίλης ή βαρδεναφίλης προκαλούν μια θετική επίδραση στον αριθμό, αλλά και στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, η οποία προφανώς οφείλεται

σε μια καλύτερη εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Leydig που έχει ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της σπερματογένεσης και της διαδικασίας ωρίμανσης των σπερματοζωαρίων στην επιδιδυμίδα. Αυτό φαίνεται να οφείλεται στην αύξηση της συγκέντρωσης στο πλάσμα της INSL-3, που αποτελεί ένα δείκτη της εκκριτικής λειτουργίας των κυττάρων Leydig.⁴⁹³ Η ενίσχυση της εκκριτικής λειτουργίας των κυττάρων Leydig, εκτός από τη βελτίωση του βιοχημικού μικροπεριβάλλοντος των σπερματικών σωληναρίων, αυξάνει πιθανότατα και την ενδοεπιδιδυμική συγκέντρωση τεστοστερόνης, βελτιώνοντας τη διαδικασία ωρίμανσης του σπέρματος στην επιδιδυμίδα, αυξάνοντας την κινητικότητα του σπέρματος. Επίσης, η σιλδεναφίλη και η βαρδεναφίλη προκαλούν μια βελτίωση της εκκριτικής λειτουργίας του προστάτη, έχοντας θετική επίδραση στην κινητικότητα των σπερματοζωαρίων.^{434,499} Η αύξηση αυτή της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων από την βελτίωση της εκκριτικής λειτουργίας του προστάτη οφείλεται στην ενίσχυση της παραγωγής σπερμίνης κιτρικού οξέος, ψευδαργύρου και χοληστερόλης. Μελέτες σε υπογόνιμους αζωοσπερμικούς άνδρες αποφρακτικής και μη αποφρακτικής αιτιολογίας έχουν δείξει ότι η χορήγηση βαρδεναφίλης αυξάνει τη δραστηριότητα της ανδρογονοδεσμευτικής πρωτεΐνης, που αποτελεί δείκτη της εκκριτικής λειτουργίας των κυττάρων Sertoli.⁴⁹⁹ Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα κύτταρα Sertoli δεν έχουν υποδοχείς για τις PDE5, οι ερευνητές πιστεύουν πως ο μηχανισμός δράσης των PDE5i στην αύξηση της εκκριτικής λειτουργίας των κυττάρων Sertoli μάλλον οφείλεται σε θετική δράση αναστολέων στη εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Leydig, που στη συνέχεια ενισχύουν τη λειτουργία των κυττάρων Sertoli. Ο έμμεσος αυτός μηχανισμός δράσης, που προτείνεται από κάποιες μελέτες,^{493,500} βασίζεται στη συσσώρευση του cGMP από την επίδραση των PDE5i, που θα μπορούσε να εμπλέκεται στην εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Leydig και στη συνέχεια στη διέγερση της βιοσύνθεσης των ανδρογόνων. Η αύξηση στην εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Leydig, μπορεί με τη σειρά της να διεγείρει την εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Sertoli, καθώς είναι γνωστό ότι αυτή εξαρτάται από τη λειτουργία των κυττάρων Leydig.^{501,502}

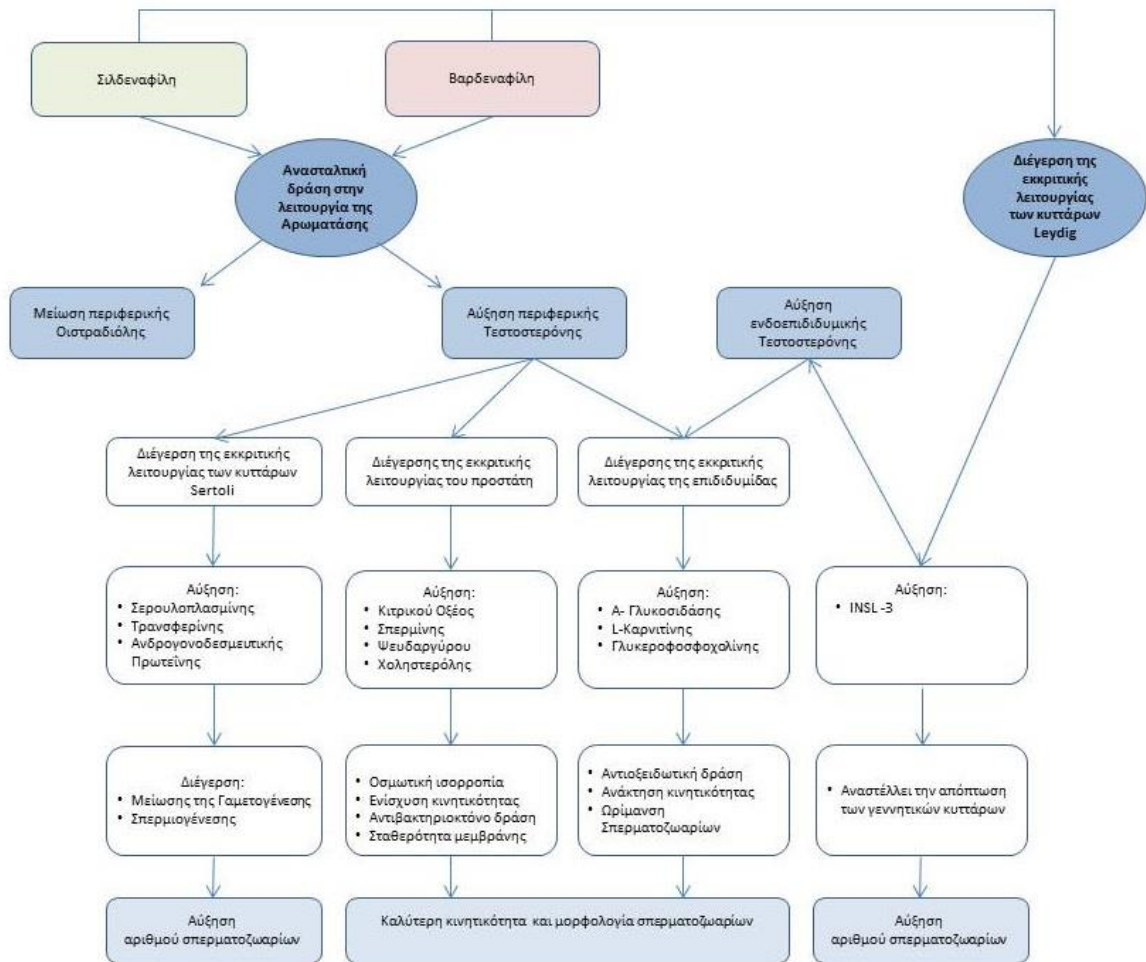
Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός, με τον οποίο μπορούμε να εξηγήσουμε την αύξηση της εκκριτικής λειτουργίας των κυττάρων Sertoli μετά τη χορήγηση βαρδεναφίλης, είναι η απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων ή άλλων ουσιών από τα περισωλιναριακά κύτταρα που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν θετικά την εκκριτική λειτουργία των κυττάρων Sertoli.⁵⁰³ Τα περισωλιναριακά κύτταρα είναι γνωστό ότι εκφράζουν PDE5⁵⁰⁴ και έτσι μπορούν να διεγερθούν από την βαρδεναφίλη, έχοντας ως αποτέλεσμα την αύξηση της έκκρισης της ανδρογονοδεσμευτικής πρωτεΐνης (ABP).

Αν και είναι γνωστό ότι στα κύτταρα Sertoli έχουν απομονωθεί υποδοχείς για τους PDE τύπου 1, δεν υπάρχει βιβλιογραφική αναφορά για την έκφραση της ισομορφής 5 των PDE στα κύτταρα αυτά.^{423,505} Αυτό δεν μπορεί να αποκλείσει την υπόθεση της άμεσης δράσης της βαρδεναφίλης στα κύτταρα Sertoli, αναστέλλοντας την PDE1, έχοντας ως αποτέλεσμα την αύξηση της εκκριτικής λειτουργίας των κυττάρων Sertoli. Από την άλλη πλευρά, μελέτες έχουν δείξει πως η βαρδεναφίλη έχει μόνο μέτρια ισχύ έναντι του PDE1.⁵⁰⁶

Παρά το γεγονός ότι οι επιδράσεις των αναστολέων PDE5 στην κινητικότητα και τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων έχουν ερευνηθεί σε δόσεις θεραπευτικές για τη στυτική δυσλειτουργία, δεν υπάρχουν μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση στις παραμέτρους του σπέρματος χαμηλών δόσεων PDE5i, όπως εξετάσαμε στην παρούσα μελέτη.

Οι δράσεις των αναστολέων PDE5 κατά την παραγωγή τεστοστερόνης έχουν μελετηθεί εκτεταμένα σε μοντέλα αρουραίων. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι η αναστολή της δραστηριότητας της PDE5 μετά από παρατεταμένη θεραπεία με σιλденаφίλη προκαλεί αύξηση του επιπέδου της τεστοστερόνης στον ορό του αίματος και της ικανότητας στεροειδογένεσης των κυττάρων Leydig, με διέγερση της οδού cAMP και cGMP.⁵⁰⁷ Επίσης, η οξεία χορήγηση σιλденаφίλης σε αρουραίους αυξάνει τον όγκο του ενδιάμεσου υγρού στον όρχι, αλλά επίσης διεγείρει την παραγωγή τεστοστερόνης, η οποία μπορεί να είναι σημαντική, λαμβάνοντας υπόψη το θετικό αποτέλεσμα της τεστοστερόνης στη ρύθμιση της σεξουαλικής δραστηριότητας. Έχει αναφερθεί πως η οξεία χορήγηση σιλденаφίλης διεγείρει την παραγωγή τεστοστερόνης, υποδηλώνοντας επιπλοκές για τη ρύθμιση της σεξουαλικής δραστηριότητας.⁵⁰⁸ Η μακροχρόνια χορήγηση τανταλαφίλης 10mg και 20mg σε άνδρες με ED σχετίζεται με αύξηση της αναλογίας τεστοστερόνης: οιστραδιόλης (T/E2) στον ορό του περιφερειακού αίματος, κυρίως λόγω σημαντικής μείωσης των επιπέδων της E₂.⁵⁰⁹

Σε *in vitro* μοντέλα ανθρώπινων οστεβλαστικών κυττάρων, η χορήγηση τανταλαφίλης ανέδειξε μείωση της έκφρασης της αρωματάσης και μια διαμόρφωση των υποδοχέων των στεροειδών, υποδεικνύοντας έντονα ένα νέο έλεγχο της οδού των στεροειδών ορμονών από τους PDE5i (**Σχήμα 1**).⁵¹⁰



Σχήμα 1. Σχηματική απεικόνιση της δράσης χαμηλών δόσεων της Σιλδεναφίλης και της Βαρδεναφίλης στις παραμέτρους του σπέρματος

16. ΤΕΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Γνωρίζουμε από παλαιότερες μελέτες την ευεργετική δράση των αναστολέων των PDE5 στην κινητικότητα και τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων σε δόσεις υψηλές, όπως αυτές που γνωρίζαμε για τη θεραπεία της στυτικής δυσλειτουργίας. Στην παρούσα έρευνα, που είναι μοναδική στη διεθνή βιβλιογραφία, μελετήθηκε η επίδραση χαμηλών δόσεων εκλεκτικών αναστολέων της φωσφοδιεστεράσης-5 (σιλδεναφίλη 12,5mg και βαρδεναφίλη 5mg) στις παραμέτρους του σπέρματος και στο ορμονικό profile των ανδρών που πήραν μέρος στη μελέτη και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με αυτά που πάρθηκαν από μια ομάδα ελέγχου. Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων της έρευνας αυτής προκύπτει ότι η χορήγηση σιλδεναφίλης αυξάνει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, ενώ το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων και ο λόγος της ολικής τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη αυξάνονται στατιστικά σημαντικά μετά τη θεραπεία τόσο με σιλδεναφίλη όσο και με βαρδεναφίλη. Η θετική επίδραση των εκλεκτικών αναστολέων της PDE5 στην κινητικότητα και τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων μάς κάνει να ελπίζουμε στην ένταξη των φαρμάκων αυτών στις θεραπευτικές φαρμακευτικές επιλογές του ουρολόγου για την αντιμετώπιση της ανδρικής υπογονιμότητας. Επίσης, η αύξηση του λόγου της ολικής τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη, που παρατηρήθηκε στους άντρες της μελέτης, η οποία μπορεί να εκφραστεί ως μια ανασταλτική δράση των φαρμάκων αυτών στη λειτουργία της αρωματάσης, σε συνδυασμό με το γεγονός της υπερέκφρασης των PDE5 σε διάφορους καρκινικούς ιστούς μάς ανοίγει νέους ερευνητικούς ορίζοντες για την πιθανή χρήση των PDE5i σαν αντινεοπλασματικά φάρμακα.

Αναμφίβολα, απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να αποσαφηνιστεί εάν στο μέλλον οι εκλεκτικοί αναστολείς της PDE θα χρησιμοποιηθούν ως βοηθητικό εργαλείο για την αντιμετώπιση της ανδρικής υπογονιμότητας.

17. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο σκοπός της παρούσας κλινικής διατριβής ήταν η μελέτη της επίδρασης χαμηλών δόσεων αναστολέων της φωσφοδιεστεράσης 5 (Σιλденаφίλης και Βαρδεναφίλης) στις ποσοτικές και ποιοτικές παραμέτρους του σπέρματος και στις αναπαραγωγικές ορμόνες υπογόνιμων ανδρών. Το πρωτόκολλο της έρευνας βασίστηκε σε ένα σύνολο 110 υπογόνιμων ανδρών που χωρίστηκε σε 4 ομάδες. Στους 22 άνδρες που εντάχθηκαν στην ομάδα Α (n=22) χορηγήθηκε σιλденаφίλη 12,5mg ημερησίως για 30 ημέρες. Στην ομάδα Β, που αποτέλεσαν 22 υπογόνιμοι άνδρες (n=22), δόθηκε καθημερινά σιλденаφίλη 12,5mg για 60 ημέρες. Η ομάδα C περιελάμβανε άλλους 22 ασθενείς (n=22), οι οποίοι για 30 μέρες έκαναν λήψη βαρδεναφίλης 5mg ημερησίως. Στους 22 ασθενείς που επιλέχθηκαν για την ομάδα D (n=22) χορηγήθηκε καθημερινά βαρδεναφίλη 5mg για 60 ημέρες. Τέλος, στην ομάδα Ε εντάχθηκαν άλλοι 22 υπογόνιμοι άνδρες (n=22) που αποτέλεσαν την ομάδα παρακολούθησης (control group), χωρίς να λάβουν καμιά φαρμακευτική αγωγή για τις 60 ημέρες που παρακολουθήθηκαν. Όλοι οι άντρες από κάθε ομάδα υποβλήθηκαν πριν τη μελέτη και 48 ώρες μετά την τελευταία δόση του φαρμάκου σε εξετάσεις σπέρματος και ορμονικό έλεγχο.

Σε κάθε δείγμα σπέρματος προσδιορίστηκε ο όγκος του σπέρματος (ml), η συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων ($\times 10^6/\text{ml}$), το ποσοστό των κινητών σπερματοζωαρίων την 1^η ώρα (MS%), και το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων (MNS%). Το σύνολο των υπογόνιμων ανδρών που εντάχθηκαν στη μελέτη υποβλήθηκε σε ορμονολογικό έλεγχο που περιελάμβανε τη μέτρηση στον ορό του περιφερικού αίματος των τιμών της ολικής τεστοστερόνης – T. Testo (ng/ml), της προλακτίνης – PRL (ng/ml), της οιστραδιόλης - E2 (pg/ml), της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης – FSH (IU/ml) και της ωχρινοτρόπου ορμόνης - LH (IU/ml). Υπολογίστηκε, τέλος, ο λόγος ολικής τεστοστερόνης/οιστραδιόλης.

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων της έρευνας αυτής προκύπτει ότι η χορήγηση σιλденаφίλης αυξάνει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, ενώ το ποσοστό των μορφολογικά φυσιολογικών σπερματοζωαρίων και ο λόγος της ολικής τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη αυξάνονται στατιστικά σημαντικά μετά τη θεραπεία τόσο με σιλденаφίλη όσο και με βαρδεναφίλη. Η θετική επίδραση των εκλεκτικών αναστολέων της PDE5 στην κινητικότητα και τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων μάς κάνει να

ελπίζουμε στην ένταξη των φαρμάκων αυτών στις θεραπευτικές φαρμακευτικές επιλογές του ουρολόγου για την αντιμετώπιση της ανδρικής υπογονιμότητας. Επίσης, η αύξηση του λόγου της ολικής τεστοστερόνης προς την οιστραδιόλη, που παρατηρήθηκε στους άντρες της μελέτης, η οποία μπορεί να εκφραστεί σαν μια ανασταλτική δράση των φαρμάκων αυτών στη λειτουργία της αρωματάσης, σε συνδυασμό με το γεγονός της υπερέκφρασης των PDE5 σε διάφορους καρκινικούς ιστούς, μας ανοίγει νέους ερευνητικούς ορίζοντες για την πιθανή χρήση των PDE5i σαν αντινεοπλασματικά φάρμακα.

Αναμφίβολα, απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να διασαφηνιστεί εάν στο μέλλον οι εκλεκτικοί αναστολείς της PDE θα χρησιμοποιηθούν ως βοηθητικό εργαλείο για την αντιμετώπιση της ανδρικής υπογονιμότητας.

18. ABSTRACT

The purpose of this clinical thesis was to study the effect of low doses of phosphodiesterase 5 inhibitors (sildenafil and vardenafil) on the quantitative and qualitative parameters of sperm and reproductive hormones in infertile male. The research protocol was based on a total of 110 infertile men divided into 4 groups. The 22 men in Group A (n = 22) were administered sildenafil 12.5 mg daily for 30 days. Group B comprising of 22 infertile men (n = 22) was given daily sildenafil 12.5mg for 60 days. Group C included another 22 patients (n = 22) who were receiving vardenafil 5mg daily for 30 days. The 22 patients selected for group D (n = 22) were administered vardenafil 5mg daily for 60 days. Finally, group E included another 22 infertile men (n = 22) who formed the control group without receiving any medication for the 60-day follow-up. All men from each group underwent sperm testing and hormone testing before the study and 48 hours after the last dose of the drug.

Sperm volume (ml), sperm concentration ($\times 10^6/\text{ml}$), percentage of motile spermatozoa at 1 hour (MS%), and percentage morphologically normal sperm (MNS%) were determined in each sperm sample. All of the infertile men included in the study were subjected to hormone testing that included total testosterone - T. Testo (ng/ml), prolactin - PRL (ng/ml), estradiol - E2 (pg/ml), follicle stimulating hormone - FSH (IU/ml) and luteinizing hormone - LH (IU/ml) on the peripheral blood serum. Finally, the testosterone / estradiol ratio was also calculated.

The analysis of the results of this study shows that sildenafil administration increases sperm motility while the percentage of morphologically normal spermatozoa and the ratio of total testosterone to estradiol increase statistically significantly after treatment with either sildenafil or vardenafil. The positive effect of selective inhibitors of PDE5 in motility and morphology of sperm makes us hope in the integration of these drugs into the urologist's therapeutic pharmaceutical options for treating male infertility. Also, the increase in the ratio of total testosterone to estradiol observed in men of the study, which may be expressed as an inhibitory effect of these drugs on aromatase function, in combination with the fact that PDE5 is overexpressed in various cancerous tissues opens new horizons in research for the possible use of PDE5i as antineoplastic drugs.

Further studies are undoubtedly needed to clarify whether in the future PDE selective inhibitors will be used as an auxiliary tool in the treatment of male infertility.

19. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Eurostat. Fertility indicators 2017. Statistic Explained 2017:https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=File:Fertility_indicators,_2017.png.
2. Tortora GJ, Derrickson BH. Principles of Anatomy and Physiology. The reproductive systems: Wiley; 2018.
3. Σάββας Α. Επίτομη ανατομική του ανθρώπου και άτλας. . 1989;Τόμος Δεύτερος.
4. Jarow JP. Clinical significance of intratesticular arterial anatomy. J Urol 1991;145:777-9.
5. Παπαδόπουλος Η. Ανδρολογία. Παθήσεις των γεννητικών οργάνων του άρρενος. Ιατρικές εκδόσεις Ζήτα 1990.
6. Cleveland P. Hickman LSR, Allan Larson. Ζωολογία. Ολοκληρωμένες αρχές. Επιμέλεια: Μαρία Αποστολοπούλου Μετάφραση: Μ Αποστολοπούλου, Μ Βείνη, Μ Θεσσαλού - Λεγάκη 2002; Από τις εκδόσεις Ίων:581.
7. Turner TT, Lopez TJ. Testicular blood flow in peripubertal and older rats with unilateral experimental varicocele and investigation into the mechanism of the bilateral response to the unilateral lesion. J Urol 1990;144:1018-21.
8. Johnson L, Varner DD. Effect of daily spermatozoan production but not age on transit time of spermatozoa through the human epididymis. Biol Reprod 1988;39:812-7.
9. Wetterauer U. Recommended biochemical parameters for routine semen analysis. Urol Res 1986;14:241-6.
10. Weiske WH. Pregnancy caused by sperm from vasa efferentia. Fertil Steril 1994;62:642-3.
11. Setchell BP. Secretions of the testis and epididymis. J Reprod Fertil 1974;37:165-77.
12. Hinton BT, Setchell BP. Fluid movement in the seminiferous tubules and the epididymal duct of the rat [proceedings]. J Physiol 1978;284:16P-7P.
13. Banks FC, Knight GE, Calvert RC, Thompson CS, Morgan RJ, Burnstock G. The purinergic component of human vas deferens contraction. Fertil Steril 2006;85:932-9.
14. Cooper TG. In defense of a function for the human epididymis. Fertil Steril 1990;54:965-75.
15. Hinton BT, Palladino MA, Rudolph D, Labus JC. The epididymis as protector of maturing spermatozoa. Reprod Fertil Dev 1995;7:731-45.
16. Rao KA. Principles and Practice of Assisted Reproductive Technology: Three Volume Set: Jaypee Brothers,Medical Publishers Pvt. Limited; 2018.
17. Guyton Arthur C. ΗΙΕ. Ιατρική φυσιολογία. Μεταφραστής: Χατζημηνάς Ι, Εκδότης Παρισιάνου Μ 1998:687.
18. Μπαρμπαλιάς ΓΑ. Ουρολογία. Εκδόσεις Τυπόραμα 1998;1η έκδοση.
19. Μελέκος Μ. Σύγχρονη Ουρολογία Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης ΠΧ 2005:689.
20. Άγιος ΕΑ. Περιγραφική και εφαρμοσμένη ανατομική. University Studio Press 2008:700.
21. Hinman F. Prostate, urinary sphincters and seminal vesicles: structure and function. In: Hinman FJ, Atlas of Urosurgical Anatomy. Saunders, Philadelphia 1993:355-72.
22. McNeal JE. Regional morphology and pathology of the prostate. Am J Clin Pathol 1968;49:347-57.
23. McNeal JE. Origin and development of carcinoma in the prostate. Cancer 1969;23:24-34.
24. McNeal JE. Origin and evolution of benign prostatic enlargement. Invest Urol 1978;15:340-5.
25. McNeal JE. Anatomy of the prostate: an historical survey of divergent views. Prostate 1980;1:3-13.
26. McNeal JE, Price HM, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Stage A versus stage B adenocarcinoma of the prostate: morphological comparison and biological significance. J Urol 1988;139:61-5.

27. Breza J, Aboseif SR, Orvis BR, Lue TF, Tanagho EA. Detailed anatomy of penile neurovascular structures: surgical significance. *J Urol* 1989;141:437-43.
28. Furusato M, Mostofi FK. Intraprostatic lymphatics in man: light and ultrastructural observations. *Prostate* 1980;1:15-23.
29. Villers A, McNeal JE, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. The role of perineural space invasion in the local spread of prostatic adenocarcinoma. *J Urol* 1989;142:763-8.
30. Aumuller G. Morphologic and endocrine aspects of prostatic function. *Prostate* 1983;4:195-214.
31. Sherwood ER, Theyer G, Steiner G, Berg LA, Kozlowski JM, Lee C. Differential expression of specific cytokeratin polypeptides in the basal and luminal epithelia of the human prostate. *Prostate* 1991;18:303-14.
32. Merk FB, Warhol MJ, Kwan PW, et al. Multiple phenotypes of prostatic glandular cells in castrated dogs after individual or combined treatment with androgen and estrogen. Morphometric, ultrastructural, and cytochemical distinctions. *Lab Invest* 1986;54:442-56.
33. Albrecht M, Doroszewicz J, Gillen S, et al. Proliferation of prostate cancer cells and activity of neutral endopeptidase is regulated by bombesin and IL-1beta with IL-1beta acting as a modulator of cellular differentiation. *Prostate* 2004;58:82-94.
34. Abrahamsson PA, Lilja H. Partial characterization of a thyroid-stimulating hormone-like peptide in neuroendocrine cells of the human prostate gland. *Prostate* 1989;14:71-81.
35. Costello LC, Franklin RB. Novel role of zinc in the regulation of prostate citrate metabolism and its implications in prostate cancer. *Prostate* 1998;35:285-96.
36. Gallus S, Foschi R, Negri E, et al. Dietary zinc and prostate cancer risk: a case-control study from Italy. *Eur Urol* 2007;52:1052-6.
37. Goel T, Sankhwar SN. Comparative study of zinc levels in benign and malignant lesions of the prostate. *Scand J Urol Nephrol* 2006;40:108-12.
38. Purnell JQ, Bland LB, Garzotto M, et al. Effects of transdermal estrogen on levels of lipids, lipase activity, and inflammatory markers in men with prostate cancer. *J Lipid Res* 2006;47:349-55.
39. Fadika GO, Gambhir KK, Neurarker SG, et al. The effect of citrate and polyamines on human benign prostate in organ culture. *J Natl Med Assoc* 1985;77:787-92.
40. Fu S, Zou X, Wang X, Liu X. Determination of polyamines in human prostate by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1998;709:297-300.
41. Srinath P, McQuarrie SA, Suresh MR. Comparative uptake of polyamines by prostate and non-prostate cancer cell lines. *Nucl Med Biol* 2002;29:497-503.
42. Lilja H. A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest* 1985;76:1899-903.
43. Rittenhouse HG, Finlay JA, Mikolajczyk SD, Partin AW. Human Kallikrein 2 (hK2) and prostate-specific antigen (PSA): two closely related, but distinct, kallikreins in the prostate. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1998;35:275-368.
44. Haseltine F, Ohno S. Mechanisms of gonadal differentiation. *Science* 1981:1272-8.
45. Αγγελούπουλου Ρ. Εμβρυολογία: Αθήνα: Ιατρικές εκδόσεις "Π.Χ Πασχαλίδης" 1993.
46. Reyes FI, Boroditsky RS, Winter JS, Faiman C. Studies on human sexual development. II. Fetal and maternal serum gonadotropin and sex steroid concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 1974;38:612-7.
47. Φαρή-Κωστοπούλου Ε. Εμβρυολογία του ουροποιητικού συστήματος. Αθήνα: Εκδόσεις ΒΗΤΑ; 1993.
48. Ransley P, Μιχαήλ Β ΑΦ. Ανωμαλίες της ουροδόχου κύστης και της ουρήθρας. Αθήνα: Εκδόσεις ΒΗΤΑ; 1993.
49. Bellinger MF. Embryology of the male external genitalia. *Urol Clin North Am* 1981;8:375-82.

50. Glenister TW. The origin and fate of the urethral plate in man. *J Anat* 1954;88:413-25.
51. Retik AB, Borer G. Hypospadias. . In: Campbell's Urology Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Jr, et al (Eds) 2002;Philadelphia: WB Saunders:2284-333.
52. Stephens FD, Smith ED, Hutson JM. Embryogenesis of hypospadias. In: Congenital anomalies of the urinary and genital tracts Stephens FD (Ed) 1996;Oxford, UK: Isis Medical Media Ltd:80-90.
53. Werdelin L, Nilsson A. The evolution of the scrotum and testicular descent in mammals: a phylogenetic view. *J Theor Biol* 1999;196:61-72.
54. Williams M, Hutson J. The phylogeny of testicular descent. *Pediatr Surg Int* 1991;6:162-6.
55. Moore CR. The biology of the mammalian testis and scrotum. *Quart Rev Biol* 1926;1:4.
56. Cowles RB. The evolutionary significance of the scrotum. *Evolution* 1958:417-8.
57. Carrick FN, Setchell BP. The evolution of the scrotum. Cambera: Australian Academy of Science; 1977.
58. Bedford JM. Evolution of the scrotum: the epididymis as the prime mover? . In: Tyndale-Biscoe JCH, ed. Reproduction and evolution. Cambera: Australian Academy of Science; 1977:171-82.
59. Setchell BP. The Parkes Lecture. Heat and the testis. *J Reprod Fertil* 1998;114:179-94.
60. Cowles R. Hyperthermia, aspermia, mutation rates and evolution. *Q Rev Biol* 1965;40:341-67.
61. Jameson E. Vertebrate reproduction. New York: John Wiley and Sons 1988.
62. Waites G. Temperature regulation and the testis. In: Johnson AD, Gomes WR, VanDemark NL, eds *The Testis* New York: Academic Press 1970:241-79.
63. Waites GM, Moule GR. Relation of vascular heat exchange to temperature regulation in the testis of the ram. *J Reprod Fertil* 1961;2:213-24.
64. Kinzey WG. Male reproductive system and spermatogenesis. In: Hafez ESE, ed. *Comparative Reproduction of Nonhuman Primates*. Springfield IL: Charles C Tomas; 1971:85-114.
65. Williams M, Hutson J. The history of ideas about testicular descent 1991.
66. Freeman S. The evolution of the scrotum: a new hypothesis. *J Theor Biol* 1990;145:429-45.
67. Hutson JM, Beasley SW. *Descent of the Testis*. London: Edward Arnold; 1992.
68. Setchell BP. *The mammalian testis*. Ithaca, N.Y: Cornell University Press; 1978.
69. Bedford JM. Anatomical evidence for the epididymis as the prime mover in the evolution of the scrotum. *Am J Anat* 1978;152:483-507.
70. Blix AS, Fay FH, Ronald K. On testicular cooling in phocid seals. *Polar Res* 1983;1:231-3.
71. Rommel SA, Early GA, Matassa KA, Pabst DA, McLellan WA. Venous structures associated with thermoregulation of phocid seal reproductive organs. *Anat Rec* 1995;243:390-402.
72. Rommel SA, Pabst DA, McLellan WA, Mead JG, Potter CW. Anatomical evidence for a countercurrent heat exchanger associated with dolphin testes. *Anat Rec* 1992;232:150-6.
73. Pabst DA, Rommel SA, McLellan WA, Williams TM, Rowles TK. Thermoregulation of the intra-abdominal testes of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) during exercise. *J Exp Biol* 1995;198:221-6.
74. Macdonald D. *The encyclopedia of mammals*. London: Unwin Hynam; 1984.
75. Hanks J. Comparative aspects of reproduction in the male hyrax and elephant. In: JG Calaby HT-B, ed. *Reproduction and evolution*. Cambera: Australian Academy of Science; 1977:155-64.
76. Glover TD, Sale JB. The reproductive system of male rock hyrax (*Procavia and Heterohyrax*). *J Zool Lond* 1968;156:351-62.
77. Gaeth AP, Short RV, Renfree MB. The developing renal, reproductive, and respiratory systems of the African elephant suggest an aquatic ancestry. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:5555-8.
78. Waites GM. Temperature regulation and the testis. In: Johnson AD, Gomes WR, VanDemark NL, eds. *The Testis*. New York: Academic Press; 1970:241-79.

79. Short RV. The testis: the witness of the mating system, the site of mutation and the engine of desire. *Acta Paediatr Suppl* 1997;422:3-7.
80. Shimmin LC, Chang BH, Li WH. Male-driven evolution of DNA sequences. *Nature* 1993;362:745-7.
81. Shimmin LC, Chang BH, Li WH. Contrasting rates of nucleotide substitution in the X-linked and Y-linked zinc finger genes. *J Mol Evol* 1994;39:569-78.
82. Cowles RB. Hyperthermia, aspermia, mutation rates and evolution. *Q Rev Biol* 1965;40:341-67.
83. Ehrenberg L, Ehrenstein GV, Hedgran A. Gonadal temperatures and spontaneous mutation rates in man. *Nature* 1957;180:1433-4.
84. Portman A. *Animal forms and Patterns*. New York: Schocken; 1952.
85. Harrison RM, Lewis RW. The male reproductive tract and its fluids. In: Dukelow WR, Ervin J, eds. *Comparative Primate Biology*. New York: Alan R Liss; 1986.
86. Wolfson A. Sperm storage at lower-than-body temperature outside the body cavity of some passerine birds. *Science* 1954;120:68-71.
87. Glover TD. Aspects of sperm production in some East African mammals. *J Reprod Fertil* 1973;35:45-53.
88. Harrison RJ. Reproduction and reproductive organs. In: Anderson H, ed. *The biology of marine mammals*. London: Academic Press; 1969:253-348.
89. Woodal PF. The male reproductive system and the phylogeny of elephant-shrews. *Mammal Rev* 1995; 25:87-93.
90. Waites GM, Sethell BP, ., In: . (ed), , pp. , . Some physiological aspects of the function of the testis. In: Meckerns K, ed. *The gonads*. New York: Appleton-Century-Crofts; 1969:649-714.
91. Eckert R, Randall D. *Animal physiology*. New York: Freeman; 1983.
92. Ginsberg JR, Huck UW. Sperm competition in mammals. *Trends Ecol Evol* 1989;4:74-9.
93. Weil C. Über den Descensus testicularum, nebst Bemerkungen über die Entwicklung der Scheidenhaut und des Skrotums. *Z Heilk* 1888;5:225-35.
94. Hunter J. Observation on the state of the testis, and on hernia congenita 1762.
95. Hunter J. A description of the situation of the testis in the foetus, with its descent into the scrotum. London, 13 Castle St: 13; 1786.
96. Heyns CF, Hutson JM. Historical review of theories on testicular descent. *J Urol* 1995;153:754-67.
97. Cleland J. The mechanism of the gubernaculum testis, with an introductory sketch of the development of the testes, and an appendix on the purpose of their descent from the abdomen. Edinburgh: Maclachan and Stewart; 1856.
98. Hutson JM, Hasthorpe S, Heyns CF. Anatomical and functional aspects of testicular descent and cryptorchidism. *Endocr Rev* 1997;18:259-80.
99. Hutson JM. A biphasic model for the hormonal control of testicular descent. *Lancet* 1985;2:419-21.
100. Backhouse KM. Embryology of testicular descent and maldescent. *Urol Clin North Am* 1982;9:315-25.
101. Heyns CF. The gubernaculum during testicular descent in the human fetus. *J Anat* 1987;153:93-112.
102. Wensing CJ. Testicular descent in the rat and a comparison of this process in the rat with that in the pig. *Anat Rec* 1986;214:154-60.
103. Hadziselimovic F, Herzog B, Kruslin E. Morphological background of estrogen-induced cryptorchidism in the mouse. *Pediatr Adolesc Endocrinol* 1979;6:79-87.
104. Schneck FX, Bellinger MF. Abnormalities of the testes and scrotum and their surgical management. In: CP Walsh AR, et al, ed. *Campbells Urology*. Philadelphia: Saunders; 2002:2353-77.

105. Wensing CJ. Testicular descent in some domestic mammals 2. The nature of the gubernacular change during the process of testicular descent in the pig. *Proc K Ned Akad Wet C* 1973;76:190-5.
106. Wensing CJ. Testicular descent in some domestic mammals 1. Anatomical aspects of testicular descent. *Proc K Ned Akad Wet C* 1968;71:423-4.
107. Clarnette TD, Hutson JM, Beasley SW. Factors affecting the development of the processus vaginalis in the rat. *J Urol* 1996;156:1463-6.
108. Heyns CF. The gubernaculum during testicular descent and maldescent. *Urol Clin N Am* 1982;9:315-25.
109. Gier HT, Marion GB. Development of mammalian testes and genital ducts. *Biol Reprod* 1969;1 Suppl:1-23.
110. Elder JS, Isaacs JT, Walsh PC. Androgenic sensitivity of the gubernaculum testis: evidence for hormonal/mechanical interactions in testicular descent. *J Urol* 1982;127:170-6.
111. Frey HL, Peng S, Rajfer J. Synergy of abdominal pressure and androgens in testicular descent. *Biol Reprod* 1983;29:1233-9.
112. Frey HL, Rajfer J. Role of the gubernaculum and intraabdominal pressure in the process of testicular descent. *J Urol* 1984;131:574-9.
113. Quinlan DM, Gearhart JP, Jeffs RD. Abdominal wall defects and cryptorchidism: an animal model. *J Urol* 1988;140:1141-4.
114. Hutson JM, Terada M, Zhou B, Williams MP. Normal testicular descent and the aetiology of cryptorchidism. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 1995;132:1-56.
115. Zhengwei Y, Wreford NG, Bremner WJ, Matsumoto AM, Anawalt BA, McLachlan RI. Immature spermatids are not prevalent in semen from men who are receiving androgen-based contraceptive regimens. *Fertil Steril* 1998;69:89-95.
116. Tayakkanonta K. The Gubernaculum Testis and Its Nerve Supply. *Aust N Z J Surg* 1963;33:61-7.
117. Wensing CJ, Colenbrander B, van Straaten HW. Normal and abnormal testicular descent in some mammals. In: Hafez E, ed. *Clinics in Andrology: Descended and Cryptorchid Testis*. The Hague: Martinus Nijhoff; 1980:125-37.
118. Kersten W, Molenaar GJ, Emmen JM, van der Schoot P. Bilateral cryptorchidism in a dog with persistent cranial testis suspensory ligaments and inverted gubernacula: report of a case with implications for understanding normal and aberrant testis descent. *J Anat* 1996;189 (Pt 1):171-6.
119. van der Schoot P, Emmen JM. Development, structure and function of the cranial suspensory ligaments of the mammalian gonads in a cross-species perspective; their possible role in effecting disturbed testicular descent. *Hum Reprod Update* 1996;2:399-418.
120. Barthold JS, Mahler HR, Newton BW. Lack of feminization of the cremaster nucleus in cryptorchid androgen insensitive rats. *J Urol* 1994;152:2280-6.
121. van der Schoot P, Elger W. Androgen-induced prevention of the outgrowth of cranial gonadal suspensory ligaments in fetal rats. *J Androl* 1992;13:534-42.
122. Clarnette TD, Sugita Y, Hutson JM. Genital anomalies in human and animal models reveal the mechanisms and hormones governing testicular descent. *Br J Urol* 1997;79:99-112.
123. Warren DW, Haltmeyer GC, Eik Nes KB. The effect of gonadotrophins on the fetal and neonatal rat testis. *Endocrinology* 1975;96:1226-9.
124. Habert R, Picon R. Testosterone, dihydrotestosterone and estradiol-17 beta levels in maternal and fetal plasma and in fetal testes in the rat. *J Steroid Biochem* 1984;21:193-8.
125. Emmen JM, McLuskey A, Grootegoed JA, Brinkmann AO. Androgen action during male sex differentiation includes suppression of cranial suspensory ligament development. *Hum Reprod* 1998;13:1272-80.

126. Husmann DA, McPhaul MJ. Time-specific androgen blockade with flutamide inhibits testicular descent in the rat. *Endocrinology* 1991;129:1409-16.
127. Spencer JR, Torrado T, Sanchez RS, Vaughan ED, Jr., Imperato-McGinley J. Effects of flutamide and finasteride on rat testicular descent. *Endocrinology* 1991;129:741-8.
128. Scott JE. The Hutson hypothesis. A clinical study. *Br J Urol* 1987;60:74-6.
129. Hutson JM. Testicular feminization: a model for testicular descent in mice and men. *J Pediatr Surg* 1986;21:195-8.
130. Husmann DA, Levy JB. Current concepts in the pathophysiology of testicular undescend. *Urology* 1995;46:267-76.
131. Backhouse KM, Butler H. The gubernaculum testis of the pig (*sus scropha*). *J Anat* 1960;94:107-21.
132. Heyns CF, Human HJ, Werely CJ, De Klerk DP. The glycosaminoglycans of the gubernaculum during testicular descent in the fetus. *J Urol* 1990;143:612-7.
133. Heyns CF, Human HJ, De Klerk DP. Hyperplasia and hypertrophy of the gubernaculum during testicular descent in the fetus. *J Urol* 1986;135:1043-7.
134. Wensing CJ. Testicular descent in some domestic mammals. 3. Search for the factors that regulate the gubernacular reaction. *Proc K Ned Akad Wet C* 1973;76:196-202.
135. van der Schoot P, Vigier B, Prepin J, Perchellet JP, Gittenberger-de Groot A. Development of the gubernaculum and processus vaginalis in freemartinism: further evidence in support of a specific fetal testis hormone governing male-specific gubernacular development. *Anat Rec* 1995;241:211-24.
136. Lillie FR. The freemartin: a study of the action of sex hormones in the foetal life of a cattle. *J Exp Zool* 1917;23:371-452.
137. van der Schoot P. Foetal testes control the prenatal growth and differentiation of the gubernacular cones in rabbits--a tribute to the late Professor Alfred Jost. *Development* 1993;118:1327-34.
138. Habenicht UF, Neumann F. Hormonal regulation of testicular descent. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 1983;81:1-54.
139. van der Schoot P. Studies on the fetal development of the gubernaculum in cetacea. *Anat Rec* 1995;243:449-60.
140. Husmann DA, McPhaul MJ. Localization of the androgen receptor in the developing rat gubernaculum. *Endocrinology* 1991;128:383-7.
141. Heyns CF, Pape VC. Presence of a low capacity androgen receptor in the gubernaculum of the pig fetus. *J Urol* 1991;145:161-7.
142. Ahmed SF, Cheng A, Dovey L, et al. Phenotypic features, androgen receptor binding, and mutational analysis in 278 clinical cases reported as androgen insensitivity syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:658-65.
143. Fentener van Vlissingen JM, Colenbrander B, Verbruggen A, Wensing CJ. Testicular feminized males (TFM) in *Nyctereutes procyonoides* (Raccoon, dog). In: Symposium I, ed. *Recent Progress in Cellular Endocrinology of the Testis*. Amsterdam: Elsevier; 1984:335-40.
144. Wensing CJ, Colenbrander B, Bosma AA. Testicular feminisation syndrome and gubernacular development in a pig. *Proc K Ned Akad Wet C* 1975;78:402-5.
145. Elger W, Richter J, Korte R. Failure to detect androgen dependence of the descensus testicularum in foetal rabbits, mice and monkeys. In: JR Bierich KR, MB Ranke, ed. *Maldescensus testis*. Baltimore: Urban & Schwarzenberg; 1977:187-91.
146. Hutson JM, Beasley SW. Embryological controversies in testicular descent. *Semin Urol* 1988;6:68-73.
147. Shono T, Ramm-Anderson S, Goh DW, Hutson JM. The effect of flutamide on testicular descent in rats examined by scanning electron microscopy. *J Pediatr Surg* 1994;29:839-44.

148. Baumans V, Dijkstra G, Wensing CJ. The effect of orchidectomy on gubernacular outgrowth and regression in the dog. *Int J Androl* 1982;5:387-400.
149. Baumans V, Dijkstra G, Wensing CJ. The role of a non-androgenic testicular factor in the process of testicular descent in the dog. *Int J Androl* 1983;6:541-52.
150. Emmen JM, McLuskey A, Adham IM, Engel W, Grootegoed JA, Brinkmann AO. Hormonal control of gubernaculum development during testis descent: gubernaculum outgrowth in vitro requires both insulin-like factor and androgen. *Endocrinology* 2000;141:4720-7.
151. Oprins AC, Fentener van Vlissingen JM, Blankenstein MA. Testicular descent: androgen receptors in cultured porcine gubernaculum cells. *J Steroid Biochem* 1988;31:387-91.
152. Kubota Y, Temelcos C, Bathgate RA, et al. The role of insulin 3, testosterone, Mullerian inhibiting substance and relaxin in rat gubernacular growth. *Mol Hum Reprod* 2002;8:900-5.
153. Visser JH, Heyns CF. Proliferation of gubernaculum cells induced by a substance of low molecular mass obtained from fetal pig testes. *J Urol* 1995;153:516-20.
154. Hadziselimovic F. Embryology of Testicular Descent and Maldescent. In: Hadziselimovic F, ed. *Cryptorchidism Management and Implications*. Berlin: Springer-Verlag; 1983:11-34.
155. Raynaud A. Inhibition, sous l'effet d'une hormone oestrogène, du développement du gubernaculum du fœtus mâle de souris. *CR Acad Sc Paris* 1958;246:176-9.
156. Shono T, Hutson JM, Watts L, et al. Scanning electron microscopy shows inhibited gubernacular development in relation to undescended testes in oestrogen-treated mice. *Int J Androl* 1996;19:263-70.
157. Hutson JM, Beasley SW. The mechanisms of testicular descent. *Aust Paediatr J* 1987;23:215-6.
158. Hutson JM, Watts LM. Both gonadotropin and testosterone fail to reverse estrogen-induced cryptorchidism in fetal mice: further evidence for nonandrogenic control of testicular descent in the fetus. *Pediatr Surg Int* 1990;5:13-8.
159. Hutson JM, Donahoe PK. The hormonal control of testicular descent. *Endocr Rev* 1986;7:270-83.
160. Hutson JM, Davidson PM, Reece LA, Baker M, Zhou B. Failure of gubernacular development in the persistent Müllerian duct syndrome allows herniation of the testes. *Pediatr Surg Int* 1994;9:544-6.
161. Tran D, Picard JY, Vigier B, Berger R, Josso N. Persistence of mullerian ducts in male rabbits passively immunized against bovine anti-mullerian hormone during fetal life. *Dev Biol* 1986;116:160-7.
162. Fentener van Vlissingen JM, van Zoelen EJ, Ursem PJ, Wensing CJ. In vitro model of the first phase of testicular descent: identification of a low molecular weight factor from fetal testis involved in proliferation of gubernaculum testis cells and distinct from specified polypeptide growth factors and fetal gonadal hormones. *Endocrinology* 1988;123:2868-77.
163. Bartlett JE, Lee SM, Mishina Y, et al. Gubernacular development in Mullerian inhibiting substance receptor-deficient mice. *BJU Int* 2002;89:113-8.
164. Behringer RR, Finegold MJ, Cate RL. Mullerian-inhibiting substance function during mammalian sexual development. *Cell* 1994;79:415-25.
165. Mishina Y, Rey R, Finegold MJ, et al. Genetic analysis of the Mullerian-inhibiting substance signal transduction pathway in mammalian sexual differentiation. *Genes Dev* 1996;10:2577-87.
166. Catlin EA, MacLaughlin DT, Donahoe PK. Mullerian inhibiting substance: new perspectives and future directions. *Microsc Res Tech* 1993;25:121-33.
167. Guerrier D, Tran D, Vanderwinden JM, et al. The persistent Mullerian duct syndrome: a molecular approach. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;68:46-52.
168. Josso N, Picard JY, Imbeaud S, di Clemente N, Rey R. Clinical aspects and molecular genetics of the persistent mullerian duct syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1997;47:137-44.

169. Zimmermann S, Steding G, Emmen JM, et al. Targeted disruption of the *Insl3* gene causes bilateral cryptorchidism. *Mol Endocrinol* 1999;13:681-91.
170. Nef S, Parada LF. Cryptorchidism in mice mutant for *Insl3*. *Nat Genet* 1999;22:295-9.
171. Kubota Y, Nef S, Farmer PJ, Temelcos C, Parada LF, Hutson JM. Leydig insulin-like hormone, gubernacular development and testicular descent. *J Urol* 2001;165:1673-5.
172. Adham IM, Burkhardt E, Benahmed M, Engel W. Cloning of a cDNA for a novel insulin-like peptide of the testicular Leydig cells. *J Biol Chem* 1993;268:26668-72.
173. Pusch W, Balvers M, Ivell R. Molecular cloning and expression of the relaxin-like factor from the mouse testis. *Endocrinology* 1996;137:3009-13.
174. Zimmermann S, Schottler P, Engel W, Adham IM. Mouse Leydig insulin-like (*Ley I-L*) gene: structure and expression during testis and ovary development. *Mol Reprod Dev* 1997;47:30-8.
175. Bay K, Hartung S, Ivell R, et al. Insulin-like factor 3 serum levels in 135 normal men and 85 men with testicular disorders: relationship to the luteinizing hormone-testosterone axis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:3410-8.
176. Anand-Ivell R, Wohlgemuth J, Haren MT, et al. Peripheral *INSL3* concentrations decline with age in a large population of Australian men. *Int J Androl* 2006;29:618-26.
177. Foresta C, Bettella A, Vinanzi C, et al. A novel circulating hormone of testis origin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:5952-8.
178. Ivell R, Balvers M, Domagalski R, Ungefroren H, Hunt N, Schulze W. Relaxin-like factor: a highly specific and constitutive new marker for Leydig cells in the human testis. *Mol Hum Reprod* 1997;3:459-66.
179. Kawamura K, Kumagai J, Sudo S, et al. Paracrine regulation of mammalian oocyte maturation and male germ cell survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:7323-8.
180. Donaldson KM, Tong SY, Hutson JM. Prevalence of late orchidopexy is consistent with some undescended testes being acquired. *Indian J Pediatr* 1996;63:725-9.
181. Zimmermann S, Schottler P, Engel W, Adham IM. Mouse Leydig insulin-like (*Ley I-L*) gene: structure and expression during testis and ovary development. *Mol Reprod Dev* 1997;47:30-8.
182. Akam M. Hox and HOM: homologous gene clusters in insects and vertebrates. *Cell* 1989;57:347-9.
183. Branford WW, Benson GV, Ma L, Maas RL, Potter SS. Characterization of *Hoxa-10/Hoxa-11* transheterozygotes reveals functional redundancy and regulatory interactions. *Dev Biol* 2000;224:373-87.
184. Kolon TF, Wiener JS, Lewitton M, Roth DR, Gonzales ET, Jr., Lamb DJ. Analysis of homeobox gene *HOXA10* mutations in cryptorchidism. *J Urol* 1999;161:275-80.
185. Duboule D, Dolle P. The structural and functional organization of the murine *HOX* gene family resembles that of *Drosophila* homeotic genes. *EMBO J* 1989;8:1497-505.
186. Botas J. Control of morphogenesis and differentiation by *HOM/Hox* genes. *Curr Opin Cell Biol* 1993;5:1015-22.
187. Benson GV, Nguyen TH, Maas RL. The expression pattern of the murine *Hoxa-10* gene and the sequence recognition of its homeodomain reveal specific properties of Abdominal B-like genes. *Mol Cell Biol* 1995;15:1591-601.
188. Satokata I, Benson G, Maas R. Sexually dimorphic sterility phenotypes in *Hoxa10*-deficient mice. *Nature* 1995;374:460-3.
189. Benson GV, Lim H, Paria BC, Satokata I, Dey SK, Maas RL. Mechanisms of reduced fertility in *Hoxa-10* mutant mice: uterine homeosis and loss of maternal *Hoxa-10* expression. *Development* 1996;122:2687-96.
190. Lyon MF, Hawkes SG. X-linked gene for testicular feminization in the mouse. *Nature* 1970;227:1217-9.

191. Radovick S, Wray S, Lee E, et al. Migratory arrest of gonadotropin-releasing hormone neurons in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:3402-6.
192. Rijli FM, Matyas R, Pellegrini M, et al. Cryptorchidism and homeotic transformations of spinal nerves and vertebrae in Hoxa-10 mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:8185-9.
193. Kaplan LM, Koyle MA, Kaplan GW, Farrer JH, Rajfer J. Association between abdominal wall defects and cryptorchidism. *J Urol* 1986;136:645-7.
194. Koivusalo A, Taskinen S, Rintala RJ. Cryptorchidism in boys with congenital abdominal wall defects. *Pediatr Surg Int* 1998;13:143-5.
195. Hadziselimovic F, Herzog B, Kruslin E. Morphological background of estrogen-induced cryptorchidism in the mouse. *Pediatr Adolesc Endocrinol* 1979;6:79-87.
196. Fallat M, Williams M, Farmer P. Histologic evaluation of the inguinoscrotal migration of the gubernaculum in rodents testicular descent and its relationship to the genitofemoral nerve. *Pediatr Surg Int* 1992;7:265-70.
197. Radhakrishnan J, Donahoe P. The Gubernaculum and Testicular Descent. In: Fonkalsrud E, Mengel E, eds. *The Undescended Testis*. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1981:30-41.
198. Hrabovszky Z, Di Pilla N, Yap T, Farmer PJ, Hutson JM, Carlin JB. Role of the gubernacular bulb in cremaster muscle development of the rat. *Anat Rec* 2002;267:159-65.
199. Costa WS, Sampaio FJ, Favorito LA, Cardoso LE. Testicular migration: remodeling of connective tissue and muscle cells in human gubernaculum testis. *J Urol* 2002;167:2171-6.
200. Grocock CA, Charlton HM, Pike MC. Role of the fetal pituitary in cryptorchidism induced by exogenous maternal oestrogen during pregnancy in mice. *J Reprod Fertil* 1988;83:295-300.
201. Goh DW, Middlesworth W, Farmer PJ, Hutson JM. Prenatal androgen blockade with flutamide inhibits masculinization of the genitofemoral nerve and testicular descent. *J Pediatr Surg* 1994;29:836-8.
202. Husmann DA, McPhaul MJ. Reversal of flutamide-induced cryptorchidism by prenatal time-specific androgens. *Endocrinology* 1992;131:1711-5.
203. McMahon DR, Kramer SA, Husmann DA. Antiandrogen induced cryptorchidism in the pig is associated with failed gubernacular regression and epididymal malformations. *J Urol* 1995;154:553-7.
204. Heyns CF, Pape VC, DeKlerk DP. Demonstration of a cytosolic androgen receptor in the gubernaculum of the pig fetus. *J Urol* 1988;139:236.
205. Husmann DA, McPhaul MJ. Localization of the androgen receptor in the developing rat gubernaculum. *Endocrinology* 1991;128:383-7.
206. Hutson JM, Beasley SW. *Descent of the Testis*. London: Edward Arnold; 1992.
207. Schneck FX, Bellinger MF. Abnormalities of the testis and scrotum and their surgical management. In: Walsh AR, et al, eds. *Campbells Urology*. Philadelphia: Saunders; 2002:2353-77.
208. Hadziselimovic F. Embryology of Testicular Descent and Maldescent. In: Hadziselimovic F, ed. *Cryptorchidism Management and Implications*. Berlin: Springer - Verlag; 1983:11-34.
209. Mininberg DT, Schlossberg S. The role of the epididymis in testicular descent. *J Urol* 1983;129:1207-8.
210. Marshall FF, Shermeta DW. Epididymal abnormalities associated with undescended testis. *J Urol* 1979;121:341-3.
211. Heath AL, Man DW, Eckstein HB. Epididymal abnormalities associated with maldescent of the testis. *J Pediatr Surg* 1984;19:47-9.
212. Gill B, Kogan S, Starr S, Reda E, Levitt S. Significance of epididymal and ductal anomalies associated with testicular maldescent. *J Urol* 1989;142:556-8; discussion 72.
213. Koff WJ, Scaletsky R. Malformations of the epididymis in undescended testis. *J Urol* 1990;143:340-3.

214. Bica DT, Hadziselimovic F. The behavior of epididymis, processus vaginalis and testicular descent in cryptorchid boys treated with buserelin. *Eur J Pediatr* 1993;152 Suppl 2:S38-42.
215. Turek PJ, Ewalt DH, Snyder HM, 3rd, Duckett JW. Normal epididymal anatomy in boys. *J Urol* 1994;151:726-7.
216. Mollaeian M, Mehrabi V, Elahi B. Significance of epididymal and ductal anomalies associated with undescended testis: study in 652 cases. *Urology* 1994;43:857-60.
217. Scorer CG. Congenital deformities of the testis and epididymis. London: Butterworths; 1971.
218. Bedford JM. Anatomical evidence for the epididymis as the prime mover in the evolution of the scrotum. *Am J Anat* 1978;152:483-507.
219. Hadziselimovic F, Kruslin E. The role of the epididymis in descensus testis and the topographical relationship between the testis and epididymis from the sixth month of pregnancy until immediately after birth. *Anat Embryol (Berl)* 1979;155:191-6.
220. Hadziselimovic F, Herzog B. The development and descent of the epididymis. *Eur J Pediatr* 1993;152 Suppl 2:S6-9.
221. Scorer CG. The anatomy of testicular descent--normal and incomplete. *Br J Surg* 1962;49:357-67.
222. Rajfer J, Walsh PC. Testicular descent. Normal and abnormal. *Urol Clin North Am* 1978;5:223-35.
223. Hadziselimovic F, Herzog B, Buser M. Development of cryptorchid testes. *Eur J Pediatr* 1987;146 Suppl 2:S8-12.
224. John Radcliffe Hospital Cryptorchidism Study Group. Cryptorchidism: A prospective study of 7500 consecutive births, 1984-1988. *Arch Dis Child* 1992;67:892-9.
225. Atwell JD. Ascent of the testis: fact or fiction. *Br J Urol* 1985;57:474-7.
226. Clarnette TD, Rowe D, Hasthorpe S, Hutson JM. Incomplete disappearance of the processus vaginalis as a cause of ascending testis. *J Urol* 1997;157:1889-91.
227. Lewis LG. Cryptorchism. *J Urol* 1948;60:345-56.
228. Yamanaka J, Metcalfe SA, Hutson JM, Mendelsohn FA. Testicular descent. II. Ontogeny and response to denervation of calcitonin gene-related peptide receptors in neonatal rat gubernaculum. *Endocrinology* 1993;132:280-4.
229. Terada M, Goh DW, Farmer PJ, Hutson JM. Calcitonin gene-related peptide receptors in the gubernaculum of normal rat and 2 models of cryptorchidism. *J Urol* 1994;152:759-62.
230. Larkins SL, Hutson JM. Fluorescent anterograde labelling of the genitofemoral nerve shows that it supplies the scrotal region before migration of the gubernaculum. *Pediatr Surg Int* 1991;6:167-71.
231. Barthold JS, Mahler HR, Szisak TJ, Newton BW. Lack of feminization of the cremaster nucleus by prenatal flutamide administration in the rat and pig. *J Urol* 1996;156:767-71.
232. Goh DW, Farmer PJ, Hutson JM. Absence of normal sexual dimorphism of the genitofemoral nerve spinal nucleus in the mutant cryptorchid (TS) rat. *J Reprod Fertil* 1994;102:195-9.
233. Hrabovszky Z, Farmer PJ, Hutson JM. Does the sensory nucleus of the genitofemoral nerve have a role in testicular descent? *J Pediatr Surg* 2000;35:96-100.
234. Shono T, Suita S. The effect of the excision of future scrotal skin on testicular descent in neonatal rats: a new experimental model of cryptorchidism. *J Pediatr Surg* 1995;30:734-8.
235. Beasley SW, Hutson JM. The role of the gubernaculum in testicular descent. *J Urol* 1988;140:1191-3.
236. Bergh A, Damber JE. Morphometric and functional investigation on the Leydig cells in experimental unilateral cryptorchidism in the rat. *Int J Androl* 1978;1:549.
237. Park WH, Hutson JM. The gubernaculum shows rhythmic contractility and active movement during testicular descent. *J Pediatr Surg* 1991;26:615-7.

238. Momose Y, Griffiths AL, Hutson JM. Testicular descent. III. The neonatal mouse gubernaculum shows rhythmic contraction in organ culture in response to calcitonin gene-related peptide. *Endocrinology* 1992;131:2881-4.
239. Terada M, Hutson JM, Farmer PJ, Goh DW. The role of the genitofemoral nerve and calcitonin gene-related peptide in congenitally cryptorchid mutant TS rats. *J Urol* 1995;154:734-7.
240. Goh DW, Momose Y, Middlesworth W, Hutson JM. The relationship among calcitonin gene-related peptide, androgens and gubernacular development in 3 animal models of cryptorchidism. *J Urol* 1993;150:574-6.
241. Hrabovszky Z, Hutson JM. Capsaicin restores gubernacular contractility in TS rats. *J Pediatr Surg* 1999;34:1769-72.
242. Beasley SW, Hutson JM. Effect of division of genitofemoral nerve on testicular descent in the rat. *Aust N Z J Surg* 1987;57:49-51.
243. Berne MR. *Physiology*. 5th (fifth) Edition ed: Elsevier Health Sciences; 2004.
244. Andersson KE, Wagner G. Physiology of penile erection. *Physiol Rev* 1995;75:191-236.
245. Burnett AL. Role of nitric oxide in the physiology of erection. *Biol Reprod* 1995;52:485-9.
246. Lue TF. *Physiology of penile erection and pathophysiology of erectile dysfunction and priapism*. : In :Walsh PC, Retik AB, Vaughn ED, Wein AJ; 1998.
247. Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med* 1992;326:90-4.
248. Ayta IA, McKinlay JB, Krane RJ. The likely worldwide increase in erectile dysfunction between 1995 and 2025 and some possible policy consequences. *BJU Int* 1999;84:50-6.
249. Bender AT, Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: molecular regulation to clinical use. *Pharmacol Rev* 2006;58:488-520.
250. Zaccolo M, Pozzan T. Discrete microdomains with high concentration of cAMP in stimulated rat neonatal cardiac myocytes. *Science* 2002;295:1711-5.
251. Clermont Y, Huckins C. Microscopic anatomy of the sex cords and seminiferous tubules in growing and adult male albino rats. *Am J Anat* 1961;108:79-97.
252. de Kretser DM, Kerr JB. The cytology of the testis. In: Knobil E, Neill JD, eds. *The Physiology of Reproduction*. New York: 2nd ed. Raven Press; 1994:1177-290.
253. Dym M, Fawcett DW. Further observations on the numbers of spermatogonia, spermatocytes and spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis. *Biol Reprod* 1971;4:195-215.
254. Meistrich ML, van Beek M. Spermatogonial stem cells. In: Desjardins C, Ewing LL, eds. *Cell and Molecular Biology of the Testis*. New York: Oxford University Press; 1993:266-95.
255. Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev* 1972;52:198-236.
256. Clermont Y, Trott M. Duration of the cycle of the seminiferous epithelium in the mouse and hamster determined by means of 3H-thymidine and radioautography. *Fertil Steril* 1969;20:805-17.
257. van Alphen MM, de Rooij DG. Depletion of the seminiferous epithelium of the rhesus monkey, *Macaca mulatta*, after X-irradiation. *Br J Cancer Suppl* 1986;7:102-4.
258. Schlatt S, Weinbauer GF. Immunohistochemical localization of proliferating cell nuclear antigen as a tool to study cell proliferation in rodent and primate testes. *Int J Androl* 1994;17:214-22.
259. Schulze C. Morphological characteristics of the spermatogonial stem cells in man. *Cell Tissue Res* 1979;198:191-9.
260. Ehmcke J, Hubner K, Scholer HR, Schlatt S. Spermatogonia: origin, physiology and prospects for conservation and manipulation of the male germ line. *Reprod Fertil Dev* 2006;18:7-12.

261. Shinohara T, Orwig KE, Avarbock MR, Brinster RL. Spermatogonial stem cell enrichment by multiparameter selection of mouse testis cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:8346-51.
262. O'Donnell L, Stanton P, de Kretser DM. Endocrinology of the Male Reproductive System and Spermatogenesis. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., eds. *Endotext*. South Dartmouth (MA)2000.
263. Stubbs L, Stern H. DNA synthesis at selective sites during pachytene in mouse spermatocytes. *Chromosoma* 1986;93:529-36.
264. Heller CH, Clermont Y. Kinetics of the Germinal Epithelium in Man. *Recent Prog Horm Res* 1964;20:545-75.
265. Dobson MJ, Pearlman RE, Karaiskakis A, Spyropoulos B, Moens PB. Synaptonemal complex proteins: occurrence, epitope mapping and chromosome disjunction. *J Cell Sci* 1994;107 (Pt 10):2749-60.
266. Menwissen RLJ, Offenberg HH, Dietrich AJJ. A coiled-coil related protein specific for synapsed regions of meiotic prophase chromosomes. *EMBO J* 1992;11:5091-100.
267. Eddy EM. Role of heat shock protein HSP70-2 in spermatogenesis. *Rev Reprod* 1999;4:23-30.
268. Morelli MA, Cohen PE. Not all germ cells are created equal: aspects of sexual dimorphism in mammalian meiosis. *Reproduction* 2005;130:761-81.
269. de Kretser DM. Ultrastructural features of human spermiogenesis. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 1969;98:477-505.
270. Oko RJ, Jando V, Wagner CL, Kistler WS, Hermo LS. Chromatin reorganization in rat spermatids during the disappearance of testis-specific histone, H1t, and the appearance of transition proteins TP1 and TP2. *Biol Reprod* 1996;54:1141-57.
271. Steger K, Klonisch T, Gavenis K, Drabent B, Doenecke D, Bergmann M. Expression of mRNA and protein of nucleoproteins during human spermiogenesis. *Mol Hum Reprod* 1998;4:939-45.
272. Eddy EM. Regulation of gene expression during spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 1998;9:451-7.
273. Fawcett DW. The mammalian spermatozoon. *Dev Biol* 1975;44:394-436.
274. Carrera A, Gerton GL, Moss SB. The major fibrous sheath polypeptide of mouse sperm: structural and functional similarities to the A-kinase anchoring proteins. *Dev Biol* 1994;165:272-84.
275. Fulcher KD, Mori C, Welch JE, O'Brien DA, Klapper DG, Eddy EM. Characterization of Fsc1 cDNA for a mouse sperm fibrous sheath component. *Biol Reprod* 1995;52:41-9.
276. Miki K, Eddy EM. Identification of tethering domains for protein kinase A type Ialpha regulatory subunits on sperm fibrous sheath protein FSC1. *J Biol Chem* 1998;273:34384-90.
277. Vijayaraghavan S, Liberty GA, Mohan J, Winfrey VP, Olson GE, Carr DW. Isolation and molecular characterization of AKAP110, a novel, sperm-specific protein kinase A-anchoring protein. *Mol Endocrinol* 1999;13:705-17.
278. Mandal A, Naaby-Hansen S, Wolkowicz MJ, et al. FSP95, a testis-specific 95-kilodalton fibrous sheath antigen that undergoes tyrosine phosphorylation in capacitated human spermatozoa. *Biol Reprod* 1999;61:1184-97.
279. Mei X, Singh IS, Erlichman J, Orr GA. Cloning and characterization of a testis-specific, developmentally regulated A-kinase-anchoring protein (TAKAP-80) present on the fibrous sheath of rat sperm. *Eur J Biochem* 1997;246:425-32.
280. Okunade GW, Miller ML, Pyne GJ, et al. Targeted ablation of plasma membrane Ca²⁺-ATPase (PMCA) 1 and 4 indicates a major housekeeping function for PMCA1 and a critical role in hyperactivated sperm motility and male fertility for PMCA4. *J Biol Chem* 2004;279:33742-50.
281. O'Bryan MK, Sebire K, Meinhardt A, et al. Tpx-1 is a component of the outer dense fibers and acrosome of rat spermatozoa. *Mol Reprod Dev* 2001;58:116-25.

282. Gibbs GM, Scanlon MJ, Swarbrick J, et al. The cysteine-rich secretory protein domain of Tpx-1 is related to ion channel toxins and regulates ryanodine receptor Ca²⁺ signaling. *J Biol Chem* 2006;281:4156-63.
283. Kirichok Y, Navarro B, Clapham DE. Whole-cell patch-clamp measurements of spermatozoa reveal an alkaline-activated Ca²⁺ channel. *Nature* 2006;439:737-40.
284. Holstein AF. Ultrastructural observations on the differentiation of spermatids in man. *Andrologia* 1976;8:157-65.
285. Beardsley A, Robertson DM, O'Donnell L. A complex containing alpha6beta1-integrin and phosphorylated focal adhesion kinase between Sertoli cells and elongated spermatids during spermatid release from the seminiferous epithelium. *J Endocrinol* 2006;190:759-70.
286. Matthiesson KL, McLachlan RI, O'Donnell L, et al. The relative roles of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in maintaining spermatogonial maturation and spermiation in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3962-9.
287. Cheng CY, Mruk DD. An intracellular trafficking pathway in the seminiferous epithelium regulating spermatogenesis: a biochemical and molecular perspective. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2009;44:245-63.
288. Orth JM. Proliferation of Sertoli cells in fetal and postnatal rats: a quantitative autoradiographic study. *Anat Rec* 1982;203:485-92.
289. Orth JM. The role of follicle-stimulating hormone in controlling Sertoli cell proliferation in testes of fetal rats. *Endocrinology* 1984;115:1248-55.
290. Simorangkir DR, de Kretser DM, Wreford NG. Increased numbers of Sertoli and germ cells in adult rat testes induced by synergistic action of transient neonatal hypothyroidism and neonatal hemicastration. *J Reprod Fertil* 1995;104:207-13.
291. Meachem S, von Schonfeldt V, Schlatt S. Spermatogonia: stem cells with a great perspective. *Reproduction* 2001;121:825-34.
292. Clermont Y. The cycle of the seminiferous epithelium in man. *Am J Anat* 1963;112:35-51.
293. Russell LD. The Sertoli Cell. Clearwater, Florida: Cache River Press; 1993.
294. Vogl AW. Changes in the distribution of microtubules in rat Sertoli cells during spermatogenesis. *Anat Rec* 1988;222:34-41.
295. Dym M, Fawcett DW. The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartmentation of the seminiferous epithelium. *Biol Reprod* 1970;3:308-26.
296. Pointis G, Segretain D. Role of connexin-based gap junction channels in testis. *Trends Endocrinol Metab* 2005;16:300-6.
297. Setchell BP, Waites GMH. Changes in the permeability of the testicular capillaries and of the "blood-testis barrier" after the injection of cadmium chloride in the rat. *J Endocrinol* 1970;47:81-6.
298. Wong CH, Cheng CY. The blood-testis barrier: its biology, regulation, and physiological role in spermatogenesis. *Curr Top Dev Biol* 2005;71:263-96.
299. Pointis G, Fiorini C, Defamie N, Segretain D. Gap junctional communication in the male reproductive system. *Biochim Biophys Acta* 2005;1719:102-16.
300. Mruk DD, Cheng CY. Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocr Rev* 2004;25:747-806.
301. Orth J, Christensen AK. Autoradiographic localization of specifically bound 125I-labeled follicle-stimulating hormone on spermatogonia of the rat testis. *Endocrinology* 1978;103:1944-51.
302. Mulder E, Peters MJ, de Vries J. Characterization of a nuclear receptor for testosterone in seminiferous tubules of mature rat testes. *Mol Cell Endocrinol* 1975;2:171-82.
303. Sanborn BM, Steinberger A, Tcholakian RK. Direct measurement of androgen receptors in cultured Sertoli cells. *Steroids* 1977;29:493-502.

304. Griswold MD. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 1998;9:411-6.
305. Orth JM, Gunsalus GL, Lamperti AA. Evidence from Sertoli cell-depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. *Endocrinology* 1988;122:787-94.
306. Hess RA, Cooke PS, Bunick D, Kirby JD. Adult testicular enlargement induced by neonatal hypothyroidism is accompanied by increased Sertoli and germ cell numbers. *Endocrinology* 1993;132:2607-13.
307. Dohle GR, Smit M, Weber RF. Androgens and male fertility. *World J Urol* 2003;21:341-5.
308. Debeljuk L, Rao JN, Bartke A. Tachykinins and their possible modulatory role on testicular function: a review. *Int J Androl* 2003;26:202-10.
309. Cazorla O, Seck M, Pisselet C, et al. Anti-Mullerian hormone (AMH) secretion in prepubertal and adult rams. *J Reprod Fertil* 1998;112:259-66.
310. de Kretser DM, Hedger MP, Loveland KL, Phillips DJ. Inhibins, activins and follistatin in reproduction. *Hum Reprod Update* 2002;8:529-41.
311. Meng X, Lindahl M, Hyvonen ME, et al. Regulation of cell fate decision of undifferentiated spermatogonia by GDNF. *Science* 2000;287:1489-93.
312. Oatley JM, Brinster RL. Regulation of spermatogonial stem cell self-renewal in mammals. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2008;24:263-86.
313. Allard EK, Blanchard KT, Boekelheide K. Exogenous stem cell factor (SCF) compensates for altered endogenous SCF expression in 2,5-hexanedione-induced testicular atrophy in rats. *Biol Reprod* 1996;55:185-93.
314. Yoshinaga K, Nishikawa S, Ogawa M, et al. Role of c-kit in mouse spermatogenesis: identification of spermatogonia as a specific site of c-kit expression and function. *Development* 1991;113:689-99.
315. Blanchard KT, Lee J, Boekelheide K. Leuprolide, a gonadotropin-releasing hormone agonist, reestablishes spermatogenesis after 2,5-hexanedione-induced irreversible testicular injury in the rat, resulting in normalized stem cell factor expression. *Endocrinology* 1998;139:236-44.
316. Marziali G, Lazzaro D, Sorrentino V. Binding of germ cells to mutant Sld Sertoli cells is defective and is rescued by expression of the transmembrane form of the c-kit ligand. *Dev Biol* 1993;157:182-90.
317. Wu JC, Gregory CW, DePhilip RM. Expression of E-cadherin in immature rat and mouse testis and in rat Sertoli cell cultures. *Biol Reprod* 1993;49:1353-61.
318. Erkkila K, Henriksen K, Hirvonen V, et al. Testosterone regulates apoptosis in adult human seminiferous tubules in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2314-21.
319. Tesarik J, Greco E, Mendoza C. Assisted reproduction with in-vitro-cultured testicular spermatozoa in cases of severe germ cell apoptosis: a pilot study. *Hum Reprod* 2001;16:2640-5.
320. Marshall GR, Zorub DS, Plant TM. Follicle-stimulating hormone amplifies the population of differentiated spermatogonia in the hypophysectomized testosterone-replaced adult rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Endocrinology* 1995;136:3504-11.
321. Tapanainen JS, Aittomaki K, Min J, Vaskivuo T, Huhtaniemi IT. Men homozygous for an inactivating mutation of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor gene present variable suppression of spermatogenesis and fertility. *Nat Genet* 1997;15:205-6.
322. Lee J, Richburg JH, Younkin SC, Boekelheide K. The Fas system is a key regulator of germ cell apoptosis in the testis. *Endocrinology* 1997;138:2081-8.
323. Sofikitis N, Ono K, Yamamoto Y, Papadopoulos H, Miyagawa I. Influence of the male reproductive tract on the reproductive potential of round spermatids abnormally released from the seminiferous epithelium. *Hum Reprod* 1999;14:1998-2006.

324. O'Donnell L, McLachlan RI, Wreford NG, de Kretser DM, Robertson DM. Testosterone withdrawal promotes stage-specific detachment of round spermatids from the rat seminiferous epithelium. *Biol Reprod* 1996;55:895-901.
325. Gnassi L, Emidi A, Jannini EA, et al. Testicular development involves the spatiotemporal control of PDGFs and PDGF receptors gene expression and action. *J Cell Biol* 1995;131:1105-21.
326. de Winter JP, Vanderstichele HM, Verhoeven G, Timmerman MA, Wesseling JG, de Jong FH. Peritubular myoid cells from immature rat testes secrete activin-A and express activin receptor type II in vitro. *Endocrinology* 1994;135:759-67.
327. Clermont Y. Contractile elements in the limiting membrane of the seminiferous tubules of the rat. *Exp Cell Res* 1958;15:438-40.
328. Ross MH, Long IR. Contractile cells in human seminiferous tubules. *Science* 1966;153:1271-3.
329. Christensen AK. Leydig cells. In: Hamilton DW, Greep RO, eds. *Endocrinology Male Reproductive System*. Baltimore: Williams and Wilkins; 1975:57-94.
330. Miller SC, Bowman BM, Rowland HG. Structure, cytochemistry, endocytic activity, and immunoglobulin (Fc) receptors of rat testicular interstitial-tissue macrophages. *Am J Anat* 1983;168:1-13.
331. Miller SC. Localization of plutonium-241 in the testis. An interspecies comparison using light and electron microscope autoradiography. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1982;41:633-43.
332. Schulze C. Sertoli cells and Leydig cells in man: *Adv Anat Embryol Cell Biol.*; 1984.
333. Payne AH, Hardy MP, Russell LD. *The Leydig Cell*. Illinois: Cache River Press; 1996.
334. Fawcett DW, Leak LV, Heidger PM, Jr. Electron microscopic observations on the structural components of the blood-testis barrier. *J Reprod Fertil Suppl* 1970;10:105-22.
335. Pelliniemi LJ, Niemi M. Fine structure of the human foetal testis. I. The interstitial tissue. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 1969;99:507-22.
336. Lording DW, De Kretser DM. Comparative ultrastructural and histochemical studies of the interstitial cells of the rat testis during fetal and postnatal development. *J Reprod Fertil* 1972;29:261-9.
337. Huhtaniemi I. Studies on steroidogenesis and its regulation in human fetal adrenal and testis. *J Steroid Biochem* 1977;8:491-7.
338. Prince FP. Ultrastructural evidence of mature Leydig cells and Leydig cell regression in the neonatal human testis. *Anat Rec* 1990;228:405-17.
339. Christensen AK, Peacock KC. Increase in Leydig cell number in testes of adult rats treated chronically with an excess of human chorionic gonadotropin. *Biol Reprod* 1980;22:383-91.
340. Federman DD. Three facets of sexual differentiation. *N Engl J Med* 2004;350:323-4.
341. McElreavey K, Fellous M. Sex-determining genes. *Trends Endocrinol Metab* 1997;8:342-6.
342. Ahmed SF, Hughes IA. The genetics of male undermasculinization. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2002;56:1-18.
343. Barsoum I, Yao HH. The road to maleness: from testis to Wolffian duct. *Trends Endocrinol Metab* 2006;17:223-8.
344. Balvers M, Spiess AN, Domagalski R, et al. Relaxin-like factor expression as a marker of differentiation in the mouse testis and ovary. *Endocrinology* 1998;139:2960-70.
345. de Kretser D, Kerr J. *The Physiology of Reproduction*. In: Knobil EaN, D., ed. *The cytology of the testis*. 2 ed. New York: Ravena Press; 1994:1177-290.
346. Jegou B. The Sertoli cell. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1992;6:273-311.
347. Boepple PA, Hayes FJ, Dwyer AA, et al. Relative roles of inhibin B and sex steroids in the negative feedback regulation of follicle-stimulating hormone in men across the full spectrum of seminiferous epithelium function. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:1809-14.

348. Weinbauer GF, Niehaus M, Nieschlag E. The role of testosterone in spermatogenesis.: In: Nieschlag E, Behre HM (eds). Cambridge University Press. Cambridge. pp173-20; 2004.
349. Lindstedt G, Nystrom E, Matthews C, Ernest I, Janson PO, Chatterjee K. Follitropin (FSH) deficiency in an infertile male due to FSHbeta gene mutation. A syndrome of normal puberty and virilization but underdeveloped testicles with azoospermia, low FSH but high lutropin and normal serum testosterone concentrations. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:663-5.
350. Phillip M, Arbelle JE, Segev Y, Parvari R. Male hypogonadism due to a mutation in the gene for the beta-subunit of follicle-stimulating hormone. *N Engl J Med* 1998;338:1729-32.
351. Narula A, Gu YQ, O'Donnell L, et al. Variability in sperm suppression during testosterone administration to adult monkeys is related to follicle stimulating hormone suppression and not to intratesticular androgens. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3399-406.
352. Weinbauer GF, Schlatt S, Walter V, Nieschlag E. Testosterone-induced inhibition of spermatogenesis is more closely related to suppression of FSH than to testicular androgen levels in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *J Endocrinol* 2001;168:25-3.
353. Gromoll J, Simoni M, Nieschlag E. An activating mutation of the follicle-stimulating hormone receptor autonomously sustains spermatogenesis in a hypophysectomized man. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81.
354. Huhtaniemi I. Ontogeny of the luteinizing hormone action in the male. In: Payne ADH, Hardy MP, Russell LD (eds) *The Leydig Cell* Cache River Press, Vienna, pp 365–382 1996.
355. Bouloux P, Nieschlag E, Burger HG, et al. Induction of spermatogenesis by recombinant follicle-stimulating hormone (Puregon) in hypogonadotropic azoospermic men who failed to respond to human chorionic gonadotropin alone. *J Androl* 2003;24:604-11.
356. Weinbauer GF, Wessels J. 'Paracrine' control of spermatogenesis. *Andrologia* 1999;31:249-62.
357. Suarez-Quian CA, Martinez-Garcia F, Nistal M, Regadera J. Androgen receptor distribution in adult human testis. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:350-8.
358. Franca LR, Ogawa T, Avarbock MR, Brinster RL, Russell LD. Germ cell genotype controls cell cycle during spermatogenesis in the rat. *Biol Reprod* 1998;59:1371-7.
359. Luetjens CM, Didolkar A, Kliesch S, et al. Tissue expression of the nuclear progesterone receptor in male non-human primates and men. *J Endocrinol* 2006;189:529-39.
360. Modi DN, Shah C, Puri CP. Non-genomic membrane progesterone receptors on human spermatozoa. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007;63:515-29.
361. Junaidi A, Luetjens CM, Wistuba J, et al. Norethisterone enanthate has neither a direct effect on the testis nor on the epididymis: a study in adult male cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Eur J Endocrinol* 2005;152:655-61.
362. Takaimya K, Yamamoto A, Furukawa K, et al. Complex gangliosides are essential in spermatogenesis of mice: possible roles in the transport of testosterone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:12147-1252.
363. Zhang LC, Zheng XM, Yang ZW, Li SW. [Expression of Bcl-2 and Bax in the impairment of contralateral testes of unilateral cryptorchidism in rats]. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2006;12:352-4.
364. Jarow JP, Chen H, Rosner TW, Trentacoste S, Zirkin BR. Assessment of the androgen environment within the human testis: minimally invasive method to obtain intratesticular fluid. *J Androl* 2001;22:640-5.
365. Coviello AD, Matsumoto AM, Bremner WJ, et al. Low-dose human chorionic gonadotropin maintains intratesticular testosterone in normal men with testosterone-induced gonadotropin suppression. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2595-602.
366. Kinniburgh D, Anderson RA, Baird DT. Suppression of spermatogenesis with desogestrel and testosterone pellets is not enhanced by addition of finasteride. *J Androl* 2001;22:88-95.

367. Overstreet JW, Fuh VL, Gould J, et al. Chronic treatment with finasteride daily does not affect spermatogenesis or semen production in young men. *J Urol* 1999;162:1295-300.
368. Amory JK, Wang C, Swerdloff RS, et al. The effect of 5alpha-reductase inhibition with dutasteride and finasteride on semen parameters and serum hormones in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1659-65.
369. Matthiesson KL, Amory JK, Berger R, Ugoni A, McLachlan RI, Bremner WJ. Novel male hormonal contraceptive combinations: the hormonal and spermatogenic effects of testosterone and levonorgestrel combined with a 5alpha-reductase inhibitor or gonadotropin-releasing hormone antagonist. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:91-7.
370. Carreau S, Delalande C, Silandre D, Bourguiba S, Lambard S. Aromatase and estrogen receptors in male reproduction. *Mol Cell Endocrinol* 2006;246:65-8.
371. Berensztein EB, Baquedano MS, Gonzalez CR, et al. Expression of aromatase, estrogen receptor alpha and beta, androgen receptor, and cytochrome P-450csc in the human early prepubertal testis. *Pediatr Res* 2006;60:740-4.
372. Shetty G, Krishnamurthy H, Krishnamurthy HN, Bhatnagar S, Moudgal RN. Effect of estrogen deprivation on the reproductive physiology of male and female primates. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997;61:157-66.
373. Shetty G, Krishnamurthy H, Krishnamurthy HN, Bhatnagar AS, Moudgal NR. Effect of long-term treatment with aromatase inhibitor on testicular function of adult male bonnet monkeys (*M. radiata*). *Steroids* 1998;63:414-20.
374. O'Donnell L, Robertson KM, Jones ME, Simpson ER. Estrogen and spermatogenesis. *Endocr Rev* 2001;22:289-318.
375. Maffei L, Murata Y, Rochira V, et al. Dysmetabolic syndrome in a man with a novel mutation of the aromatase gene: effects of testosterone, alendronate, and estradiol treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:61-70.
376. Matthiesson KL, Stanton PG, O'Donnell L, et al. Effects of testosterone and levonorgestrel combined with a 5alpha-reductase inhibitor or gonadotropin-releasing hormone antagonist on spermatogenesis and intratesticular steroid levels in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5647-55.
377. Schlatt S, Weinbauer GF, Arslan M, Nieschlag E. Appearance of alpha-smooth muscle actin in peritubular cells of monkey testes is induced by androgens, modulated by follicle-stimulating hormone, and maintained after hormonal withdrawal. *J Androl* 1993;14:340-50.
378. Levalle O, Zylbersztein C, Aszpis S, et al. Recombinant human follicle-stimulating hormone administration increases testosterone production in men, possibly by a Sertoli cell-secreted nonsteroid factor. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3973-6.
379. Lofrano-Porto A, Casulari LA, Nascimento PP, et al. Effects of follicle-stimulating hormone and human chorionic gonadotropin on gonadal steroidogenesis in two siblings with a follicle-stimulating hormone beta subunit mutation. *Fertil Steril* 2008;90:1169-74.
380. Devi YS, Sarda K, Stephen B, Nagarajan P, Majumdar SS. Follicle-stimulating hormone-independent functions of primate Sertoli cells: potential implications in the diagnosis and management of male infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1062-8.
381. Ferlin A, Arredi B, Zuccarello D, Garolla A, Selice R, Foresta C. Paracrine and endocrine roles of insulin-like factor 3. *J Endocrinol Invest* 2006;29:657-64.
382. Wikstrom AM, Bay K, Hero M, Andersson AM, Dunkel L. Serum insulin-like factor 3 levels during puberty in healthy boys and boys with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4705-8.
383. Bay K, Matthiesson KL, McLachlan RI, Andersson AM. The effects of gonadotropin suppression and selective replacement on insulin-like factor 3 secretion in normal adult men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1108-11.

384. Amory JK, Page ST, Anawalt BD, Coviello AD, Matsumoto AM, Bremner WJ. Elevated end-of-treatment serum INSL3 is associated with failure to completely suppress spermatogenesis in men receiving male hormonal contraception. *J Androl* 2007;28:548-54.
385. Meachem SJ, Nieschlag E, Simoni M. Inhibin B in male reproduction: pathophysiology and clinical relevance. *Eur J Endocrinol* 2001;145:561-71.
386. Laron Z, Klingler B. Effect of insulin-like growth factor-I treatment on serum androgens and testicular and penile size in males with Laron syndrome (primary growth hormone resistance). *Eur J Endocrinol* 1998;138:176-80.
387. Albrecht M, Frungieri MB, Gonzalez-Calvar S, Meineke V, Kohn FM, Mayerhofer A. Evidence for a histaminergic system in the human testis. *Fertil Steril* 2005;83:1060-3.
388. Fijak M, Meinhardt A. The testis in immune privilege. *Immunol Rev* 2006;213:66-81.
389. Hedger MP. Macrophages and the immune responsiveness of the testis. *J Reprod Immunol* 2002;57:19-34.
390. Barros C, Gonzalez J, Herrera E, Bustos-Obregon E. Human sperm penetration into zona-free hamster oocytes as a test to evaluate the sperm fertilizing ability. *Andrologia* 1979;11:197-210.
391. Gatimel N, Moreau J, Parinaud J, Leandri RD. Sperm morphology: assessment, pathophysiology, clinical relevance, and state of the art in 2017. *Andrology* 2017;5:845-62.
392. Koppers B, Gassner P, Meschede D, Horst J, Behre HM, Nieschlag E. Prognostic value of male diagnostic profiles in intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Int J Androl* 1998;21:227-32.
393. Burkman LJ, Coddington CC, Franken DR, Krugen TF, Rosenwaks Z, Hogen GD. The hemizona assay (HZA): development of a diagnostic test for the binding of human spermatozoa to the human hemizona pellucida to predict fertilization potential. *Fertil Steril* 1988;49:688-97.
394. Bedford JM. Significance of the need for sperm capacitation before fertilization in eutherian mammals. *Biol Reprod* 1983;28:108-20.
395. Meizel S, Turner KO. The effects of products and inhibitors of arachidonic acid metabolism on the hamster sperm acrosome reaction. *J Exp Zool* 1984;231:283-8.
396. Meizel S. Molecules that initiate or help stimulate the acrosome reaction by their interaction with the mammalian sperm surface. *Am J Anat* 1985;174:285-302.
397. Yanagimachi R, Okada A, Tung KS. Sperm autoantigens and fertilization: II. Effects of anti-guinea pig sperm autoantibodies on sperm-ovum interactions. *Biol Reprod* 1981;24:512-8.
398. Broer KH, Winkhaus-Schindl I, Berendes R. [The value of the postcoital test (Sims-Huhner test) in the treatment of sterility]. *Fortschr Med* 1978;96:351-6.
399. Pavone ME, Hirshfeld-Cytron JE, Kazer RR. The progressive simplification of the infertility evaluation. *Obstet Gynecol Surv* 2011;66:31-41.
400. Sussman EM, Chudnovsky A, Niederberger CS. Hormonal evaluation of the infertile male: has it evolved? *Urol Clin North Am* 2008;35:147-55, vii.
401. Tiepolo L, Zuffardi O. Localization of factors controlling spermatogenesis in the nonfluorescent portion of the human Y chromosome long arm. *Hum Genet* 1976;34:119-24.
402. Ferguson-Smith MA, Affara NA, Magenis RE. Ordering of Y-specific sequences by deletion mapping and analysis of X-Y interchange males and females. *Development* 1987;101 Suppl:41-50.
403. Andersson M, Page DC, Pettay D, et al. Y;autosome translocations and mosaicism in the aetiology of 45,X maleness: assignment of fertility factor to distal Yq11. *Hum Genet* 1988;79:2-7.
404. Bardoni B, Zuffardi O, Guioli S, et al. A deletion map of the human Yq11 region: implications for the evolution of the Y chromosome and tentative mapping of a locus involved in spermatogenesis. *Genomics* 1991;11:443-51.
405. Quintana-Murci L, Fellous M. The Human Y Chromosome: The Biological Role of a "Functional Wasteland". *J Biomed Biotechnol* 2001;1:18-24.

406. Vogt PH, Falcao CL, Hanstein R, Zimmer J. The AZF proteins. *Int J Androl* 2008;31:383-94.
407. Georgiou I, Syrrou M, Pardalidis N, et al. Genetic and epigenetic risks of intracytoplasmic sperm injection method. *Asian J Androl* 2006;8:643-73.
408. Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 2003;423:825-37.
409. Brandriff B, Gordon L, Trask B. A new system for high-resolution DNA sequence mapping interphase pronuclei. *Genomics* 1991;10:75-82.
410. Klaude M, Eriksson S, Nygren J, Ahnstrom G. The comet assay: mechanisms and technical considerations. *Mutat Res* 1996;363:89-96.
411. Erenpreiss J, Spano M, Erenpreisa J, Bungum M, Giwercman A. Sperm chromatin structure and male fertility: biological and clinical aspects. *Asian J Androl* 2006;8:11-29.
412. Zini A, Sigman M. Are tests of sperm DNA damage clinically useful? Pros and cons. *J Androl* 2009;30:219-29.
413. Cuppens H, Cassiman JJ. CFTR mutations and polymorphisms in male infertility. *Int J Androl* 2004;27:251-6.
414. Γραμμενιάτης Ε, Κούκος Σ. Αζωοσπερμία: Από τη διάγνωση στη θεραπεία. *Ελληνική ουρολογία* 2010;22:22-34.
415. Ofordeme KG, Aslan AR, Nazir TM, Hayner-Buchan A, Kogan BA. Apoptosis and proliferation in human undescended testes. *BJU Int* 2005;96:634-8.
416. Huff DS, Fenig DM, Canning DA, Carr MG, Zderic SA, Snyder HM, 3rd. Abnormal germ cell development in cryptorchidism. *Horm Res* 2001;55:11-7.
417. Kolon TF, Herndon CD, Baker LA, et al. Evaluation and treatment of cryptorchidism: AUA guideline. *J Urol* 2014;192:337-45.
418. Kojima Y, Mizuno K, Kamisawa H, Kato T, Kohri K, Hayashi Y. Laparoscopic management of nonpalpable testis: new treatment strategy. *J Endourol* 2011;25:635-40.
419. Fowler R, Stephens FD. The role of testicular vascular anatomy in the salvage of high undescended testes. *Aust N Z J Surg* 1959;29:92-106.
420. Lue TF. Erectile dysfunction. *N Engl J Med* 2000;342:1802-13.
421. Swinnen JV, Joseph DR, Conti M. The mRNA encoding a high-affinity cAMP phosphodiesterase is regulated by hormones and cAMP. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:8197-201.
422. Geremia R, Rossi P, Pezzotti R, Conti M. Cyclic nucleotide phosphodiesterase in developing rat testis. Identification of somatic and germ-cell forms. *Mol Cell Endocrinol* 1982;28:37-53.
423. Morena AR, Boitani C, de Grossi S, Stefanini M, Conti M. Stage and cell-specific expression of the adenosine 3',5' monophosphate-phosphodiesterase genes in the rat seminiferous epithelium. *Endocrinology* 1995;136:687-95.
424. Fujishige K, Kotera J, Michibata H, et al. Cloning and characterization of a novel human phosphodiesterase that hydrolyzes both cAMP and cGMP (PDE10A). *J Biol Chem* 1999;274:18438-45.
425. Fujishige K, Kotera J, Omori K. Striatum- and testis-specific phosphodiesterase PDE10A isolation and characterization of a rat PDE10A. *Eur J Biochem* 1999;266:1118-27.
426. Soderling SH, Bayuga SJ, Beavo JA. Cloning and characterization of a cAMP-specific cyclic nucleotide phosphodiesterase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:8991-6.
427. Baxendale RW, Fraser LR. Mammalian sperm phosphodiesterases and their involvement in receptor-mediated cell signaling important for capacitation. *Mol Reprod Dev* 2005;71:495-508.
428. Mewe M, Bauer CK, Muller D, Middendorff R. Regulation of spontaneous contractile activity in the bovine epididymal duct by cyclic guanosine 5'-monophosphate-dependent pathways. *Endocrinology* 2006;147:2051-62.

429. Setchell BP, Maddocks S, Brooks DE. The physiology of reproduction. In: Knobil EaN, D., ed. New York: Raven Press; 1994:1063-175.
430. Francis SH. Phosphodiesterase 11 (PDE11): is it a player in human testicular function? *Int J Impot Res* 2005;17:467-8.
431. Wayman C, Phillips S, Lunny C, et al. Phosphodiesterase 11 (PDE11) regulation of spermatozoa physiology. *Int J Impot Res* 2005;17:216-23.
432. Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S, et al. Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol Rev* 2000;52:375-414.
433. Glover TD, Nicander L. Some aspects of structure and function in the mammalian epididymis. *J Reprod Fertil Suppl* 1971;13:Suppl 13:39-50.
434. Dimitriadis F, Giannakis D, Pardalidis N, et al. Effects of phosphodiesterase-5 inhibitors on sperm parameters and fertilizing capacity. *Asian J Androl* 2008;10:115-33.
435. Abdel-Hamid IA. Phosphodiesterase 5 inhibitors in rapid ejaculation: potential use and possible mechanisms of action. *Drugs* 2004;64:13-26.
436. Chen J, Mabjeesh NJ, Matzkin H, Greenstein A. Efficacy of sildenafil as adjuvant therapy to selective serotonin reuptake inhibitor in alleviating premature ejaculation. *Urology* 2003;61:197-200.
437. Medina P, Segarra G, Torondel B, et al. Inhibition of neuroeffector transmission in human vas deferens by sildenafil. *Br J Pharmacol* 2000;131:871-4.
438. Sundkvist E, Jaeger R, Sager G. Pharmacological characterization of the ATP-dependent low K(m) guanosine 3',5'-cyclic monophosphate (cGMP) transporter in human erythrocytes. *Biochem Pharmacol* 2002;63:945-9.
439. Bilge SS, Kesim Y, Kurt M, Aksoz E, Celik S. Possible role of sildenafil in inhibiting rat vas deferens contractions by influencing the purinergic system. *Int J Urol* 2005;12:829-34.
440. Ponchietti R, Raugeri A, Lanciotti E, Ademollo B, Galvan P, Poggini G. Calcium, zinc, magnesium, concentration in seminal plasma of infertile men with prostatitis. *Acta Eur Fertil* 1984;15:283-5.
441. Fair WR, Couch J, Wehner N. The purification and assay of the prostatic antibacterial factor (PAF). *Biochem Med* 1973;8:329-39.
442. Meares EM, Jr. Prostatitis. *Med Clin North Am* 1991;75:405-24.
443. Burnett AL, Maguire MP, Chamness SL, et al. Characterization and localization of nitric oxide synthase in the human prostate. *Urology* 1995;45:435-9.
444. Takeda M, Tang R, Shapiro E, Burnett AL, Lepor H. Effects of nitric oxide on human and canine prostates. *Urology* 1995;45:440-6.
445. Uckert S, Kuthe A, Jonas U, Stief CG. Characterization and functional relevance of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes of the human prostate. *J Urol* 2001;166:2484-90.
446. Grimsley SJ, Khan MH, Jones GE. Mechanism of Phosphodiesterase 5 inhibitor relief of prostatitis symptoms. *Med Hypotheses* 2007;69:25-6.
447. Burger M, Sikka SC, Bivalacqua TJ, Lamb DJ, Hellstrom WJ. The effect of sildenafil on human sperm motion and function from normal and infertile men. *Int J Impot Res* 2000;12:229-34.
448. Andrade JR, Traboulsi A, Hussain A, Dubin NH. In vitro effects of sildenafil and phentolamine, drugs used for erectile dysfunction, on human sperm motility. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:1093-5.
449. Mostafa T. In vitro sildenafil citrate use as a sperm motility stimulant. *Fertil Steril* 2007;88:994-6.
450. Lefievre L, De Lamirande E, Gagnon C. The cyclic GMP-specific phosphodiesterase inhibitor, sildenafil, stimulates human sperm motility and capacitation but not acrosome reaction. *J Androl* 2000;21:929-37.
451. Cuadra DL, Chan PJ, Patton WC, Stewart SC, King A. Type 5 phosphodiesterase regulation of human sperm motility. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:1013-5.

452. Glenn DR, McVicar CM, McClure N, Lewis SE. Sildenafil citrate improves sperm motility but causes a premature acrosome reaction in vitro. *Fertil Steril* 2007;87:1064-70.
453. Mostafa T. Tadalafil as an in vitro sperm motility stimulant. *Andrologia* 2007;39:12-5.
454. Jaiswal BS, Majumder GC. Cyclic AMP phosphodiesterase: a regulator of forward motility initiation during epididymal sperm maturation. *Biochem Cell Biol* 1996;74:669-74.
455. Rees JM, Ford WC, Hull MG. Effect of caffeine and of pentoxifylline on the motility and metabolism of human spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1990;90:147-56.
456. Levin RM, Greenberg SH, Wein AJ. Quantitative analysis of the effects of caffeine on sperm motility and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate (AMP) phosphodiesterase. *Fertil Steril* 1981;36:798-802.
457. Tesarik J, Mendoza C, Carreras A. Effects of phosphodiesterase inhibitors caffeine and pentoxifylline on spontaneous and stimulus-induced acrosome reactions in human sperm. *Fertil Steril* 1992;58:1185-90.
458. Tesarik J, Thebault A, Testart J. Effect of pentoxifylline on sperm movement characteristics in normozoospermic and asthenozoospermic specimens. *Hum Reprod* 1992;7:1257-63.
459. 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;40:358-65.
460. Marrama P, Baraghini GF, Carani C, et al. Further studies on the effects of pentoxifylline on sperm count and sperm motility in patients with idiopathic oligo-asthenozoospermia. *Andrologia* 1985;17:612-6.
461. Shen MR, Chiang PH, Yang RC, Hong CY, Chen SS. Pentoxifylline stimulates human sperm motility both in vitro and after oral therapy. *Br J Clin Pharmacol* 1991;31:711-4.
462. Pang SC, Chan PJ, Lu A. Effects of pentoxifylline on sperm motility and hyperactivation in normozoospermic and normokinetic semen. *Fertil Steril* 1993;60:336-43.
463. Fuse H, Sakamoto M, Ohta S, Katayama T. Effect of pentoxifylline on sperm motion. *Arch Androl* 1993;31:9-15.
464. Tournaye H, Janssens R, Devroey P, van Steirteghem A. The influence of pentoxifylline on motility and viability of spermatozoa from normozoospermic semen samples. *Int J Androl* 1994;17:1-8.
465. Stefanovich V. Effect of 3,7-dimethyl-1-(5-oxo-hexyl)xanthine and 1-hexyl-3,7-dimethyl xanthine on cyclic AMP phosphodiesterase of the human umbilical cord vessels. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1973;5:655-62.
466. Garbers DL, Kopf GS. The regulation of spermatozoa by calcium cyclic nucleotides. *Adv Cyclic Nucleotide Res* 1980;13:251-306.
467. Tash JS, Means AR. Cyclic adenosine 3',5' monophosphate, calcium and protein phosphorylation in flagellar motility. *Biol Reprod* 1983;28:75-104.
468. Ward A, Clissold SP. Pentoxifylline. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs* 1987;34:50-97.
469. Lewis SE, Moohan JM, Thompson W. Effects of pentoxifylline on human sperm motility in normospermic individuals using computer-assisted analysis. *Fertil Steril* 1993;59:418-23.
470. Moohan JM, Winston RM, Lindsay KS. Variability of human sperm response to immediate and prolonged exposure to pentoxifylline. *Hum Reprod* 1993;8:1696-700.
471. Centola GM, Cartie RJ, Cox C. Differential responses of human sperm to varying concentrations of pentoxifylline with demonstration of toxicity. *J Androl* 1995;16:136-42.
472. Paul M, Sumpter JP, Lindsay KS. Factors affecting pentoxifylline stimulation of sperm kinematics in suspensions. *Hum Reprod* 1996;11:1929-35.
473. Nassar A, Mahony M, Morshedi M, Lin MH, Srisombut C, Oehninger S. Modulation of sperm tail protein tyrosine phosphorylation by pentoxifylline and its correlation with hyperactivated motility. *Fertil Steril* 1999;71:919-23.

474. Twigg J, Fulton N, Gomez E, Irvine DS, Aitken RJ. Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on the structural and functional integrity of human spermatozoa: lipid peroxidation, DNA fragmentation and effectiveness of antioxidants. *Hum Reprod* 1998;13:1429-36.
475. Lopes S, Jurisicova A, Sun JG, Casper RF. Reactive oxygen species: potential cause for DNA fragmentation in human spermatozoa. *Hum Reprod* 1998;13:896-900.
476. Fisch JD, Behr B, Conti M. Enhancement of motility and acrosome reaction in human spermatozoa: differential activation by type-specific phosphodiesterase inhibitors. *Hum Reprod* 1998;13:1248-54.
477. Sikka SC, Hellstrom WJ. The application of pentoxifylline in the stimulation of sperm motion in men undergoing electroejaculation. *J Androl* 1991;12:165-70.
478. Tournaye H, Devroey P, Camus M, Van der Linden M, Janssens R, Van Steirteghem A. Use of pentoxifylline in assisted reproductive technology. *Hum Reprod* 1995;10 Suppl 1:72-9.
479. Schill WB, Pritsch W, Preissler G. Effect of caffeine and kallikrein on cryo-preserved human spermatozoa. *Int J Fertil* 1979;24:27-32.
480. De Turner E, Aparicio NJ, Turner D, Schwarzstein L. Effect of two phosphodiesterase inhibitors, cyclic adenosine 3':5'-monophosphate, and a beta-blocking agent on human sperm motility. *Fertil Steril* 1978;29:328-31.
481. Haesungcharern A, Chulavatnatol M. Stimulation of human spermatozoal motility by caffeine. *Fertil Steril* 1973;24:662-5.
482. Purvis K, Muirhead GJ, Harness JA. The effects of sildenafil on human sperm function in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 2002;53 Suppl 1:53S-60S.
483. Aversa A, Mazzilli F, Rossi T, Delfino M, Isidori AM, Fabbri A. Effects of sildenafil (Viagra) administration on seminal parameters and post-ejaculatory refractory time in normal males. *Hum Reprod* 2000;15:131-4.
484. Tur-Kaspa I, Segal S, Moffa F, Massobrio M, Meltzer S. Viagra for temporary erectile dysfunction during treatments with assisted reproductive technologies. *Hum Reprod* 1999;14:1783-4.
485. du Plessis SS, de Jongh PS, Franken DR. Effect of acute in vivo sildenafil citrate and in vitro 8-bromo-cGMP treatments on semen parameters and sperm function. *Fertil Steril* 2004;81:1026-33.
486. Jannini EA, Lombardo F, Salacone P, Gandini L, Lenzi A. Treatment of sexual dysfunctions secondary to male infertility with sildenafil citrate. *Fertil Steril* 2004;81:705-7.
487. Ali ST, Rakkah NI. Neurophysiological role of sildenafil citrate (Viagra) on seminal parameters in diabetic males with and without neuropathy. *Pak J Pharm Sci* 2007;20:36-42.
488. Pomara G, Morelli G, Canale D, et al. Alterations in sperm motility after acute oral administration of sildenafil or tadalafil in young, infertile men. *Fertil Steril* 2007;88:860-5.
489. Hellstrom WJ, Overstreet JW, Yu A, et al. Tadalafil has no detrimental effect on human spermatogenesis or reproductive hormones. *J Urol* 2003;170:887-91.
490. Hellstrom WJ, Gittelman M, Jarow J, et al. An evaluation of semen characteristics in men 45 years of age or older after daily dosing with tadalafil 20mg: results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, 9-month study. *Eur Urol* 2008;53:1058-65.
491. Bauer RJ, Rohde G. A single oral dose of vardenafil had no acute effect on sperm motility in healthy males. 24th Annual Meeting of the American Society of Andrology. Seattle, Washington, USA: *J. Androl*; 2002.
492. Jarvi K, Dula E, Drehobl M, Pryor J, Shapiro J, Seger M. Daily vardenafil for 6 months has no detrimental effects on semen characteristics or reproductive hormones in men with normal baseline levels. *J Urol* 2008;179:1060-5.

493. Dimitriadis F, Tsambalas S, Tsounapi P, et al. Effects of phosphodiesterase-5 inhibitors on Leydig cell secretory function in oligoasthenospermic infertile men: a randomized trial. *BJU Int* 2010;106:1181-5.
494. Rago R, Salacone P, Caponecchia L, Marcucci I, Fiori C, Sebastianelli A. Effect of vardenafil on semen parameters in infertile men: a pilot study evaluating short-term treatment. *J Endocrinol Invest* 2012;35:897-900.
495. Dimitriadis F, Tsampalas S, Tsounapi P, et al. Effects of phosphodiesterase-5 inhibitor vardenafil on testicular androgen-binding protein secretion, the maintenance of foci of advanced spermatogenesis and the sperm fertilising capacity in azoospermic men. *Andrologia* 2012;44 Suppl 1:144-53.
496. World Health Organization DoRHaR. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. In: Fifth, ed.2010:287.
497. WHO. Completion of national laboratory inventories for wild poliovirus containment: WHO Region of the Americas, March 2010. *Wkly Epidemiol Rec* 2010;85:329-33.
498. Lefievre L, de Lamirande E, Gagnon C. Presence of cyclic nucleotide phosphodiesterases PDE1A, existing as a stable complex with calmodulin, and PDE3A in human spermatozoa. *Biol Reprod* 2002;67:423-30.
499. Vlachopoulou E, Tsiropoulos I, Dimitriadis F, Baltogiannis D, Miyagawa I, Sofikitis N. Effects of vardenafil on Sertoli cell secretory function. In: 2009 EUS, ed. 24th Annual EAU Congress. Stockholm2009:8:148.
500. Saraiva KL, Silva AK, Wanderley MI, De Araujo AA, De Souza JR, Peixoto CA. Chronic treatment with sildenafil stimulates Leydig cell and testosterone secretion. *Int J Exp Pathol* 2009;90:454-62.
501. Sofikitis N, Kaponis A, Mio Y, et al. Germ cell transplantation: a review and progress report on ICSI from spermatozoa generated in xenogeneic testes. *Hum Reprod Update* 2003;9:291-307.
502. Sofikitis N, Giotitsas N, Tsounapi P, Baltogiannis D, Giannakis D, Pardalidis N. Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008;109:323-30.
503. Maekawa M, Kamimura K, Nagano T. Peritubular myoid cells in the testis: their structure and function. *Arch Histol Cytol* 1996;59:1-13.
504. Scipioni A, Stefanini S, Santone R, Giorgi M. Immunohistochemical localisation of PDE5 in Leydig and myoid cells of prepuberal and adult rat testis. *Histochem Cell Biol* 2005;124:401-7.
505. Morley DJ, Hawley DM, Ulbright TM, Butler LG, Culp JS, Hodes ME. Distribution of phosphodiesterase I in normal human tissues. *J Histochem Cytochem* 1987;35:75-82.
506. McCullough AR. An update on the PDE-5 inhibitors (PDE-5i). *J Androl* 2003;24:S52-8.
507. Andric SA, Janjic MM, Stojkov NJ, Kostic TS. Sildenafil treatment in vivo stimulates Leydig cell steroidogenesis via the cAMP/cGMP signaling pathway. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010;299:E544-50.
508. Janjic MM, Stojkov NJ, Bjelic MM, Mihajlovic AI, Andric SA, Kostic TS. Transient rise of serum testosterone level after single sildenafil treatment of adult male rats. *J Sex Med* 2012;9:2534-43.
509. Greco EA, Pili M, Bruzziches R, Corona G, Spera G, Aversa A. Testosterone:estradiol ratio changes associated with long-term tadalafil administration: a pilot study. *J Sex Med* 2006;3:716-22.
510. Aversa A, Fittipaldi S, Bimonte VM, et al. Tadalafil modulates aromatase activity and androgen receptor expression in a human osteoblastic cell in vitro model. *J Endocrinol Invest* 2016;39:199-205.

